

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE de TLEMCCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et
de l'Univers
Département d'Ecologie et Environnement
Laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels

MEMOIRE

Présenté par :

EL-HASSAR Nafissa Insaf

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Ecologie et environnement

Thème

**Introduction de la modélisation moléculaire comme
une nouvelle méthode de lutte biologique contre
l'infestation de la variété Washington navel par
Phyllocnistis citrella Stainton, 1856**

Soutenu le : 21/ 06/2020, devant le jury composé de :

Président	Mr MESLI Lotfi	Professeur	Université de Tlemcen
Encadreur	Mme ABDELLI Imane	M.C.A	ESSA Tlemcen
Co-Encadreur	Mr HASSANI Faïçal	M.C.A	Université de Tlemcen
Examineur	Mme TABTI NASSIMA	M.C.B	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2019-2020

Remerciements

*Je tiens à remercier d'abord mon encadreur en l'occurrence **Docteur Abdelli Imene**, Maitre de Conférence « A » à l'Ecole Supérieure en Sciences Appliquées « ESSA », je vous remercie pour avoir accepté de suivre mon travail de recherche et pour son soutien constant, sa précieuse aide ainsi que ses conseils au cours de ce parcours scientifique pour améliorer la qualité de mes recherches.*

*Je remercie mon Co encadreur **Docteur Hassani Faïçal**, notre responsable du master, Maitre de conférences « A » à l'université de Tlemcen, et Chef du département d'écologie et environnement, pour votre dévouement, votre compétence, votre dynamique, votre rigueur et vos qualités humaines et professionnelles qui ont suscité en nous une grande admiration et un profond respect.*

Je voudrais être digne de la confiance que vous m'avez accordée et priée de trouver ici le témoignage de ma sincère reconnaissance et profonde gratitude.

*A notre président du jury : **Professeur Mesli Lotfi**.*

Vous me faites l'honneur d'accepter la présidence du jury de notre mémoire de fin d'étude, je vous témoigne ma profonde et respectueuse reconnaissance.

*J'adresse mes plus vifs remerciements à **Docteur Tabti Nassima** pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant d'examiner ce travail et d'en faire une analyse, et d'être aussi parmi nos honorables formateurs, soyez assurés de ma respectueuse considération.*

*J'exprime ma reconnaissance et mes remerciements à Monsieur le professeur **GHALEM Saïd**, pour m'avoir accueilli dans « LASNABIO ».*

*Je remercie ainsi le **Doctorant Sohayb Bekkal Brikci** pour son aide et sa collaboration pour la réalisation de cette étude.*

Dédicaces

A cœur veillant rien d'impossible. A conscience tranquille tout est accessible. Quand il y a la soif d'apprendre tout vient à point à qui sait attendre. Malgré les obstacles qui s'opposent, en dépit des difficultés qui s'interposent, les études sont avant tout notre unique et seul atout. Ils représentent la lumière de notre existence, l'étoile brillante de notre réjouissance. Je dédie ce travail à...

A ma très chère mère, Affable, honorable, aimable : vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Vos prières et vos bénédictions m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorde santé, longue vie et le bonheur du paradis.

A mon Père : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes très chers frères et ma sœur jumelle, Vous avez toujours été présents pour les bons conseils. Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie. Veuillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.

*A mes chers amis, et collègues : **Sid, Khader, Kader, Hommena, Iheb, Soumia, Nadège Yahia, Sihem, Yassine, et Othmane** ...*

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES AGRUMES.....	4
1. LES AGRUMES.....	3
2. HISTORIQUE ET ORIGINE.....	3
3. SITUATION ECONOMIQUE DES AGRUMES	4
4. PRODUCTION DES AGRUMES EN ALGERIE.....	6
5. DISTRIBUTION VARIETALE DES VERGERS	7
6. SYSTEMATIQUES.....	9
7. NOTION DE PORTE-GREFFE CHEZ LES AGRUMES	11
8. CYCLE BIOLOGIQUE DES AGRUMES	14
8.1. <i>Les étapes de la croissance</i>	14
8.2. <i>La croissance végétative</i>	15
8.3. <i>Description botanique de la plante</i>	16
9. LES EXIGENCES PEDOCLIMATIQUES DES AGRUMES	21
10. LES EXIGENCES EDAPHIQUES.....	23
11. ASPECTS SANITAIRES.....	23
12. MALADIES PHYSIOLOGIQUES.....	23
13. LES MALADIES BACTERIENNES	24
14. RAVAGEURS	27
CHAPITRE II : PRESENTATION DE LA MINEUSE DES AGRUMES <i>PHYLLOCNISTIS CITRELLA STANTON 1856. (LEPIDOPTERA.</i> <i>GRACILLARIIDEAE)</i>.....	32
1. GENERALITES SUR LES LEPIDOPTERES.....	31
2. PRESENTATION DE LA FAMILLE DES GRACILLARIIDAE.....	32
3. HISTORIQUE ET ORIGINE DE LA MINEUSE	32
4. POSITION SYSTEMATIQUE DE LA MINEUSE.....	33
5. DESCRIPTION BIOLOGIQUE DE LA MINEUSE	33
6. CYCLE BIOLOGIQUE	34
7. LE CYCLE BIOLOGIQUE DE LA <i>P. CITRELLA</i>	40
8. BIO ECOLOGIE DE LA MINEUSE.....	41
9. INFLUENCE DES FACTEURS ECOLOGIQUES	42
9.1. <i>Plante hôtes</i> :	43
9.2. <i>Dégâts et symptômes</i>	43
10. LA LUTTE CHIMIQUE.....	44
11. LA LUTTE CULTURALE.....	45
12. LA LUTTE BIOLOGIQUE CLASSIQUE DITE LUTTE BIOLOGIQUE PAR ACCLIMATATION.....	46
13. LA LUTTE INTEGREE	46
14. LA LUTTE BIOLOGIQUE	46
14.1. <i>Biologie de l'espèce Citrostichus Phyllocnistoides</i>	49
14.2. <i>Distribution géographique</i>	49
14.3. <i>Hôtes</i>	49
CHAPITRE III : MATERIELS ET METHODES	50
1. INTRODUCTION	49

Table des matières

2.	MATERIELS.....	49
2.1.	<i>Généralités sur les enzymes</i>	49
3.	LES ACIDES AMINES	52
4.	PRESENTATION DES ENZYMES CHOISIES	53
5.	PRESENTATION DU MATERIEL VEGETAL	58
5.1.	<i>Généralités sur la famille des Astéracées</i>	59
5.2.	<i>Description morphologique</i>	59
5.3.	<i>Systématique</i>	59
6.	DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DES ASTERACEAE	60
7.	SYSTEMATIQUE ET CLASSIFICATION.....	62
7.1.	<i>Composition chimique des huiles essentielles de l'Artemisia herba alba asso</i>	62
8.	PRESENTATION DU MATERIEL INFORMATIQUE	65
9.	MOLECULAR OPERATING ENVIRONMENT « MOE ».....	68
10.	METHODOLOGIE DE TRAVAIL	69
11.	LA MODELISATION MOLECULAIRE	70
12.	LA MECANIQUE MOLECULAIRE MM	70
13.	DOCKING MOLECULAIRE	70
14.	LA DYNAMIQUE MOLECULAIRE.....	71
CHAPITRE IV RESULTATS ET DISCUSSION.....		73
1.	PREPARATION DES ENZYMES.....	72
2.	PREPARATION DES INHIBITEURS « LIGANDS ».....	76
3.	DOCKING MOLECULAIRE « ENZYMES-LIGANDS ».....	80
4.	LA DYNAMIQUE MOLECULAIRE :	102
CONCLUSION GENERALE		113
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		114

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : UNE IMAGE PRISE SUR GOOGLE IMAGE, QUI REPRESENTE L'HISTOIRE DES AGRUMES ET LEURS ORIGINES DANS LE MONDE.....	4
FIGURE 2 : UNE IMAGE QUI EST PRISE SUR INTERNET QUI PRESENTE LES ZONES PRODUCTIVES DES AGRUMES EN ALGERIE.....	7
FIGURE 3 : IMAGE QUI REPRESENTE LE DEVELOPPEMENT DE LA PRODUCTION DES AGRUMES EN ALGERIE (FAO, 2015).....	7
FIGURE 4 : UNE IMAGE PRISE SUR GOOGLE IMAGE QUI REPRESENTE LA DIVERSITE DES AGRUMES DANS LE MONDE AVEC DIFFERENTES MORPHOLOGIES.....	8
FIGURE 5 : DIFFERENTES VARIETES D'AGRUMES [11].....	9
FIGURE 6: CHOIX VARIETAUX DES FRUITS D'AGRUMES	11
FIGURE 7 : LES PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES PORTE-GREFFES.....	14
FIGURE 8 : IMAGE QUI REPRESENTE LE FRUIT D'ORANGE DE LA VARIETE THOMSON NAVEL.	17
FIGURE 9 : PHOTO D'UN MANDARINIER	17
FIGURE 10: UNE PHOTO D'UN CLEMENTINIER PRISE SUR GOOGLE IMAGE.....	18
FIGURE 11 : FRUITS D'ORANGE DE LA VARIETE PAMPLEMOUSSE.....	18
FIGURE 12 : UNE IMAGE D'UN POMELO.....	19
FIGURE 13 : UNE PHOTO DU FRUIT TANGO	19
FIGURE 14 : PHOTOGRAPHIE D'UN CITRON [21].....	20
FIGURE 15 : PHOTOGRAPHIE D'UNE LIME (CITRON VERT).....	20
FIGURE 16 : PHOTO D'UN KUMQUAT.....	21
FIGURE 17 : LES PRINCIPALES VARIETES CULTIVEES D'AGRUMES.....	21
FIGURE 18 : LES PRINCIPALES MALADIES FONGIQUES D'AGRUMES.....	27
FIGURE 19 : UNE IMAGE QUI MONTRE L'ADULTE DE L'ESPECE <i>PHYLLOCNISTIS CITRELLA</i>	35
FIGURE 20 : PHOTO D'UN ŒUF DE LA MINEUSE PRISE SUR INTERNET	36
FIGURE 21: CARACTERISTIQUES DE LA MINEUSE DES FEUILLES AGRUMES [54].....	39
FIGURE 22: LE CYCLE BIOLOGIQUE DE LA MINEUSE DES AGRUMES.....	40
FIGURE 23 : LES SYMPTOMES DE <i>PHYLLOCNISTIS CITRELLA</i> PRISE SUR INTERNET.....	43
FIGURE 24: DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE DE LA <i>CITROSTICHUS. PHYLLOCNISTOIDES</i>	48
FIGURE 25 : SITE ACTIF DES ENZYMES-SUBSTRAT.....	51
FIGURE 26 : PHOTO PRISE SUR INTERNET	52
FIGURE 27: STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DE L'ENZYME BRUT D'ACETYLCHOLINESTERASE NON PREPARE DE L'INSECTE <i>PHYLLOCNISTIS CITRELLA</i> PRISE SUR LE LOGICIEL MOE.....	54
FIGURE 28 : STRUCTURE 3D DE L'ENZYME BRUT DE CHITINASE NON PREPARE DE L'INSECTE PRISE SUR LOGICIEL MOE.....	56
FIGURE 29: STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DE L'ENZYME DE FARNESYL DIPHOSPHATE SYNTHASE BRUT NON PREPARE DES LEPIDOPTERES PRISE SUR MOE.....	57
FIGURE 30: STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DE LA TOXINE PESTICIDAL CRYSTAL PROTEIN BRUT NON PREPARE PRISE SUR LE LOGICIEL MOE	58
FIGURE 31 : REPARTITION GEOGRAPHIQUE DES ASTERACEES DANS LE MONDE.....	60
FIGURE 32: UNE IMAGE QUI REPRESENTE LA MORPHOLOGIE GENERALE DE <i>L'ARTEMISIA HERBA ALBA ASSO</i>	62

LISTE DES FIGURES

FIGURE 33 : UNE IMAGE QUI PRESENTE LA BANQUE DE DONNEES RCSB.PDB	66
FIGURE 34 : UNE IMAGE QUI REPRESENTE LA BASE DE DONNEES DE PUBCHEM.....	66
FIGURE 35 : LOGICIEL CHEMDRAW VERSION 12.0.2.....	67
FIGURE 36: CHEMDRAW ULTRA. MULDER, X-FILES875-317589-4732	67
FIGURE 37 : LOGICIEL HYPERCHEM VERSION 8.0.10.....	68
FIGURE 38 : UNE IMAGE QUI PRESENTE LE MOLECULAR OPERATING ENVIRONNEMENT MOE.....	68
FIGURE 39 : IMAGE QUI PRESENTE LE SERVEUR IMODS	69
FIGURE 40 : DOCKING INHIBITEUR-PROTEINE.....	71
FIGURE 41: STRUCTURE 3D DE FARNESYL DIPHOSPHATE SYNTHASE DE TYPE 2 PREPARE SUR MOE.....	73
FIGURE 42 : STRUCTURE 3D DE L'ENZYME PESTICIDAL CRYSTAL PROTEIN PREPARE SUR MOE.....	74
FIGURE 43: STRUCTURE 3D DE L'ENZYME CHITINASE PREPARE SUR MOE.....	74
FIGURE 44 : STRUCTURE 3D DE L'ACETYLCHOLINESTERASE PREPARE SUR MOE.....	75
FIGURE 45 : LES DIFFERENTS COMPLEXES	92
FIGURE 46 : LES DIFFERENTES INTERACTIONS AVEC 3 DIFFERENTS ENZYMES.....	99
FIGURE 47 : RESULTATS DE LA SIMULATION DE LA DYNAMIQUE MOLECULAIRE DU RECEPTEUR GAMMA-TERPINENE-6B04.....	103
FIGURE 48 : RESULTATS DE LA SIMULATION DE LA DYNAMIQUE MOLECULAIRE DU RECEPTEUR MYRCENE-5YDJ.....	104
FIGURE 49 : RESULTATS DE LA SIMULATION DE LA DYNAMIQUE MOLECULAIRE DU RECEPTEUR BETATHUJONE-5GQB.....	105

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : répartition des agrumes dans les régions d'Algérie.....	5
TABLEAU 2 : PRODUCTION D'AGRUMES EN MILLIERS DE QUINTAUX.....	5
TABLEAU 3 : REPRESENTATION DES WILAYAS QUI PRODUISENT LES AGRUMES, EN DEMONSTRANT LEURS SUPERFICIES PAR REGION EN (HA).....	6
TABLEAU 4 : EFFET DU PORTE GREFFE SUR L'ADAPTATION DU VERGER AUX CONDITIONS PEDOClimATIQUES.....	13
TABLEAU 5 : LES PRINCIPAUX RAVAGEURS D'AGRUMES LES PLUS CONNUS « INSECTES ET AUTRES ».....	30
TABLEAU 6 : IDENTIFICATION DES CRITERES DES TROIS DIFFERENTES LARVES DE LA <i>PHYLLOCNISTIS CITRELLA</i>	38
TABLEAU 7 : LES PRINCIPAUX PRODUITS CHIMIQUES QUI SONT UTILISES EN ALGERIE CONTRE LA <i>P. CITRELLA</i>	45
TABLEAU 8 : ILLUSTRATION DES DIFFERENTS ENNEMIS DE LA MINEUSE DES FEUILLES AGRUMES.....	47
TABLEAU 9 : LES 20 ACIDES FONDAMENTAUX.....	52
TABLEAU 10 : LES ONZE PRINCIPAUX CONSTITUANTS CHIMIQUES DE L'HUILE ESSENTIELLE D' <i>ARTEMISIA HERBA ALBA ASSO</i>	63
TABLEAU 11 : PROPRIETES CRISTALLOGRAPHIQUES DE LA PROTEINE 6B04.....	73
TABLEAU 12 : PROPRIETES CRISTALLOGRAPHIQUES DE LA PROTEINE 4ARX	74
TABLEAU 13 : PROPRIETES CRISTALLOGRAPHIQUES DE LA PROTEINE 5GQB	75
TABLEAU 14 : PROPRIETES CRISTALLOGRAPHIQUES DE LA PROTEINE 5YDJ.....	75
TABLEAU 15: STRUCTURES DIMENSIONNELLES DES COMPOSES CHIMIQUES ISSUS DE L'ARMOISE BLANCHE	77
TABLEAU 16: LES PROPRIETES DES ONZE LIGANDS.....	79
TABLEAU 17 : RESULTAT OBTENU APRES LE DOCKING DU PREMIER ENZYME ACETYLCHOLINESTERASE 5YDJ.....	93
TABLEAU 18 : RESULTAT OBTENU APRES LE DOCKING DU DEUXIEME ENZYME FARNESYL DIPHOSPHATE SYNTHASE 6B04.....	94
TABLEAU 19: RESULTAT OBTENU APRES LE DOCKING DU TROISIEME ENZYME CHITINASE 5GQB.....	95
TABLEAU 20: RESULTAT OBTENU APRES LE DOCKING DU QUATRIEME ENZYME PESTICIDAL CRYSTAL PROTEIN 4ARX.....	96
TABLEAU 21 : LES RESULTATS OBTENUS APRES LE DOCKING DES DEUX LIGANDS « DIMETHOATE, ENDOSULFAN » AVEC LES QUATRE DIFFERENTS ENZYMES.....	100

LISTE DES ABREVIATIONS

T : Tonne

Ha : Hectare

M : Mètre

Mm : Millimètre

h : heure

Km : Kilomètre

Qx : Quintaux

Max : Maximum

Kcal : Kilocalorie

Mol : Mole

% : Pourcentage

SAU : Surface agricole utilisée

FAO : L'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

C° : Degré Celsius

AA : Acides aminés

AchE : Acétylcholinestérase

Ach : Acétylcholine

SNC : Système nerveux centrale

FPPS : Farnésyl pyrophosphate synthase

IPP : Inhibiteur de la pompe à protons

COO : Dioxyde de carbone

DMAPP : Diméthylallyl-pyrophosphate

GPP : Geranyl pyrophosphate

Mn²⁺ : Manganèse

Mg²⁺ : Magnésium

ADP : Acide phosphorique

VIP : Système digestif

TYR : Tyrosine

PHE : Phénylalanine

LISTE DES ABREVIATIONS

ARG : Arginine

LYS : Lysine

ASP ; Asparagine

GLY : Glycine

TRP : Tryptophane

Å : Angström

Log P : Logarithme décimal du coefficient de partage

S : Score

t : temps de l'échantillon (en picoseconde)

H : valeur de hamiltonien complet (système étendu) au moment t

U : Energie potentielle $U(r)$ du système atomique au temps t en Kcal/Mol

K : Energie cinétique $K(v)$ des atomes au temps t en Kcal/Mol

T : Température instantanée, T en kelvin

V : Volume instantanée, V en angströms cubiques

P : Pression instantanée, P en KPa, du système au moment t

U_a : Energie potentielle, en Kcal/Mol

U_b : Energie potentielle, en Kcal/mol

U_{ab} : Energie potentielle d'interaction, en Kcal/Mol

Pos : Vecteur de position r au moment t

Vel : Vecteur vitesse v au moment t

X_{pt} : Vecteur de coordonnées et d'impulsions

Box : Dimension de la boîte périodique

MM : Mécanique moléculaire

MOE : Molecular operating environment

PDB : Protein data bank

3D : Trois dimensions

2D : Deux dimensions

LASNABIO : Laboratoire des substances naturelles et bioactives

Introduction Générale

L'agrumiculture en Algérie traverse actuellement une période difficile, cette dernière se trouve ainsi placée au dixième rang mondial et se compte parmi les grands producteurs du bassin méditerranéen. Cela s'explique par la régression de la production causé par les vieillissements des vergers, et le manque d'entretien et d'investissement.

En effet, l'agrumiculture est sujet à plusieurs problèmes d'ordre essentiellement phytosanitaires (les pesticides, produits chimiques, insecticides chimiques...etc.), qui ont provoqués à notre sens la récession de la filière agrumicole.

On compte aussi parmi les dangers persistants qui menace l'agrumiculture, l'existence de plusieurs ravageurs nuisibles, dont la *Phyllocnistis citrella* qui est communément appelée la mineuse des feuilles agrumes.

La mineuse des feuilles agrumes « *Phyllocnistis citrella Stainton* », (Lepidoptera : Gracillariidae) est un insecte endophyte décrit pour la première fois sur les Citrus en Inde (*Calcutta*) par *Stainton* en 1856. Cet insecte a envahi tous les vergers d'agrumes dans un temps écourté à l'échelle planétaire. La *Phyllocnistis citrella* est considéré comme le principal ravageur des agrumes en Afrique du Nord, elle est répandue dans la quasi-totalité des régions agrumicoles du monde.

Cette espèce endophyte s'attaque principalement aux jeunes feuilles qui sont tendres et fragiles. C'est un ravageur sténo phage qui se multiplie, et se reproduit en grand nombre et d'une façon très rapide dans ces derniers, sa pullulation cause la destruction des feuilles des vergers et entrave la croissance des pousses, ainsi ces fortes attaques entraînent une diminution de l'activité photosynthétique lorsque ses infestations atteignent les 30%. [1].

Les larves se nourrissent des cellules épidermiques, et se développent dans les feuilles en creusant des galeries argentées et sinueuses provoquant des enroulements et décolorations foliaires, elle peut dévaster 1 à 7 cm de surface foliaire. [1].

Les dégâts sur les feuilles dus à la mineuse des feuilles d'agrumes sont importants durant la période de pousses végétatives allant du mois de Janvier à Février, plusieurs méthodes de lutte ont été mise au point afin de réduire l'infestation de ce redoutable ravageur, comme l'utilisation des insecticides chimiques qui est majoritairement administré par plusieurs agrumiculteurs.

Ces produits chimiques sont omniprésents dans l'agriculture, ils sont soupçonnés de nombreuses pathologies, ainsi ils sont destinés à détruire les mauvaises herbes, les champignons, les insectes..., mais ils sont toxiques par nature. Ces derniers causent des dégâts très importants à la santé du consommateur, ils peuvent être à l'origine d'une augmentation de façon très inquiétante des maladies chroniques, plusieurs types de Cancer y compris le lymphome, la leucémie, ainsi la maladie de Parkinson, etc.

L'utilisation des pesticides dans les vergers d'agrumes n'a pas donné de grands résultats.

De nombreuses alternatives de traitement naturel pour protéger l'agrumiculture ont été proposées après plusieurs études, ces dernières offrent de multiples avantages, comme, épuration (dépollution), l'absence de risque de surdosage, élimination d'un parasite sans nuire d'autres insectes...

La majorité des êtres vivants participe à l'équilibre de la culture. Les insectes auxiliaires sont réputés pour être très utiles et combattre avec une grande efficacité les insectes nuisibles aux cultures.

Pour cela nous avons préconisé une approche scientifique par l'introduction de la modélisation moléculaire comme une nouvelle méthode de lutte biologique contre l'infestation de la variété Washington navel par *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856.

Notre choix s'est basé sur une plante aromatique de la famille des Astéracées scientifiquement appelée *Artemisia herba alba* asso, connue par ses multiples vertus, en raison de ses constituants chimiques qui possèdent un pouvoir insecticide.

L'objet de notre étude, nous permet de créer un bio-insecticide non toxique et bénéfique qui participe à préserver la biodiversité, ainsi que la santé humaine, et de tester la bio efficacité des principes actifs de l'espèce *Artemisia herba alba* asso sur la mineuse des feuilles agrumes par la technique de modélisation moléculaire.

Notre étude se compose de :

Chapitre I : Généralités sur les agrumes.

Chapitre II : Présentation de la mineuse des feuilles des agrumes.

Chapitre III : Matériels et méthodes.

Chapitre IV : Résultats et discussion.

Et en fin la Conclusion générale.

Chapitre I :

Généralités sur les agrumes

1. Les agrumes

L'agrumiculture des pays du bassin Méditerranéen a des aspects divers au niveau des variétés cultivées (Oranges, Mandarines, Thomson, Clémentines, Pomelos, Citrons, Limes, Pamplemousses...) ces derniers sont les plus répandus dans le monde, ils reflètent d'une certaine manière la richesse, la variabilité et une possession de grands biens de ces arbres dans la nature voire le monde. [2]

Ils sont divisés en trois genres botaniques : *Citrus* (citronnier, oranger, pamplemoussier, clémentinier, cédratier...etc.), *Poncirus* (citronnier épineux) et en dernier *Fortunella* (Kumquats). [3]

Tandis que ces agrumes forment avec 10 autres genres (*Atalantia*, *Burkillanthus*, *Citropsis*, *Clymenia*, *Eremocitrus*, *Hespertusa*, *Limnocitrus*, *Microcitrus*, *Pleiospermium* et *Severinia*) la sous-tribu des Citrinae. [4]

La position taxonomique des agrumes se présente en : Ordre : Géraniales, Famille : Rutaceae, Sous Famille : Aurantioïdea, Tribu : Citreae, Sous Tribu : Citrinae et le Genre : Citrus. [5]

2. Historique et origine

Le mot agrume provient du nom latin *acrumen* qui indiquait dans l'antiquité des arbres à fruits acides. Ils se singularisent par leur grande diversité de leurs familles et de leurs ordres. Les origines des agrumes viennent des pays du sud-est asiatique a au moins 4000 ans.

Leur culture se déconcerte avec l'histoire des civilisations anciennes de la Chine, qui les cultivèrent d'abord pour leurs parfums, ensuite pour leurs fruits. C'est avec le rayonnement des civilisations Chinoises et Hindoues que leur culture commença à se diffuser. [6] **Figure (1).**

Les agrumes appelés aussi hespéridés, sont des arbres qui produisent des fruits qui sont dotés par une surface de peau, elle est très riche en glandes à huiles essentielles, ainsi riche en pulpe qui comprenne des pépins et de nombreux poils succulents gorgés jus.

La diversité des fruits (oranges, clémentines, mandarines, pomelos, pamplemousses, limes) qui consommés le plus par l'homme, reflète la richesse et la variabilité de ces vergers.

A présent ce n'est qu'une représentation partielle de la diversité réelle, l'évolution de ce long processus de ce fruit revient à plusieurs centaines de milliers d'années. [6]

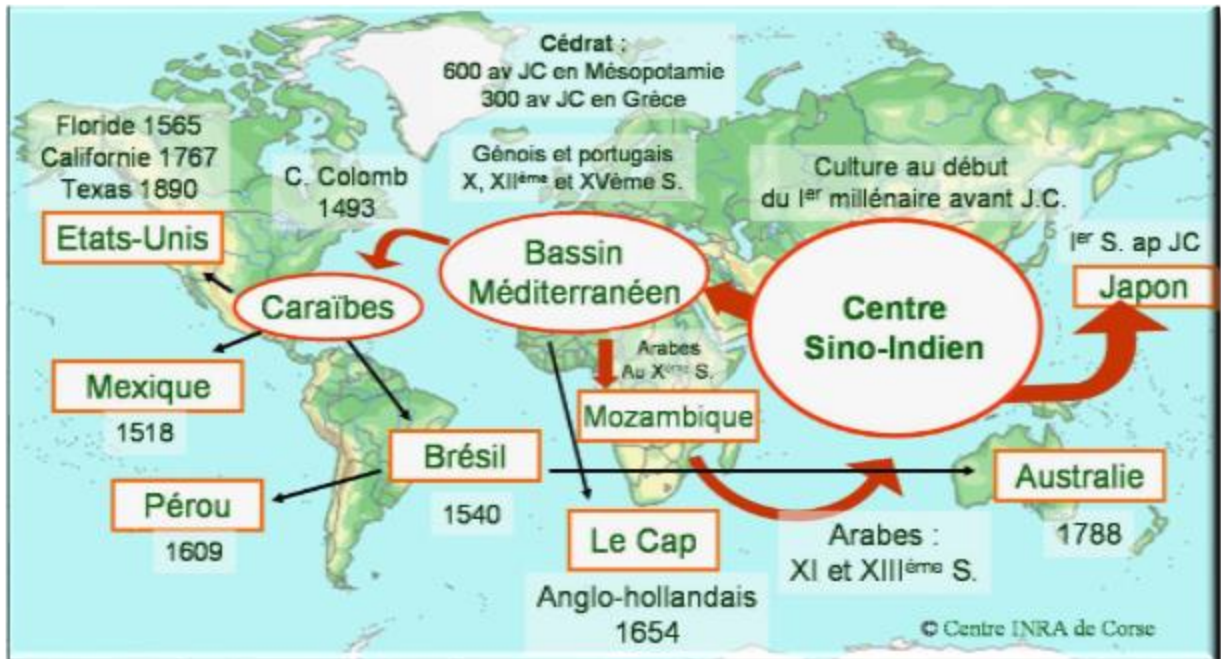


Figure 1 : l'histoire des agrumes et leurs origines dans le monde

3. Situation économique des agrumes

a) Dans le monde

Les agrumes, forment un groupe très important dans le monde. Car ce sont les fruits les plus produits au niveau mondial. Les principaux pays producteurs sont le Brésil avec 18.5 millions de tonnes, les Etats unis avec 14.9 millions de tonnes et la chine avec 9.3 millions de tonnes. [7]

L'agrumiculture occupe un certain espace dans le bassin méditerranéen avec une superficie de 600.000 hectares pour une production moyenne de 9 à 10 millions de tonnes et présente une part de marché sur les exportations mondiales d'agrumes de près de 55%. [7]

b) En Algérie

Les vergers de *citrus* occupent en Algérie une superficie totale de **45.979** hectares soit **0.6%** de la surface agricole et **11%** de la surface arboricole, les vergers du citrus sont installés dans des milieux les plus riches ou les conditions climatiques et édaphiques leurs sont favorables et qui sont exigées dans leurs cultures. [8]

Avant l'indépendance, sur une dizaine d'année la production annuelle des agrumes était de l'ordre **400000 Tonnes**, l'Algérie donc a été classée au dixième rang mondial, et se considérait parmi les grands producteurs du bassin méditerranéen.

Le verger agrumicole national s'étend dans un espace d'environ **45000Ha** pour une production annuelle de **450000 Tonnes** et qui est réparti en : oranges **318000T**, Clémentine **105000T**, Mandarine **27000T**, et "Pomélo **4000T**.

L'Algérie recouvre une importance stratégique en termes de qualité en fruits frais et des débouchés sur le marché national des produits agrumicoles. [9]

Dans le tableau ci-dessous, nous montrons en général, la répartition des agrumes en Algérie avec leurs taux de recouvrement dans les régions suivantes :

Tableau 1 : répartition des agrumes dans les régions d'Algérie [10]

Régions	Superficie	Taux de recouvrement
Le centre	39.305 Ha	62%
L'Est	6.134 Ha	9.7%
L'Ouest	16.453 Ha	26%
Le Sud	1.404 Ha	2.2%

D'autre part, le volume de production d'agrumes en Algérie entre les années **2016** et **2017**, selon le type d'agrumes, il a été constaté que pendant cette saison, la production d'oranges s'élevait à plus d'un million de quintaux, alors que la production de citrons était dans une intensité proche de 800.000 quintaux. Nous avons exhibé ces propos dans le tableau suivant : [10]

Tableau 2 : Production d'agrumes en milliers de quintaux [10]

Types d'agrumes :	Quintaux :
Oranges	10.140
Clémentines	2.054
Citrons	778
Mandarines	452
Pomélos	19

Le verger agrumicole algérien se consacre à une occupation de **0.7%** de la surface agricole utile (SAU), ainsi **6.8%** de la surface arboricole. Cela explique statistiquement que ce dernier

occupe une superficie de **64154 ha** dont **50826 ha** en rapport. Les autres étant assemblés dans une superficie de **909ha** de jeunes plantations.[10]

Nous avons représenté dans le tableau ci-dessous les wilayas productrices des agrumes et leurs superficies par régions en (Ha).

Tableau 3 : Représentation des wilayas qui produisent les agrumes, en démontrant leurs superficies par région en (ha) [10]

Ouest		Centre		Est		Sud	
Wilaya	Surface	Wilaya	Surface	Wilaya	Surface	Wilaya	Surface
Tlemcen	2491	Chlef	5760	Jijel	327	Biskra	85
Mostaganem	4488	Bejaia	2075	Skikda	2353	Bechar	34
Mascara	4256	Blida	16583	Annaba	521	Tamanras set	199
Oran	230	Bouira	414	Guelma	874	El Oued	43
A.Temouchent	483	Tizi Ouzou	1343	El Taref	2092	Ghardaia	971
Relizane	4539	Alger	5088			Illizi	93
		Medea	53				
		Boumerdes	2072				
		Tipaza	3725				
		Ain Defla	2344				
Total	16487		39457		6167		1425

4. Production des agrumes en Algérie



Figure 2 : les zones productives des agrumes en Algérie

L'évolution de la production des agrumes en Algérie, est présenté dans la figure ci-dessous :

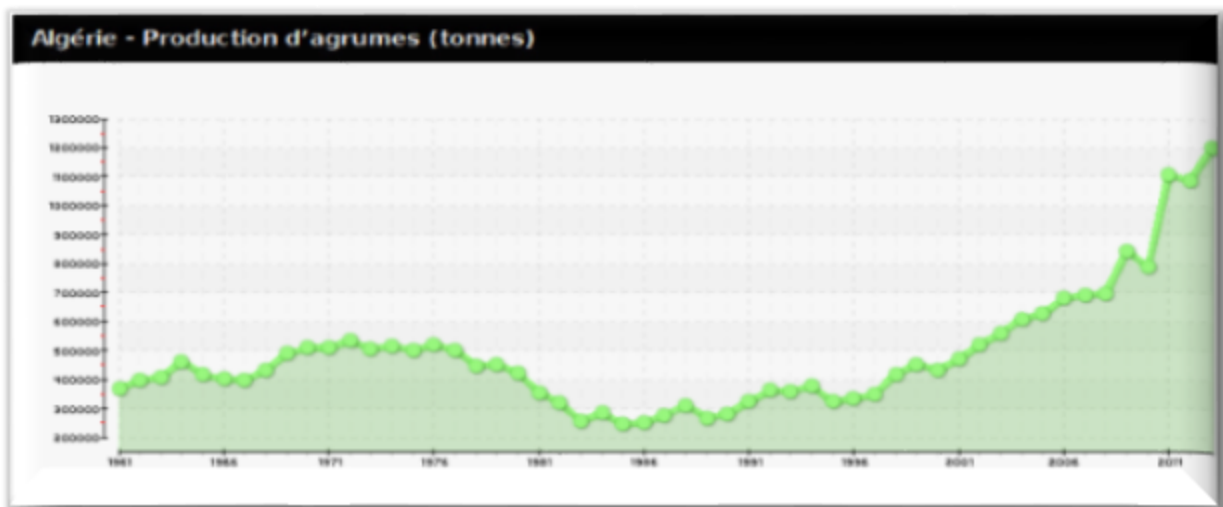


Figure 3 : Le développement de la production des agrumes en Algérie (FAO, 2015)

La production totale des agrumes est estimée annuellement à **13.417.540** quintaux avec un rendement moyen de **224qx/ha**. Le verger agrumicole national, s'étend sur une surface de **67.190ha**, dont **59.935 ha** en rapport, selon une note de l'Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne (ITAFV). [10]

5. Distribution variétale des vergers

La majeure partie des vergers d'agrumes est disposé des oranges, clémentines et mandarines, car elle présente 72% de de l'espace arboricole.

- Présence de 72% des orange dont une superficie de 46.426 Ha, avec une prééminence des de la Thomson et de la Washington Navel.
- Présence de 19% des clémentines et mandarines dont une superficie de 12635 Ha, avec une prédominance de la clémentine.
- Présence de 7% des citronniers avec une superficie de 4438 Ha.
- Présence de 0.1% de pomélo avec une superficie de 90 Ha.

La gamme des variétale des orangers est à peine diversifié avec une prépondérance des espèces du groupe Navel qui est marqué par leur célérité.

- Groupe des Navels (Thomson N. et N) : 15009ha, soit 46%.
- Groupe des clémentiniers (sans pépins et Montréal) : 5195ha, soit 16%.
- Groupe des Mandariniers (Wilking-Satsuma) : 1554ha, soit 5%.
- Groupe des citrons et pomélos :2401ha, soit 7%. **[10]**

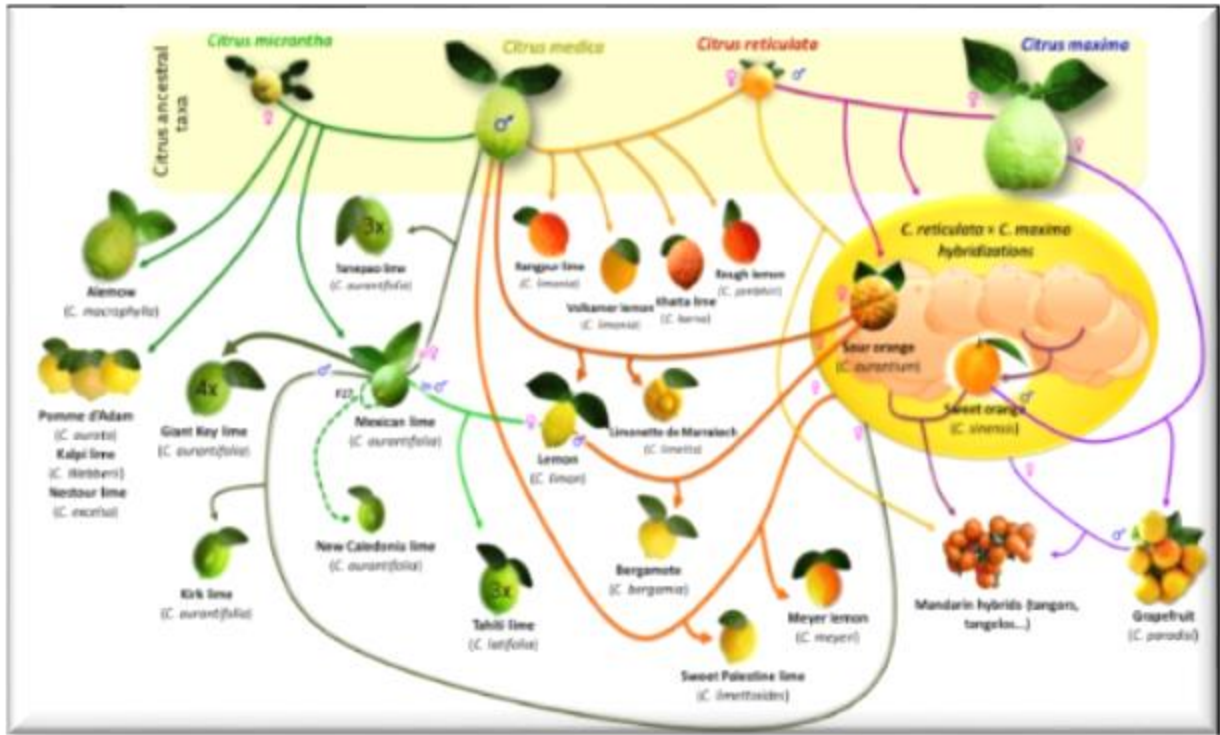


Figure 4 : différentes variétés d'agrumes [11]

6. Systématiques

La position taxonomique des agrumes est présentée comme suit :

Règne : Végétale.

Embranchement : Angiospermes.

Classe : Eudicots.

Sous classe : Archichlamydée.

Ordre : Germinale (Rutales).

Famille : Rutacée.

Sous-famille : Aurantioidée.

Tribus : Citrnée.

Sous-tribu : Citrinée.

Genre : Citrus, Poncirus, Fortunella.

Les trois genres : *Poncirus*, *Fortunella*, et le Citrus, ce sont des espèces qui appartiennent à la Tribu des Citreae., le *Poncirus* ne produit pas de fruits comestibles, tandis que ce genre porte un intérêt qui peut être utile comme porte-greffe car ce dernier intronise certaines résistances potentielles. Aussi la *Fortunella* produit de petits fruits qui peuvent être consommés

sans éplucher sa peau (c'est-à-dire dégusté avec la peau). Et en fin le genre Citrus, qui englobe la majorité des espèces d'agrumes cultivés, dont elle renferme entre 16 et 157 espèces. [12]

Les Rutaceae comprennent plus de **700** espèces, en grande partie arborescente, appartenant aux pays chauds. C'est une famille qui n'offre qu'un petit nombre de caractères. La systématique des Citrus est très difficile à cause des croisements inter génétiques et interspécifiques qui s'opposent facilement entre eux. Il existe deux systèmes principaux de classification pour le genre Citrus : certains auteurs ne comprennent que **16** espèces, ou plus précisément **156** espèces.

Le genre *Poncirus* : Les Arbrisseau épineux à feuilles caduques tri foliacées ne consolide qu'une seule espèce, elle est essentiellement utilisée en agrumiculture comme porte-greffe, ces fruits ne peuvent être comestible.

Le genre *Fortunella* : C'est un arbrisseau à feuille persistantes, elle obtient des fruits du genre connus par le nom de Kumquat.

Les principales espèces cultivées du genre Citrus sont :

- *Citrus sinensis* (L) : Oranger.
- *Citrus nobilis* lour : Mandarinier à gros fruits.
- *Citrus unichin*(MAK) Marc : Mandarinier à Satsuma.
- *Citrus deliciosa* Ter : Mandarinier commun.
- *Citrus reticulate* blanc : Clémentinier.
- *Citrus grandis* (L) OSB : Pamplemoussier.
- *Citrus paradisi* Macf: Pomelo.
- *Citrus medica* L: Cédratier. *Citrus limon* : Citronnier.
- *Citrus amantifolia* (CHR) Swing : limettier à gros fruits.
- *Citrus limonia* : Lime mandarine.
- *Citrus limetta* : Limette.
- *Citrus limetoidestan* : Limettier doux.
- *Citrus amantium* L : Bigaradier.
- *Citrus Myrtifolia* RAF : Chinois.
- *Citrus bergamia* Risso et poit : Bergamotier

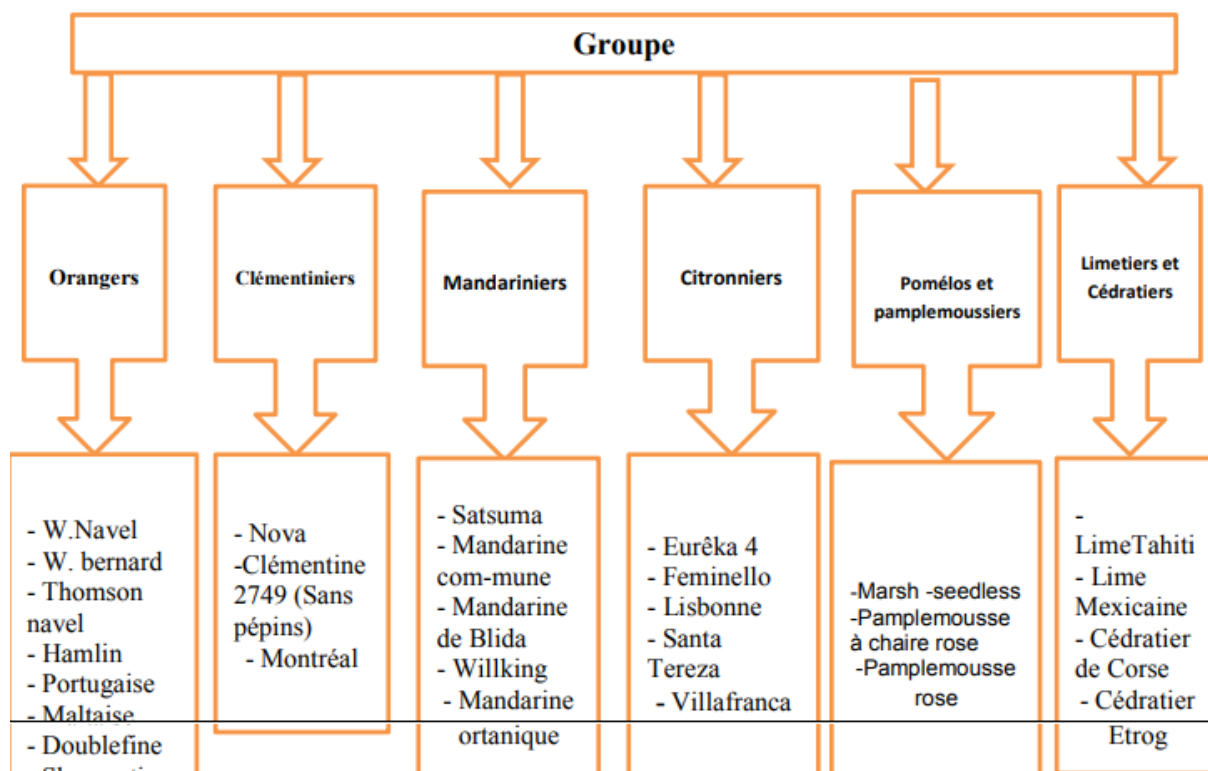


Figure 5: choix variétaux des fruits d'agrumes

Il existe trois différents critères du choix variétal des fruits d'agrumes :

- **Critères commerciaux** : à savoir la destination et l'utilisation des fruits à l'état frais ou pour l'industrie (transformation).
- **Critères de conservation en froid et résistance au transport.**
- **Critères agronomiques** : la précocité et la productivité des variétés.

7. Notion de porte-greffe chez les agrumes

Les caractères juvéniles lorsque l'arbre est planté par semis sont très persistents et qui durent un long moment : branches épineuses, arbre très vigoureux avec un port dressé, entrée en production tardive, alternance de productivité d'une année sur l'autre et différences physiques entre les fruits [12]

Plusieurs espèces et variétés d'agrumes n'ont également aucun pouvoir de résister et de tenir au froid ou à certaines maladies du sol, pas de tolérance à la salinité ou à des niveaux d'eau élevés, qui constituent des qualités intrinsèques souhaitables pour leur survie.[13]

L'idée d'associer des variétés d'agrumes possédant ces qualités avec d'autres variétés plus sensibles est née au XII^{ème} siècle en Espagne. A l'époque, l'objectif du porte greffe était essentiellement de se prémunir contre les attaques de *Phytophthora* spp. (*Phytophthora*

citrophthora et *Phytophthora parasitica*) une maladie de dégénérescence causée par un champignon du sol. [14]

Cette association a connu aujourd'hui un succès de la grande majorité des agrumes sont cultivés de manière bi-composite dans les systèmes de production : une variété possédant des qualités relatives à la partie aérienne appelée « greffon » est greffée sur une autre variété reconnue pour ses qualités souterraines le « porte-greffe ».

Le greffage permet ainsi de réunir deux plantes génétiquement différentes en une, en valorisant leurs caractères respectifs. De plus, les caractères juvéniles induits par le semis sont inhibés lors de la multiplication par greffage.

La principale contrainte est la notion de compatibilité entre le greffon et le porte-greffe. Plusieurs recherches ont été réalisées, aujourd'hui de multiples avantages ont été procurés par cette recherche. Les caractéristiques pouvant être induites par la participation du porte-greffe/greffon qui sont notamment :

- L'indulgence de certaines associations à des maladies dégénérescences (*Tristeza Citrus tristeza virus*, *Exocortis Citrus exocortis viroid*).
- Capacité de résister aux bio agresseurs du sol (phytophthora, nématodes).
- Adaptation à la physique et chimie du sol (tolérance à la salinité, au calcaire, à l'hydromorphie).
- L'influence sur la vigueur et la productivité, avec une rapidité de mise à fruits de la partie greffée.
- La perte des caractères juvéniles obtenus par semis (branches épineuses, différence physique entre les fruits...).
- Un nombre restreint de porte-greffes est actuellement utilisé à travers le monde possédant chacun des qualités propres. Le choix du porte-greffe apparaît ainsi comme un élément essentiel dans la production d'agrumes car celui-ci va influencer toute la vie du verger. [14]

Les notions du porte greffe sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Effet du porte greffe sur l'adaptation du verger aux conditions pédoclimatiques [14]

	Zone humide	Zone sèche	Froid	Sol acide	Sol calcaire	Salinité	
<i>Poncirus Pomeroy</i>	5	1	5	5	1	1	1 non adapté ↓ 5 adapté
<i>Poncirus Flying Dragon</i>	5	1	5	5	1	1	
Citrange Troyer	3	3	4	3	3	2	2
Citrange Carrizo	4	2	4	4	3	2	3
Citrange C-35	3	3	5	4	4	3	4
Citrange C-32	3	3	5	4	2	2	5
Citrumelo Swingle 4475	4	3	4	4	3	2	
Citrumelo Sacaton	4	3	5	4	3	3	
Citrandarin X639	3	3	5	3	4	3	
Fhor AG1	4	4	5	5	4	2	
Forner-Alcaïde 5	5	4	4	4	5	5	
Forner-Alcaïde 418	2	1	4	4	3	3	
Bigradier commun	3	4	3	3	4	4	
Bigradier Gou Tou	3	4	3	3	4	4	
Bigradier australien	3	4	3	3	4	4	
<i>C. volkameriana</i>	2	5	2	3	5	5	
<i>C. macrophylla</i> Alemow	1	5	1	3	5	5	
Mandarine Cléopâtre	1	4	2	2	4	4	
Rough Lemon	1	3	2	2	3	3	
Lime Rangpur	1	5	2	2	4	3	
Yuzu	4	2	4	4	2	?	

Porte-greffe	Aptitudes et comportement des porte-greffes	Sensibilité aux maladies et parasites
<i>Bigaradier</i> <i>Citrus aurantium</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Une bonne affinité avec les principales variétés cultivées. -Une multiplication par semis/greffage très facile -Une grande souplesse d'adaptation aux conditions édaphiques; -Relativement tolérant aux chlorures. -Assez tolérant au calcaire. - Induit une qualité de fruit acceptable avec une productivité moyenne. - Bonne affinité avec toutes les variétés sauf le kumquat et la Satsuma. - Résiste à la sécheresse - Craint l'excès d'eau et les sols lourds. 	<ul style="list-style-type: none"> -Sensible à la Tristeza sauf en association avec le citronnier, - Sensible au Mal secco et aux nématodes, -Tolérant au Blight, et l'Exocortis -Résistant à la gommose à <i>Phytophthora</i>
<i>Citrange Carrizo</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Un hybride de même type que le C. troyer, avec enracinement pivotant, dense et profond, porte-greffe vigoureux, le plus utilisé actuellement. - Supporte les sols moyennement humides; - Peu tolérant au calcaire et aux chlorures. - Productivité élevée, de bonne qualité. 	<ul style="list-style-type: none"> - Sensible à l'Exocortis - Tolérant à la Tristéza. - Tolérant aux nématodes
	<ul style="list-style-type: none"> - Confère à la variété greffée une bonne résistance au froid. 	
<i>Citrus volkameriana</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Bon porte- greffe, très compatible avec les citronniers et les pomélos. - Bon enracinement - Bonne résistance au froid. - Très vigoureux, hâte la mise à fruits. - Adapté aux sols secs et aérés. - Résistant aux chlorures. - En pépinière plein champs il est très sensible aux fortes gelées. 	<ul style="list-style-type: none"> -Tolérant à la Tristéza et à l'Exocortis . - Résistant à la gommose

Figure 6 : Les principales caractéristiques des porte-greffes

8. Cycle biologique des agrumes

8.1. Les étapes de la croissance

La première période d'élevage des agrumes est la période d'élevage en pépinières, qui a une durée de 12 à 36 mois, cette dernière débute particulièrement par une plantation dans un terrain dans lequel on sème les graines d'arbres d'oranger pour la production du porte-greffe.

Ensuite, il y a l'action du greffage qui consiste à implanter sur la plante un bourgeon. Enfin cette période se termine par l'entretien et production de jeune plant. [14]

Il s'ensuit une période improductive, c'est une période où elle demande un investissement très important pour l'agrumiculture sur le plan technique et économique. En cette période le jeune plant est mis en place et installé sur le terrain de plantation, une fois installé ce jeune plant commence à développer son feuillage et son système racinaire. Cette période dure de 2 à 3 ans, elle nécessite des traitements attentifs et phytosanitaires pour la formation de la taille de jeune plant et un arrosage artificiel en cas de sécheresse.

Elle vient par suite la **période d'entrée en production**, l'arbre commence à fleurir de plus en plus dont les floraisons commencent à apparaître leurs premières fructifications. C'est la période où cette dernière prend un temps de 5 à 7 ans.

L'arbre consomme une énergie pour son développement végétatif, afin qu'il se stabilise pour fleurir, et renouveler ses feuilles, ses racines, et ses ramifications. Cette étape de pleine production qui ne dépasse pas les 20 ans, est l'étape la plus importante pour les agrumiculteurs, elle demande des soins adéquats et convenables, pour que l'agrumiculteur assure la rentabilité de son verger.

Il existe une période où la production de ces arbres commenceront à s'affaiblir, car ils ont été mis en place depuis 30 à 40 ans. Le renouvellement de leurs pousses fructifères diminue progressivement, et ils pourvoient moins de frondaisons.

Au final, il y a la **période de sénilité** où une dégradation physique de ces arbres fruitiers est mise en place. Les agrumiculteurs décident alors d'enlever et d'arracher ces vieux arbres, car ils deviennent plus vulnérables et sensibles aux attaques des ravageurs et parasites.

8.2. La croissance végétative

La croissance végétative s'exprime sur les jeunes rameaux, autrement dit les poussées de sève au cours de trois différentes saisons :

La première poussée de sève se réalise en printemps (de la fin **Février** au début du mois de **Mai**), les rameaux se subdivisent et s'allongent en développant de jeunes feuilles avec une couleur verte très claire, ses jeunes rameaux commencent à donner des boutons floraux avec l'apparition des fleurs en mois d'Avril-Mai.

La deuxième poussée de sève s'effectue en été durant le mois de **Juillet-Aout**. Cette période est moins importante par rapport à la période de printemps, elle est plus ou moins énergétique et moins solide car elle suit la température. [15]

La troisième poussée de sève d'automne, elle se réalise au mois **d'Octobre (Fin Novembre)**, cette période sanctuarise une importance qui est mise en évidence, elle assure la modification et le renouvellement des feuilles d'arbres fruitiers, et le développement floral.

Le développement floral se fait en trois étapes consécutives :

- Floraison.
- Pollinisation.
- Et en fin fécondation.

Ensuite nous avons le développement du fruit qui progresse aussi en trois étapes :

- Transformation de l'ovaire et de la fleur en fruit.
- Augmentation de volume du fruit.
- Et la maturation et évolution du fruit. [16]

8.3. Description botanique de la plante

Les agrumes se présentent sous la forme de petits arbres d'environ 4 à 12 m de hauteur avec un feuillage dense et persistant. Il s'agit d'une plante à feuillage pérenne qui détient une phase juvénile relativement longue, entre 5 à 8 ans, pour être capable de promulguer des fleurs et produire des fruits après avoir mis en place les semences. [17]

Ces vergers possèdent des fleurs hermaphrodites, elles sont dotées à la fois d'un appareil mâle et femelle, la fécondation est en générale croisée. La taille du fruit dépend selon l'espèce et les variétés [17]

Les agrumes sont divisés en 3 grands groupes :

Groupe I : Les espèces de ce groupe ont quelques des caractères semblables comme de jeunes pousses vertes, des fleurs blanches, des feuilles avec un limbe caractérisé par la présence d'un pétiole plus ou moins important (pétiole ailé), persistantes, et un fruit généralement de forme sphérique. [18]

Les orangers : Il existe deux types d'orangers :

- **Oranger amer** : *Citrus aurantium* ou *C. bigaradier* : Les feuilles à ailes développées, tiges épineuses, fruit gros ou moyen, à peau rouge-orangée, plus ou moins verruqueuse.

Il est utilisé comme porte-greffe et aussi pour ses fleurs en parfumerie et ses fruits en confiture et confiserie.

- **Oranger doux (*Citrus sinensis*)** : Une espèce à laquelle appartiennent toutes les variétés d'oranges commercialisées pour la consommation. Les feuilles peu ailées, tiges peu ou pas épineuses, fruit assez gros à moyen à peau orangée plutôt lisse. Exemple : **Thomson navel** *Cadenera Meski, Doucera.*[19] **Figure (8)**



Figure 7 : Le fruit d'orange de la variété Thomson Navel.

Mandarinier Citrus reticulata et ou Citrus unshui : Feuilles non ailées, petites, lancéolées, tiges inermes, fruit à peau orangée lisse. **Figure (8)**



Figure 8 : Fruits d'orange de la variété Mandarinier

Clémentinier :_(Hybride : Mandarinier x Bigaradier) : L'origine en est contestée, pour les uns ce serait un hybride entre le mandarinier et le bigaradier et pour les autres, il

proviendrait d'une souche orientale proche de la mandarine de Canton, les tiges sont inermes, les feuilles comparables au mandarinier pour la forme et à l'oranger pour la taille. Figure (10). [19]



Figure 9: Fruits d'orange de la variété d'un clémentinier

Pamplemoussier *Citrus grandis* : Les feuilles sont ailées, grandes, tiges grosses, peu épineuses, le fruit est très gros, sphérique, amer et consommable uniquement comme fruit confit ou en confiture. Figure (10). [20]



Figure 10 : Fruits d'orange de la variété Pamplemousse

Pomelo ou Grape-fruit : *Citrus paradisi* : Cette variété est caractérisée par des grandes feuilles, fruits de grosseur moyenne, à écorce lisse, réunis en grappe. Figure (11)



Figure 11 : une image d'un pomélo

Tangos Mandarinier x Oranger : ce sont, en réalité, des hybrides de mandarinier x oranger dont la maturité est très tardive. Il faut les greffer sur *Poncirus trifoliata*, ils sont sensibles à l'alternance mais ils présentent un intérêt car ils résistent aux froids, donc c'est possible de les cultiver dans les sites les plus exposés au gel. Figure (12).



Figure 12 : une photo du fruit Tango

Ensuite nous avons les agrumes qui appartiennent au groupe 2 :

Groupe II : pareil que le premier groupe, ces espèces ont des caractères en communs comme les jeunes pousses violacées, les fleurs blanches, rose violacé en dehors, des feuilles à pétiole non ailé et persistantes, les fruits jaune pâle et allongés à écorces adhérentes à la pulpe. Il existe donc :

Citronnier *Citrus limon* : le citronnier est qualifié par des feuilles grandes, sans ailerons, peu brillantes, tige assez grosse plus ou moins épineuse. Les fruits ont une taille moyenne, allongés, jaune clair, écorce lisse et mince. Figure (13)

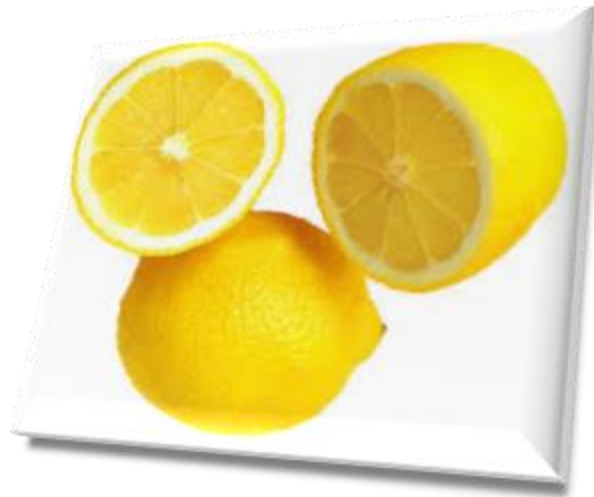


Figure 13 : photographie d'un citron [21].

Limettier *Citrus latifolia* : Les feuilles sont grandes, sans ailerons, peu brillantes, tige assez grosse, plus ou moins épineuse, fruit gros, jaune clair, écorce épaisse et plus ou moins verruqueuse. Figure (15).



Figure 14 : photographie d'une lime (citron vert)

Et enfin le **Groupe III** : Les jeunes pousses sont vertes, les fleurs entièrement blanches, les feuilles trifoliées et caduques, les fruits petits, globuleux et jaune pâle, à écorce rude impossible à consommer.

Oranger trifolié *Poncirus trifoliata* : les feuilles sont trifoliées, sans ailerons et caduques, tiges de grosseur moyenne, le fruit à écorce ligneuse et petit, inconsommable. Sur un plan presque uniquement ornemental figurent dans le 3eme groupe deux espèces le **Kumquat** (*Fortunella japonica*) et le Chinois (*F. margarita*) dont les fruits très petits sont utilisés en confiserie (fruits confits de forme ronde).

Kumquat *Fortunella margarita* : Port compact, bonne résistance au froid -12C. petits fruits ovales, jaune-orangé à partir de décembre. Floraison parfumée, prolongée, en mai. Les fruits légèrement amers sont excellents confits. Figure (15)

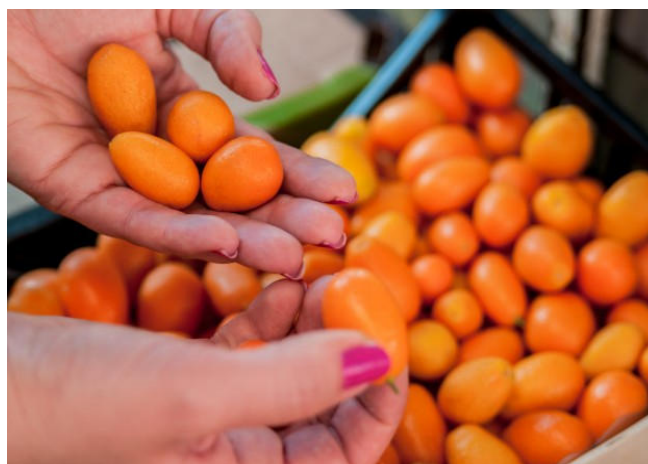


Figure 15 : photo d'un Kumquat

Les principales variétés d'agrumes cultivées sont illustrées dans la figure suivante :

Sous-groupe	Variétés	Caractéristiques
Les oranges <i>Citrus sienensis</i> (L) Obs		
Les navels		Orange Navelina, Orange Thomson navel, Orange Washington navel, Orange Cara Cara navel, Orange Lane Late navel
Les blondes		Oranger Valencia, Oranger Hamlin
Les sanguines		Orange Doublefine, Orange Moro, Orange Sanguinelli
Les Mandarines et leurs hybrides <i>Citrus reticulata</i> L.		
Communs		Mandarine Méditerranéenne
Satsumas		Satsuma Miho et Satsuma Wase
Tangelos		Tangelo Orlando, Tangelo Minneola
Tangors		Tangor Ortanique, Afourer, Tangor Ellendale, Tangor Murcott
Les Clémentines <i>Citrus reticulata</i> L.		
		Clémentine Nules, Clémentine Caffin, Clémentine Ragheb, Clémentine Monreal, Clémentine commune 63, Clémentine commune 92, Clémentine Muska, Nova
Les citrons <i>Citrus limon</i> L.		
		Citron Eureka Frost, Citron Feminello, Citron Panaché
Les limes <i>Citrus aurantifolia</i> L.		
Les limes acides		Lime Mexicaine, Lime Tahiti
Les limes doux		Lime de Palestine, Limonette de Marrakech
Les Pamplemousses <i>Citrus maxima</i> L.		
		Pamplemousse Goliath
Les Pomelos <i>Citrus paradisi</i> L.		
		Pomelo March, Pomelo Star Ruby
Les Kumquats <i>Fortunella</i> sp. L.		
		Le Nagami, Le Marumi
Les Cédraiers <i>Citrus medica</i> L.		

Figure 16 : Les principales variétés cultivées d'agrumes

9. Les exigences pédoclimatiques des agrumes

Les agrumes sont aujourd'hui cultivés dans les zones climatiques très diverses et souvent différentes de celles de leur aire d'origine. Leur culture est cependant limitée par les températures basses.

En effet, même si la plupart des agrumes supportent des situations gélives, les dégâts occasionnés par des températures inférieures à 5°C peuvent être très importants. Le seuil de végétation des Citrus est ainsi estimé à 12°C et à 36) °C.

Les températures élevées permettent un bon développement de l'arbre et une bonne productivité. Les températures basses, au moment de la maturation des fruits, sont aussi bénéfiques, principalement sur la coloration des oranges et des mandarines.

Les agrumes sont aussi très exigeants en eau, et surtout à la régularité des apports. Ces besoins sont d'environ 1500 mm d'eau par an. Les Citrus s'accommodent de conditions d'humidité de l'air très variables. Des niveaux élevés améliorent cependant la qualité des fruits, surtout par une meilleure teneur en jus.

Les Agrumes ne sont généralement pas trop sensibles aux vents. Des bourrasques violentes (supérieur 120 km/h, vents cycloniques) entraînent cependant des défoliations et des chutes de fruits. Les arbres adultes sont rarement déracinés. Les qualités physiques et chimiques du sol sont primordiales. Ils préfèrent des sols assez profonds (supérieur à 1m), légers et bien drainés. Ils aiment aussi les sols fertiles et à ph compris entre 5 et 8.

Les agrumes présentent une grande capacité d'adaptation à des conditions pédoclimatiques très différentes. [22]

- **Température** : 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 températures très élevées, supérieures à 40 C peuvent occasionner des brûlures sur les feuilles et sur les fruits. [22]
- **Pluviométrie** : En termes de besoins en eau, 120 mm par mois, soit 1200 à1500 mm par an, représentent une quantité d'eau au-dessous de laquelle la culture des agrumes nécessite une irrigation. [23]
- **La lumière** : La lumière a une action très remarquée sur la qualité et la coloration des fruits.[23]
- **Le vent** : le vent a un effet néfaste sur la production agrumicole par ses actions mécaniques et physiques, il provoque par sa violence des dégâts mécaniques très importants, il accroît les besoins en eau en augmentant très sensiblement l'évaporation du milieu. En effet, les chutes des fruits sont importantes dans les vergers non protégés des vents. [24]

10. Les exigences édaphiques

- **Le sol** : Doivent être profonds et de préférence légers (sablo-argileux ou argilo-sableux), bien drainés. [25].
- Un bon sol agricole présente les caractéristiques suivantes :
- **Argile** : 5 à 20% en poids de la terre fine.
- **Sable grossier** : 40 à 50%.
- **Sable fin** : 20 à 30%.
- **Limon** : 10 à 20%.
- **Calcaire** : 5 à 8(max 40%).
- **Le pH** : le ph idéal est situé entre 5,5 et 7,5. Malheureusement, dans les régions méditerranéennes, les ph sont souvent supérieurs à 7,5. Ce phénomène se traduit par des antagonismes entre les oligoéléments qui se manifestent par des carences surtout en fer, magnésium et en cuivre. [26].
- **Le calcaire actif** : Des teneurs en calcaire actives supérieures à 8 peuvent induire des carences alimentaires (phénomène de blocage de l'assimilation de certains éléments). Le port greffe *Poncirus trifoliata* est à moindre effet. Ses hybrides, les citronnes sont sensibles à tout excès de calcaire actif, par contre les autres porte-greffes présentent une meilleure tolérance au calcaire. [27].

11. Aspects sanitaires

Il existe un grand nombre d'agents pathogènes pouvant s'attaquer aux agrumes à travers le monde. Nous nous intéresserons principalement à ceux qui sont présents en Algérie, car ils représentent un risque potentiel sur l'agrumiculture algérienne.

En Algérie, l'agriculture présente un grand intérêt économique, principalement au niveau des zones où les productions arboricoles sont importantes.

Les agrumes sont très sensibles aux maladies Cryptogamiques, ainsi ils sont vulnérables devant des espèces dévastatrices, qui causent des dégâts énormes voir lourds, et influent sur la rentabilité des vergers d'agrumes Algériens.

Nous allons citer les maladies qui peuvent toucher les agrumes comme suit :

12. Maladies physiologiques

- **Azote** : l'absence de ce dernier peut causer :
 - Une diminution de la taille de l'arbre et une teinte vert jaunâtre du feuillage.
 - Un développement aberrant des bourgeons et des pousses.
 - L'écoulement des fleurs.
 - Une réduction de la teneur en protéines.
- **Phosphore**

La carence peut être marquée sur les arbres par les symptômes suivants :

- Feuillage foncé, mat, prenant des teintes pourprées en bordures.
- Rétrécissement de la taille des pousses.
- Perturbe la fécondation et la maturation des fruits.
- **Potassium**
 - Apparition sur le feuillage des tâches qui se déploie en prenant un aspect bronzé tandis que la base reste verte.
 - Dessèchement de l'arbre.
 - Production des petits fruits (diminution du calibre).
- **Oligo-éléments**

Les carences apparaissent comme suit :

- Des décolorations variées du feuillage.
- Un raccourcissement des jeunes pousses.
- Une diminution de la qualité des fruits.
- Faible rendement. [28].

13. Les maladies bactériennes

a) **Stubborn** (*Spiroplasma citri*)

C'est un mycoplasme (micro-organisme à structure proche de celle des virus et des bactéries). Le mycoplasme peut être propagé et transféré en pépinière par greffage. En verger, il peut être transmis d'arbre malade à des arbres sains par les cicadelles, plus spécialement par les 2 espèces *Circulifer tenellus* et *Neoliturus haematoceps*. C'est la maladie la plus courante et la plus austère, surtout lorsqu'elle est liée à une autre virose qui est essentiellement la Psoros.

b) **Chancre bactérien d'agrumes** (*Xanthomonas campestris* PV.Citri)

Cette bactérie empeste la partie aérienne de la plante. Elle crée des lésions, des taches ponctuelles au départ, deviennent soit de petites pustules surélevées soit des éruptions.

c) **Xanthomonas**

Elle incite à ronger et à détruire les agrumes. Ce chancre bactérien forme un tissu brun spongieux sur les branches, les feuilles et les fruits. On met en garde la maladie en utilisant des cultivars résistants. Il n'existe nullement une méthode de lutte chimique contre le chancre bactérien ; la seule façon de traiter cette maladie est de déraciner tous les arbres infectés de la région qui peut être infecté.

Ensuite nous avons les **maladies cryptogamiques** qui sont d'origines cryptogamiques et qui s'attaquent essentiellement aux agrumes. Ces maladies sont assez nombreuses. Elles touchent les différents organes végétatifs des Citrus (les racines, le tronc, le fruit...).

d) **Pourriture sèche des racines** (*Fusarium sp*)

- Mort subite des arbres.
- Diminution et affaiblissement unilatéral des arbres.
- Pourriture sèche des racines avec une coloration brune ou marron.

e) **Pourridié des racines**

C'est une maladie qui touche principalement les végétaux, elle est dite maladie cryptogamique. C'est un champignon qui peut envahir les racines, et provoque l'arrêt de la circulation de la sève et par suite le déclin de l'arbre.

f) **Gommose à Phytophthora** (*Gummosis - Citrus brownrot*)

C'est l'un des principaux agents pathogènes des grumes. L'utilisation de porte-greffe s'est révélée comme un moyen de protégé les agrumes, dont toutes les variétés commerciales sont très sensibles à la **gommose à Phytophthora**. Plusieurs facteurs sont connus pour favoriser une attaque :

Un sol très humide et chaud (**25 °C**), des blessures sur l'écorce, ainsi que la sensibilité du porte-greffe et de la variété greffée. Lors de pluies ou d'irrigation par aspersion, des spores présentes sur le sol ou des débris peuvent être éjecté sur les fruits ou les branches basses et infecte les tissus.

g) **Mal secco** (*Phomatracheiphila*)

Cette maladie cryptogamique est causée par *Phomatracheiphila*, c'est un champignon qui s'étend dans les tissus conducteurs et gêne la circulation de la sève causant un dessèchement des grosses branches et dépérissement total de l'arbre en un ou deux ans.

h) **Fumagine**

Cette maladie est la répercussion d'une forte attaque de cochenille et de puceron, ou d'aleurode. De ce fait, ces insectes rejettent sur les feuilles et les rameaux et se nourrissent de sève, ils provoquent une déjection liquide et sucrée autrement dit « un miellat », sur lequel le champignon responsable de la fumagine (*Capnodium citri*) trouve un milieu favorable à son développement.

i) Anthracnose

Cette maladie, est causée par le *Colletotrichum gloeosporioides*, elle attaque principalement aux arbres qui sont faible et souffre d'un déséquilibre alimentaire minéral ou hydrique. Elle se propage à la faveur des premières pluies automnales et provoque un dessèchement caractéristique des jeunes rameaux et les extrémités des branches engendrant la chute des feuilles, Qui fait apparaitre de petites taches foncées sur les feuilles et rameaux desséchés.

j) Blight

Il est probablement absent du Bassin méditerranéen. L'agent causal reste à ce jour inconnu. Des greffages expérimentaux de racines d'arbres malades sur des racines d'arbres sains ont permis de faire parvenir cette maladie, mais la transmission n'a pas été décrochée avec des greffons de rameaux, ni en plantant un arbre sain dans le sol d'un arbre malade.

Les arbres atteints ont un aspect flétri, les vaisseaux du xylème étant obstrués. De nombreux gourmands se développent sur les troncs.

En général, les arbres ne meurent pas, mais deviennent stérile et inefficace. En fonction des porte-greffes, l'apparition des symptômes est plus ou moins rapide, mais une fois la maladie établie, son intransigeance est la même. [29]

Les principales maladies fongiques qui sont les reconnus sur le plan agrumicole sont présenté dans la figure suivante :

Maladies	Pathogène	symptômes
Gommose (pourriture des racines).	<i>phytophthora</i>	Dépérissement de l'arbre Jaunissement des feuilles Chancre gommeux à la base du tronc
Pourridiés	<i>Armillariamellea</i>	Dépérissement brutale de l'arbre,
Greasy spot	<i>Mycosphaerellacitri</i>	Taches d'aspect graisseux brun foncé surtout visibles sur la face inférieure du limbe
Trachéomyose	<i>Deutterophoma</i>	Dessèchement des extrémités des branches et défoliation partielles

Figure 17 : Les principales maladies fongiques d'agrumes

Ensuite, nous avons :

14. Ravageurs

On peut apercevoir **5** espèces de Gastéropodes, **12** espèces d'Acariens, **352** espèces d'Insectes, **11** espèces de Mammifères auxquelles il existe **186** espèces de Nématodes parmi ces derniers on trouve les Insectes, et les Acariens divers qui assaillent les agrumes, pour pouvoir se nourrir, et dans d'autres ils les attaque afin d'accomplir une partie de leur cycle biologique. Ces attaques sont à l'origine de dégâts qui ont lieu directement par la démolition de différentes parties de l'arbre ou indirectement par la transmission de certaines maladies. [30]

Les insectes sont extrêmement nombreux, ils se développent sur les oranges de l'arbre, ils entraînent des dégâts très lourds.

a) Pucerons (*Aphis spiraecola*)

C'est un puceron de petite taille qui est d'une couleur vert clair à jaune vert. Ces pucerons ailés sont généralement plus foncés, ils sont souvent bruns, sauf l'abdomen qui est verdâtre.

Les coccinelles sont les principaux ennemis des pucerons exemple de *Coccinella algerica* qui est rencontré en grand nombre dans les populations de pucerons plus précisément dans les vergers agrumicoles.

On la retrouve généralement sur des plantes basses spontanées et cultivées. Ainsi, on peut les rencontrer dans un autre prédateur qui est essentielle exemple des syrphes. Les larves de ses syrphes dévorent les pucerons, et apparaissent le plus souvent sur la face inférieure des feuilles et sur les jeunes pousses des agrumes. Sous leur action, les jeunes pousses s'enroulent, dont la partie la plus tendre des feuilles prend une forme incurvée. On observe également une sécrétion d'exsudat ou miellat sur lequel se développe la fumagine.

b) Cochenilles (*Coccus*)

C'est un insecte polyphage. Il est souvent rencontré dans les plantes sauvages et cultivées, particulièrement sur les agrumes.

La cochenille secrète sur les fruits, le feuillage et les rameaux un abondant miellat qui fait apparaître une massive fumagine en aggravant encore des dommages. Les cochenilles abritent les fruits et portant les traces de fumagine et perdent sensiblement leur valeur commerciale. Elle se nourrit de la feuille des agrumes.

Une méthode biologique a été mise en place, en utilisant des ennemis naturels du parasite. Qui sont donc la guêpe *Aphytis* et, dans les régions humides, les champignons *Aschersonia* et *Fusarium*.

Les champignons et les guêpes arrivent parfois à supprimer naturellement les cochenilles. Si ce n'est pas le cas, il est possible d'apporter des guêpes dans le verger ou arroser les arbres avec une culture de champignons.

c) Acariens

Ces petits insectes microscopiques, engendrent la déformation, décoloration, la mort des tissus vivants « nécrose », et chutes des bourgeons, des fruits et des feuilles.

d) Cératite (mouche méditerranéenne des fruits)

C'est l'insecte le plus redoutable des agrumes, l'adulte male ressemble à une mouche de 4 à 5 mm de long, de corps jaune. La femelle peut produire 300 à 1000 œufs. Les fruits attaqués présentent généralement une zone de décoloration, l'attaque se traduit par le murissement précoce puis la chute des fruits.

e) Aleurodes (mouche blanche)

Elle provoque l'exsudation de miellat sur les feuilles qui se couvrent de fumagine en créant un écran entravant l'élaboration de la chlorophylle (la photosynthèse).

f) Nématodes

Ce sont des verres microscopiques qui vivent dans le sol, ils attaquent généralement les racines. Ils causent de graves dommages en causant un jaunissement des feuilles. La lutte exige l'emploi de porte greffe résistant et des traitements sous forme de fumigeant.

Les principaux ravageurs des agrumes sont illustrés dont le tableau suivant :

Tableau 5 : les principaux ravageurs d'agrumes les plus connus « insectes et autres »

Ravageurs	Nom		Dégâts
	scientifique	Commun	
Insectes	<i>Aonidiella aurantii</i>	Pou de Californie	Attaquent les feuilles ,les rameaux et les fruits. Développement de la fumagine , chute des feuilles et dépérissement des fruits.
	<i>Lepidosaphes beckii</i>	La cochenille moule	
	<i>Lepidosaphes glowerii</i>	La cochenille virgule	
	<i>Chysocephalus dictyospermi</i>	Pou rouge de Californie	
	<i>Parlatoria zizphi</i>	Pou noir de l'oranger	
	<i>Parlatoria pergandei</i>	Cochenille blanche	
	<i>Saissetia oleae</i>	Cochenille H	
	<i>Icerya pirshasi</i>	La cochenille australienne	
	<i>Coccus hesperidum</i>	Cochenille plate	
	<i>Ceroplastes sinensis</i>	La Cochenille chinoise	
	<i>Pseudococcus citri</i>	La cochenille farineuse	
	<i>Aphis spiraecola</i>	Puceron vert des citrus	
	<i>Aphis gossypii</i>	Puceron vert du cotonnier	
	<i>Toxoptera aurantii</i>	Puceron noir des agrumes	
	<i>Myzus persicae</i>	Puceron vert des pêcher	
	<i>Aleurothrixus floccosus</i>	L'aleurode floconneux	Provoque des souillures importantes ainsi que le développement de la fumagine
<i>Dialeurodes citri</i>	L'aleurode des citrus	Provoque des nuisances et développe de la fumagine.	
<i>Phyllocnistis citrella</i>	Mineuse des agrumes	Attaque les feuilles et les jeunes pousses.	
<i>Ceratitis capitata</i>	Mouche méditerranéenne des fruits	Provoque la pourriture des fruits.	
Nématodes	<i>Tylenchulus semipenetrans</i>	Nématode des agrumes	Croissance ralentie des arbres ; pas de symptôme spécifique de cette espèce.
Acarie	<i>Tetranychus cinnabarinus</i>	Acarie tisserand	Provoquent des nécroses ,décoloration et chute des feuilles ,des fruits et des bourgeons.
	<i>Hemitarsonemus latus</i>	Acarie ravisseur	
	<i>Aceria sheldoni</i>	Acarie des bourgeons	

La mineuse des agrumes, d'où son nom scientifique est *Phyllocnistis citrella*. Est l'insecte auquel nous s'intéressons le plus dans notre étude. Cette espèce dévastatrice sera donc présentée dans le chapitre suivant avec encore plus de détail.

Les agrumes, peuvent ainsi affronter d'autres maladies, qui peuvent être dangereuse et peuvent aussi atténuer la vie, la physiologie des vergers, ces derniers sont cités comme suit :

Ce chapitre a été consacré uniquement pour l'étude des agrumes, nous avons présenté tout sorte d'agrumes qui puissent exister dans le monde, en élaborant leurs histoire, origines, répartitions, productions...etc., par suite nous avons cité les maladies que peuvent affronter ces vergers.

Notre étude se base surtout sur la mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella*, cette dernière est présentée dans le chapitre suivant.

Chapitre II :
Présentation de la mineuse
des agrumes *Phyllocnistis*
***citrella* Stainton 1856.**
(Lepidoptera.
Gracillariidae).

1. Généralités sur les lépidoptères

Les lépidoptères se caractérisent aisément des autres insectes par la présence d'écailles (lepidos veut dire écaille en grec). Ils sont l'un des ordres d'insectes les plus riches en espèces et, ainsi, deviennent une attraction et une cible qui favorise un bénéfice de privilège des collectionneurs. Leurs couleurs, éclatantes et très diversifiées, leurs dessins remarquables, la variété de leurs formes et la facilité avec laquelle on peut, en général, les élever ranime l'intérêt grandissant des zoologistes et plus particulièrement des entomologistes. [31]

L'ordre des lépidoptères est parmi les plus importants quantitativement, autrement dit primordial dans le monde des insectes. Le nombre d'espèce est estimé à près de **150 000** papillons dans le monde dont environ **25 000** espèces diurnes qui vit le jour, et **125 000** papillons nocturnes. [32]

Tous ces insectes, sans exception, proviennent de larves appelés *chenilles*. Elles se distinguent des autres larves qui ne possède que seize pattes ni moins ni plus. Ces dernières, une fois arrivée à leurs stades de croissance, elles changent en *chrysalides*, desquelles, après un temps plus ou moins long, sortent des insectes parfaits, en tout semblables à ceux qui leur ont donné naissance. [33]

Il existe bien d'autres particularités morphologiques chez les lépidoptères mais il n'est pas nécessaire, dans le contexte de cette présentation, d'en donner plus de détails.

Chez les adultes, les pièces buccales sont de type **suceur**, elles sont composées par la coaptation des Galéas et des maxilles pour former une trompe flexible enroulée en spirale. Toutes les autres pièces buccales sont atrophiées ou absentes à l'exception des palpes labiaux (en général bien développés). [33]

On imagine aisément au regard de ces **123** familles et **156.500** espèces connues, que les lépidoptères ont des biologies et des comportements très riche et diversifiés. Ces insectes sont holométaboles et passent par quatre stades dans leur développement (œuf, larve (*chenille*), nymphe (*chrysalide*) et adulte (*papillon*)).

Chez certains papillons il n'y a qu'une seule génération par an (espèces univoltins), d'autres espèces produisent deux générations (espèces bivoltines) ou plus. Le nombre de génération dépend aussi du climat. Ainsi, pour une même espèce, les populations les plus septentrionales peuvent n'avoir qu'une génération annuelle alors que les populations méridionales en ont **2 à 3**.

En général, les adultes ne vivent que quelques jours, le temps de se reproduire, chez quelques espèces les imagos (stade juvénile) peuvent vivre plus d'un an.

Le genre d'espèces, l'hibernation peut se réaliser à tous les stades du développement (œuf, chenille, chrysalide et même adulte). D'autres espèces, d'autre part certaines noctuelles, n'hibernent nullement mais parfois migrent de plusieurs milliers de kilomètres pour fuir aux rigueurs de l'hiver. La nymphose peut s'opérer à l'air libre, dans les tissus végétaux, dans la terre ou dans des abris divers. [34]

2. Présentation de la famille des Gracillariidae

Les Gracillariidae constituent une famille assez grande et étendue dont les papillons, de petite taille, sont remarquables par leur position dressée au repos, avec les pattes antérieures écartées et la tête relevée. Les ailes sont étriquées et bordées d'une frange de longs cils. Les chenilles qui sont des **mineuses** des feuilles ont un corps extrêmement aplati. La chenille nouveau-née possède des pièces buccales particulières, avec des mandibules (une pièce buccale) en forme de lame, adaptées à la l'arrachement des tissus végétaux, pour en faire sourdre les sucs, dont l'animal se nourrit. Les chenilles plus âgées ont des pièces buccales broyeuses normales. Chez de nombreuses espèces, la chenille termine son cycle larvaire à l'air libre.

Dans cette étude nous nous sommes intéressés au micro lépidoptère, plus précisément à l'insecte qui appartient à la famille des gracillariidées, d'où son nom scientifique est *Phyllocnistis citrella*.

La *Phyllocnistis citrella* Stainton appartient à la famille des Gracillariidae appelé aussi « mineuse des feuilles des agrumes ». Elle a été identifiée pour la première fois en Inde par **Stainton** en 1856. [35]

Ce petit papillon nocturne, a été remarqué pour la première fois dans les vergers agrumicoles de l'Ouest algérien durant l'été **1994**. Depuis, cet insecte redoutable est considéré comme un principal ravageur des Citrus en Algérie. [36]

3. Historique et origine de la mineuse

La mineuse des agrumes est originaire du sud-est asiatique. (**Stainton, 1856**) est le premier auteur qui a mentionné l'Inde comme origine de cette espèce. A cette époque, *P. citrella* a été confondu avec d'autres espèces européennes telles que *Phyllocnistis suffurella* et *P. saligna*. [37]

La dispersion de cette espèce invasive s'est progressée d'une manière très inquiétante elle s'est considérablement étendue à partir des années 90, en même temps elle a été signalée en 1993, dans la région de Malaga en Espagne, ainsi dans les pépinières agrumicoles du sud de la Floride. [38].

Dans le Bassin méditerranéen, l'infestation des vergers a été observée en 1993, spécifiquement en Espagne, puis en 1994, au Maroc, ensuite en Italie ainsi qu'en Algérie. [39]

Dès ce moment, la *Phyllocnistis citrella* est devenue le principal ravageur des agrumes en Afrique du Nord. [40]

4. Position systématique de la mineuse

La position systématique de La mineuse des feuilles des agrumes se dispose comme suit :

- **Embranchement** : Arthropodes.
- **Classe** : Insectes.
- **Sous classe** : Pterygotes.
- **Super ordre** : Mecopteroïdea.
- **Ordre** : Lepidoptera.
- **Sous ordre** : Heteroneura.
- **Division** : Ditrysia.
- **Sous division** : Heterocera.
- **Super famille** : Tineoïdea.
- **Famille** : Gracillariidae.
- **Synonyme** : Lithocolletidae.
- **Sous famille** : Phyllocnistinae.
- **Genre** : Phyllocnistis.
- **Espèce** : *Phyllocnistis citrella* (Stainton), 1856.
- **Synonyme** : *Lithocolletis citricola* (Swinh). [41]

5. Description biologique de la mineuse

Elle est aujourd'hui disséminée dans la plupart des régions agrumicoles du monde. Il serait arrivé en Nouvelle-Calédonie entre la fin des années 80 et le début des années 90.

L'adulte mesure 2 mm de long et 4,5 mm d'envergure, il possède des ailes antérieures et postérieures frangées de longues soies. Les vols diurnes, souvent occasionnés par l'activité

humaine, sont rares et généralement courts et rapides. L'œuf est plat, légèrement ovale et mesure 0,3 mm Il est généralement déposé le long de la nervure centrale de la feuille.

Transparent, il ressemble à une goutte d'eau, et apparaît vert du fait de la couleur de la feuille. Les trois premiers stades larvaires se nourrissent des cellules épidermiques, laissant des mines* caractéristiques sur la surface inférieure des feuilles. Le décollement de l'épiderme donne un aspect argenté à la mine résultant de l'air et de la condensation.

La pupe de couleur jaunâtre à marron mesure 2,5 mm de longueur.

6. Cycle biologique

L'accouplement survient au crépuscule entre 9 et 12 heures après l'émergence des adultes. La femelle pond plus de 50 œufs dans sa vie et ce, 24 heures seulement après l'accouplement, à raison de 20 œufs par nuit. L'éclosion, rapide, survient en 24 heures. Quatre stades larvaires se succèdent. Le quatrième stade est jaune et ressemble au troisième mais ne se nourrit plus. Il est aujourd'hui disséminé dans la plupart des régions agrumicoles du monde. Il serait arrivé en Nouvelle-Calédonie entre la fin des années 80 et le début des années 90.

L'adulte mesure 2 mm de long et 4,5 mm d'envergure, il possède des ailes antérieures et postérieures frangées de longues soies. Les vols diurnes, souvent occasionnés par l'activité humaine, sont rares et généralement courts et rapides. L'œuf est plat, légèrement ovale et mesure 0,3 mm Il est généralement déposé le long de la nervure centrale de la feuille.

Transparent, il ressemble à une goutte d'eau, et apparaît vert du fait de la couleur de la feuille. Les trois premiers stades larvaires se nourrissent des cellules épidermiques, laissant des mines* caractéristiques sur la surface inférieure des feuilles. Le décollement de l'épiderme donne un aspect argenté à la mine résultant de l'air et de la condensation.

La pupe* de couleur jaunâtre à marron mesure 2,5 mm de longueur.

L'accouplement survient au crépuscule entre 9 et 12 heures après l'émergence des adultes. La femelle pond plus de 50 œufs dans sa vie et ce, 24 heures seulement après l'accouplement, à raison de 20 œufs par nuit. L'éclosion, rapide, survient en 24 heures. Quatre stades larvaires se succèdent. Le quatrième stade est jaune et ressemble au troisième mais ne se nourrit plus.

Il est aujourd'hui disséminé dans la plupart des régions agrumicoles du monde. Il serait arrivé en Nouvelle-Calédonie entre la fin des années 80 et le début des années 90.

L'adulte mesure 2 mm de long et la *Phyllocnistis citrella*, est aujourd'hui disséminé dans la plupart des régions agrumicoles du monde entier. L'adulte mesure 2 mm de long avec 4.5 mm d'envergure, ce dernier possède des ailes antérieures et postérieures frangées de longues soies, les vols diurnes de cet insecte sont souvent occasionnés par l'activité humaine, ils sont généralement rares, courts et rapides. [42].

Nous allons voir la description de cet insecte avec plus de détails :

a) L'adulte

L'adulte de *Phyllocnistis citrella* est un micro lépidoptère, mesurant environ 2mm de long et de 4 à 5mm d'envergure, de coloration générale blanc argentée.[43]

Les ailes antérieures sont divisées en deux parties par une ligne plus sombre. La partie basale est blanche avec une ligne sinueuse argentée et ne porte pas de franges ; la partie apicale est d'un coloris légèrement différent, avec un mélange d'écailles, elle porte ainsi de longues franges. Seules les pattes postérieures, les plus longues portent deux éperons. Les deux paires d'ailes sont couvertes de petits poils. [44]

Les adultes sont actifs à partir du crépuscule jusqu'au matin et selon toute apparence, ils pondent le soir et les premières heures du matin. Ils sont rarement observés le jour, sauf lorsqu'ils sont généralement perturbés par l'activité de l'homme et dans ce cas, l'envol est court et rapide. La durée de vie des adultes est comprise entre 2 et 12 jours en se nourrissant de nectar. [45]



Figure 18 : L'espèce *Phyllocnistis citrella*

b) L'œuf

L'œuf a une forme aplatie, légèrement ovale et mesure 0.2 à 0.3mm. Il est généralement déposé le long de la nervure centrale de la feuille. Transparent, il ressemble à une goutte d'eau, et apparaît vert de fait de la couleur de la feuille. Les trois premiers stades larvaires se nourrissent des cellules épidermiques, en laissant des mines sur la surface inférieure des feuilles. Le décollement de l'épiderme nous donne un aspect argenté à la mine, en résultant de l'air et de la condensation. La pupa de couleur jaunâtre à marron mesure 2.5 mm de longueur. [46]. **Figure (19).**



Figure 19 : L'œuf de la mineuse prise sur internet

La *Phyllocnistis citrella* passe par quatre stades larvaires dont seulement les trois premiers se nourrissent à l'aide d'un appareil buccal typique des chenilles mineuses incluant en particulier deux mandibules aplaties dors ventralement en lame portant une fine denture. [47]

Pour le quatrième stade, on assiste à une transformation des pièces buccales qui seront destinées au tissage du cocon nymphal. Les larves néonatales (nouveaux nés), mesurent entre 1 à 2 mm de long, ils possèdent une couleur blanche et avec l'âge ils obtiennent une couleur jaune. La capsule céphalique de celle-ci est plus tolérante, et plus étendue que le thorax, et les segments abdominaux. Le quatrième stade peut être contempler comme prénymphe, il est de même taille que le troisième sauf qu'il a une forme cylindrique. Le stade larvaire ne se développe que lorsqu'ils se nourrissent. [48]

c) La larve

Le corps de la larve est dépourvu de pieds, et de pattes, il est allongé avec une forme aplatie dorso ventralement, la tête est prognathe robuste et triangulaire. Le thorax élargit l'abdomen avec des segments bien délimités, dont ces trois derniers sont étroitement cylindriques.

Une fois arrivés à ce stade, ces espèces se métamorphosent et atteignent leur développement maximal.

Les larves se développent dans les feuilles, en creusant des galeries sinueuses provoquant des enroulements, et décolorations foliaires. Une fois les galeries creusées par cette dernière elle provoque une réduction de la photosynthèse.

Petit à petit la larve commence à progresser, les mines deviennent plus amples et plus visibles. La longueur de la mine à la fin du développement de l'insecte est en moyenne de **150** à **300mm**. Les larves se déplacent en se contractant, et en déployant les segments de leur corps en avant. [48]

d) La prénymphe

La prénymphe contrairement aux autres stades larvaires, se spécifie par un appareil buccal atrophié, n'acquiesçant pas la prise normale de nourriture, il est destiné principalement à tisser le cocon nymphal, que c'est un stade de repos qui n'a aucun rôle et n'a aucune mobilité exceptée pour les mouvements abdominaux. [49]

Les trois premiers stades larvaires se singularisent entre eux que par leurs tailles. Ils sont presque semblable question forme, Ils sont facilement identifiable par les critères suivants :

- La capsule céphalique est assez large et ample.
- La largeur latérale des parties du corps.

La forme du dernier segment du corps :

- Entaille au milieu pour la larve du premier stade (**L1**).
- Porte deux courts processus caudaux pour la larve du deuxième stade (**L2**).
- Possède deux processus caudaux relativement longs pour le troisième stade (**L3**). [50]

Des travaux de mensurations ont été réalisés par les chercheurs, ils ont ressorti les caractéristiques des différents stades larvaires comme suit :

- 1^{er} stade larvaire : 1,5mm.
- 2^{ème} stade larvaire : entre 1,5 à 2,5mm.
- 3^{ème} stade larvaire : entre 2,5 à 4,5mm.
- Prénymphe : plus de 4,5mm.

Les critères de l'identification de ses stades larvaires sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Identification des critères des trois différentes larves de la *Phyllocnistis citrella* [51]

Stade larvaire	Dimension	Couleur de larves	Etat des galeries
L1	0.81	Couleur très claire.	Forme Rectiligne
L2	1.56	Début du jaunissement.	Forme peu développé
L3	3.25	Jaune foncé.	Forme très développé

e) La nymphe

La nymphe mesure entre **3 à 4** mm de long, qui dotée d'une couleur marron clair, puis devient foncée, La tête est de couleur marron jaunâtre avec des plages noires sur la partie dorsale, elle est munie d'une épine frontale acérée, destinée à transpercer le cocon formé lors de la nymphose. [52]

La *Phyllocnistis citrella* possède un aspect sexuel différent. Chez la nymphe femelle, l'épine frontale est longue et courbée alors que chez le mâle. Elle est courte et droite. Ce dimorphisme permet le sexage rapide. Cet insecte présente une morphologie pygidiale différente, ce qui rend capable la prédiction des sexes des adultes. En comparant à celui du mâle, le pygidium femelle est plus long portant ainsi deux. [53]

La nymphe perce à l'aide de son sclérite céphalique, la chambre nymphale pour permettre à l'adulte de se manifester en forçant sur son corps à travers l'ouverture de la loge.

Les caractéristiques de la *Phyllocnistis citrella* sont démontrés ci-après :

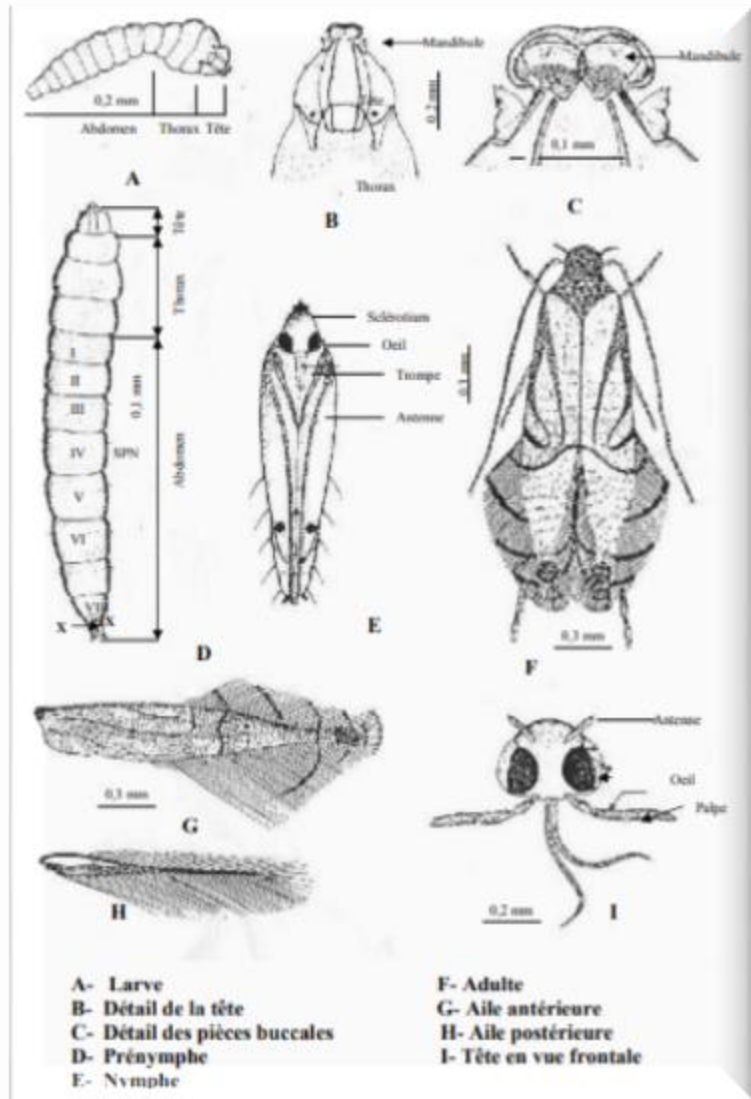


Figure 20: caractéristiques de la mineuse des feuilles agrumes [54]

7. Le cycle biologique de la *P.citrella*

Le cycle de développement de la *Phyllocnistis citrella* est démontré dans la figure ci-dessous :

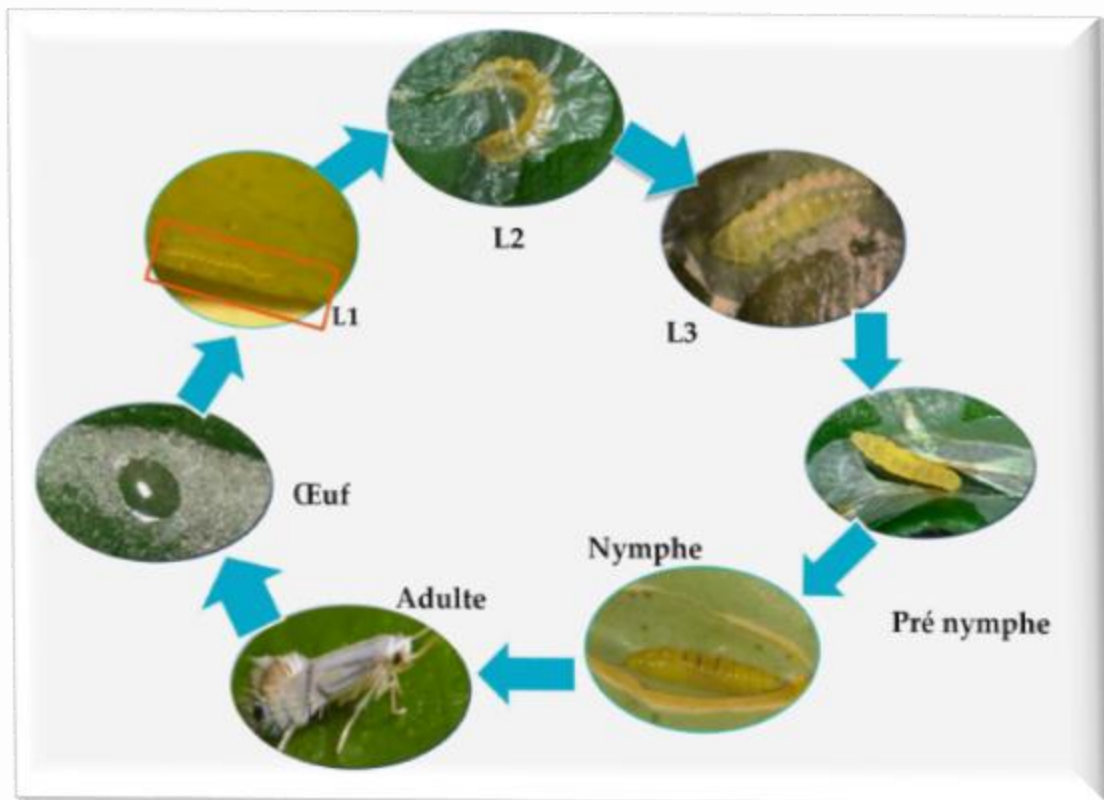


Figure 21: le cycle biologique de la mineuse des agrumes

On note que le cycle biologique de cette dévastatrice, dure de **13 à 52** jours en fonction des conditions climatiques et du nombre de flush émergentes.

Plus précisément, au cours de la période estivale, il varie de 14 à 17 jours. Pour la période hivernale, il est de l'ordre de 52 jours. La durée totale du cycle est de **13 à 15** jours à des températures variantes entre **26 et 28°C**.

La durée de vie du cycle biologique de la *P. citrella* dure :

- 2 à 10 jours pour l'incubation des œufs.
- 5 à 20 jours pour le développement du stade larvaire.
- 6 à 22 jours pour le développement des nymphes. [55]

8. Bio écologie de la mineuse

a) Emergence

Cette espèce, émerge tôt le matin, malgré son faible sens d'orientation photo taxique, en raison de ses mœurs nocturnes. Ils s'accouplent entre 9 et 12 heures après l'émergence suivis de l'ovipositeur. Les femelles recherchent toujours les jeunes feuilles d'agrumes pour pondre leurs œufs. Ces derniers sont isolés près de la nervure principale sur l'une des faces de la feuille, et rarement sur la face supérieure et ne dépose pas ces œufs sur les feuilles âgées. [55]

La ponte des œufs sur la surface inférieure des feuilles, protège les œufs des rayonnements solaires. L'ovipositeur peut se faire sur la face supérieure en cas de forte densité ou bien d'humidité relative élevée. Chaque femelle peut pondre entre **20** à **100** œufs. La durée de l'embryogenèse varie entre **1** à **10** jours. D'autres auteurs notent que l'éclosion des œufs prend deux jours après la ponte, La durée de l'incubation est intimement liée à la température. [56]

Dans la nature, l'embryogenèse prend un temps de **1** à **3** jours quand les températures varient entre **13** à **36°C**, de **2** à **6** jours à des températures variantes entre **7** à **34°C** et de **2** à **10** jours pour des températures variant de **11** à **38°C**.

Les chenilles endophytes dès leur éclosion, elles évoluent intégralement en mineuse jusqu'au stade nymphal. Incapables de survivre en dehors de leurs mines, il semble ainsi que la larve ne peut pas compléter son développement dans le fruit. [57]

Arrivant à la phase finale de son évolution, la (prénympe) s'arrête de s'alimenter des feuilles, et prend le chemin de la feuille qu'elle replie sur elle-même et réalise une loge pour s'y nymphoser. [58]

b) Ponte et embryogenèse

Après avoir été accouplé, les femelles cherchent pour y déposer leurs œufs sur les feuilles des jeunes pousses du verger soit isolement, soit par groupes de **2** à **3** éléments posé sur l'une a cote de l'autre face de la feuille. Ces œufs peuvent également être déposés sur l'apex de jeunes bourgeons et même sur les brindilles très tendres, L'embryogenèse dure 2 jours. [59]

L'accouplement de cet insecte se fait à la tombée de la nuit de **9** heures jusqu'à **12** heures après l'émergence. **24** heures après l'accouplement, la femelle place ses œufs soit isolés, soit par groupes de **2** à **3** éléments l'un a côté de l'autre près de la nervure principale. [60]

c) Développement larvaire

La naissance des jeunes larves (du premier stade larvaire), elles pénètrent sous l'épiderme de la feuille et s'alimentent à partir des cellules de parenchyme qu'elles les ont troués, grâce à leurs crochets mandibulaires. [61]

Les larves creusent un tunnel qui est marquée au milieu par une ligne sombre d'excréments. Ce tunnel, ou autrement dit mine, va progressivement s'allonger et s'élargir au fur et à mesure le temps que la larve se développe. Une fois ce développement est atteint, une longueur de **50** à **100mm**. La durée du développement larvaire dépend essentiellement de la température, elle est de **10 + 15** jours à **40°C** et de **18 + 25** jours à **20°C**. [61]

d) La nymphose

La prénymphe est caractérisée par un développement de filières à soies servant à confectionner le cocon nymphal.

La nymphose se réalise sur le bord de la feuille que la chenille replie en étui pour y tisser le cocon de nymphose. Elle peut avoir lieu dans les dépressions ailleurs que sur le bord de la feuille.

La durée du stade nymphal dépend de la température du milieu, elle est de **9** jours à **35°C** et de **19,5** jours à **20°C**. La durée du cycle évolutif de l'œuf à l'imago dépend étroitement des conditions climatiques, elle varie entre **2** à **7** semaines. [62].

e) Nombre de générations

La mineuse des feuilles des agrumes est polyvoltine, c'est-à-dire elle présente plusieurs générations par an, le nombre de générations annuelles est variable selon les régions et les conditions climatiques.

En Algérie, on a signalé **5** à **6** générations par an sur **Thomson navel** et **Clémentinier**. [63]

9. Influence des facteurs écologiques

Les facteurs climatiques influencent sur le développement annuel de la mineuse des feuilles de citrus. [64]

La disponibilité d'une abondante et fraîche végétation associée à des conditions climatiques favorables (**17,2°C** à **35,4°C** de température et **31%** à **72%** d'humidité relative) provoquent une multiplication rapide et intense de l'insecte.

Une baisse de températures peut conduire à une mort subite au sein des différents stades de *Phyllocnistis citrella*. A cet effet, une température inférieure à 15°C entre la mortalité du premier et du deuxième stade larvaire. La mortalité du troisième et du quatrième stade larvaire est consignée à des températures inférieures à 10°C, signalent aussi que 63% des chrysalides meurent quand la température atteint 46°C. [65]

La femelle peut résister à des températures plus basses pendant plus de 4 mois, Le seuil thermique du développement de l'adulte est compris entre une température minimale de 12,2°C, et une maximale de 46°C. [65]

9.1. Plante hôtes :

La *Phyllocnistis citrella*, est l'espèce invasive des agrumes qui appartiennent à la famille des Rutacées, ces derniers sont les hôtes préférentiels de ce déprédateur qui appartiennent tous au genre **Citrus**, elle se nourrit aussi des plantes des autres familles botaniques comme le **Jasmin**, **Gui**, le **Saule** et quelques autres légumineuses. [66]

9.2. Dégâts et symptômes

La mineuse engendre des dommages très lourdes sur les vergers d'agrumes, les dégâts commis par les chenilles de la mineuse se caractérisent par une destruction importante de matière végétale qui entraînent fréquemment une chute échelonnée, prématurée du feuillage, accompagnée ou non de nécrose secondaire.

Cet insecte, ralentit la croissance jeunes arbres et une baisse de production sur les arbres les plus âgés. [67]



Figure 22 : Les symptômes de *Phyllocnistis citrella*

Plusieurs auteurs signalent que, la présence des chenilles de *P.citrella*, se présente au niveau des petits fruits immatures, leurs mines sont formées sur l'épiderme des fruits ou dans le calice. La présence de la mineuse favorise le développement et la dissémination d'une maladie bactérienne "chancre des citrus".

Des mesures de protection contre cette espèce ont été mises au point, et cela dépend en fonction des époques d'émission des nouvelles pousses qui sont les seules concernées par les attaques du ravageur. [68]

Les différentes lutttes qui ont été procuré sont exprimées ainsi :

10. La lutte chimique

La lutte chimique a été créé en raison de préserver l'équilibre établi entre les autres ravageurs et leurs auxiliaires. Les traitements chimiques contre la mineuse ne sont pas faciles à réaliser vu le mode de vie endophyte des larves et des nymphes, dans le fait ou cet insecte développe un nombre de générations élevé amenant un déséquilibre entre les stades larvaires.

Cette méthode est valable en pépinières et les jeunes plantations qui ne dépassent pas quatre ans, la faune auxiliaire est réduite ou absente, ainsi que la floraison et la production sont absentes. Tandis que les vergers productifs ont préconisé une lutte biologique par l'utilisation des parasitoïdes.

Dans le tableau ci-dessous, nous allons donner les principaux produits chimiques homologués en Algérie contre la mineuse. [69]

Tableau 7 : Les principaux produits chimiques qui sont utilisés en Algérie contre la *P.citrella* [69]

Insecticide Nom commercial	Matière active et concentration	Dose d'utilisation	Firme
ABAC	Abamectine 18g/l	40 ml/hl	Naranjax – Saphyto
ABACTIN 1,8	Abamectine 18g/l	50 ml/hl	Chimac – Agriphar
CASCADE	Flufenoxuron 100g/l	0,035 l/hl	Cyanamid Agro
CITROLE	Huile minerale 97%	2 l/hl	Agr Evo
CONSULT 100 EC	Hexaflumeron 100g/l	60 ml/hl	Dowelanco
MOSPILAN 20 SP	Acentamiprid 20%	20 – 30 g/hl 10 – 12,5 l/hl	Phone - Poulenc
OVI PRON	Huile de pétrole 100%	2,5 l/hl	Elf Atogri
ULTRACIDIN	Methidathion 400g/l	100 – 125 ml/hl	Vapco
VAPCOMIC	Abamectine 18g/l	50 – 70 ml/hl	Vapco
VERTIMEC	Abamectine 18g/l	25 ml/hl	Syngenta
ACEPLAN 20 SP	Acetamipride 20%	20 – 30g/hl	ACI/Rivale
AGRIMEC	Abamectine 18g/l	50ml/hl	Syngenta
CONFIDOR, SUPRA	Imidachlopride 70%	15g/ha	Bayer
RUSTILAN	Acetamipride 20%	100 – 125g/ha	SARL-Phytoplus
TINA	Abamectine 18g/l	50ml/hl	SOMEDIA-Quimica Key
VERLAN	Abamectine 18g/l	50ml/hl	SARL-Phytoplus
FUMIGAS	Aluminium phosphid 56% w/w	25 – 30ml/hl	SOMEDIA/Sharda international/Fumisapht
PROTEUS IIO OD	Thiachlopride + Deltamethrine 100 + 10g/l	0,6l/ha	Bayer-CROP Sciences
ROMECTIN	Abamectine 18g/l	50ml/hl	SOFAPRO/Rotamltd
OVI PRON	Huile de Pétrole 97%	1 l/hl	CEREXAGRI
AKOMYL 25	Methomyl 25g/l	100cc/ha	AGRICON
CETAN	Acetamipride 200g/l	20 – 30g/hl	SOMEDIA
CONFIDOR 70WG	Imidachlopride 700g/kg	150g/ha	Bayer
METRY	Abamectine 18g/l	50cc/hl	AGROSSED

11. La lutte culturale

Elle vise à réduire les risques d'infestation par des moyens préventifs appropriés, ce moyen de lutte a pour but de consolider l'émergence précoce de la première poussée de sève qui est la plus fructifère, afin d'assurer la production de l'année, et cela par un apport d'engrais azoté (**60 unités/ha**) et l'irrigation à partir du mois de Décembre. [69]

Cette poussée fuit en grande partie aux attaques de la mineuse. Il faut aussi tailler et supprimer tous les gourmands qui constituent un site important de prolifération, en collectant et détruisant les feuilles tombées, ainsi les stades hivernants dans les débris en utilisant un matériel sain et administré. [70]

L'élimination des pousses intermédiaires entre celles du printemps et de l'été ainsi la suppression des feuilles qui portent des mines. [71]

12. La lutte biologique classique dite lutte biologique par acclimatation

Cette méthode est basée sur l'introduction d'un auxiliaire originaire de la même zone géographique que le ravageur exotique qui a été inséré accidentellement dans une région nouvelle sans son cortège de parasites ou de prédateurs associés. [72]

13. La lutte biologique

Elle consiste à utiliser des prédateurs naturels dites ennemis naturels de cet insecte nuisible afin de limiter et réduire sa population, ou autrement dit de maintenir ce ravageur au-dessous du seuil de nuisibilité.

Les ennemis de la mineuse des agrumes sont illustrés dont le tableau ci-dessous :

Tableau 8 : illustration des différents ennemis de la mineuse des feuilles agrumes [73]

Familles	Espèces	Références
Elasmidae	<i>Elasmus sp</i>	FRIAS et DIEZ (1996) PERALES – GUTIERREZ et al (1996) et COSTA et al (1999).
Encyrtidae	<i>Ageniaspis sp</i>	AYOUB (1960), SMITH et HOY (1995), ARGOV et ROSSLER (1998).
	<i>Ageniaspis citricola</i>	SISCARO et MAZZEO (1997).
Eulophidae	<i>Semiela cher petiolatus</i>	NEAL et al (1995), NIA et al (1997) et BENAYADA (2002).
	<i>Cirrospilus quadristriatus</i>	BATRA et SANDHU (1983).
	<i>Cirrospilus vittatus</i>	LONGO et SISCARO (1997) et DOUMANDJI et al (1999).
	<i>Cirrospilus pictus</i>	GONZALEZ et al (1996), VERCHER et al (1997), MINEO et al (1998), DOUMENDJI et al (1997) et ABABSIA et al (1997).
	<i>Cirrospilus garduis</i>	GARRIJO (1996).
	<i>Cirrospilus sondanis</i>	GARRIJO (1996), GARRIJO et GARCIA (1994).
	<i>Cirrospilus diallus</i>	LIOTTA et al (1996).
	<i>Cirrospilus ingenuys</i>	ROSSLER et ARGOV (1997), LASALLE et al (1999).
	<i>Citrostichus phyllocnistoïdes</i>	LIN (1997), TZEKANN et KWEISHUI (1998), LIANDE et al (1999), ZHIXIN et YISHEN (1998).
	<i>Glasterocenus trifasciatus</i>	KNAPP et al (1995).
	<i>Teleopterus sp</i>	UJIYE et al (1996), MORAKOTE et UJIYE (1992)
	<i>Teleopterus excias</i>	LIOTTA et al (1996)
	<i>Sympiesis gregori</i>	VEROU (1996), VRBANEJA et al (2000) et BOUALEM (2001).
	<i>Sympiesis sandanis</i>	GARRIDO et BUSTO (1994).
	<i>Sympiesis striatipes</i>	UJIYE et ADACHI (1995).
	<i>Zaomomentedon brevipetiolatus</i>	MICHELAKIS (1997).
	<i>Tetrastichus sp</i>	HOY et NGUYEN (1994 a) et LEGASPI et al (1999).
	<i>Apotetrastichus sericothorax</i>	LIOTTA et al (1996).
	<i>Pnigalio sp</i>	UYGUN et al (1997), SISCARO et al (1997), LIOTTA et al (1997) et SAHRAOUI (1997).
	<i>Zagrammosoma multineatum</i>	PERALES-GUTIERREZ (1996), LARRA-GUERRA et al (1998) et LEGASPI et al (1999).
<i>Galeopsomyia fausta</i>	LASSALLE et PENA (1997), BRANCOPAIVA et al (1998) et COSTA et al (1999).	
<i>Galeopsomyia sp</i>	FRIAS et DIEZ (1996), RUIZCANCINO et al (1996).	
Braconidae	<i>Orcophanes sp</i>	KNAPP et al (1995) et PENA et al (1996).
	<i>Chrysocharis sp</i>	GARCIA (1996) et VERCHER et al (1997).
	<i>Chrysocharis pentheus</i>	VERDU (1996) et UJIYE et ADACHI (1995) et URBANEJA et al (1998).
Eurytomidae	<i>Eurytoma sp</i>	MAROKOTE et UJIYE (1992).

Parmi les prédateurs de la mineuse, nous citons :

- *Ancylopteryx Octopunctata* (Nevroptera Chrysopidae) : Les larves de cette espèce attaquent les œufs, les larves et les nymphes de la mineuse.
- (*Chrysopa boninensis*), (Nevroptera Chrysopidae) : Les larves de cette espèce se nourrissent de tous les stades de la mineuse. C'est-à-dire de tout le cycle.

Ces deux espèces sont polyphages, elles s'attaquent également à d'autres ravageurs des agrumes tels les **cochenilles**, les **pucerons**, les **acariens**, les **cicadelles**, les **thrips**, les **psylles** et les **mouches**. [74]

En Algérie, ils ont remarqué la présence de 3 parasitoïdes tels que (Hymenoptera, Eulophidae), de la mineuse des agrumes, les vergers d'agrumes renferment de nombreuses espèces mineuses susceptibles de servir d'hôtes alternatifs aux parasitoïdes de la *Phyllocnistis citrella*.

Deux nouveaux hôtes alternatifs ont ainsi été répertoriés pour les phyllocnistioïdes. Ces hôtes indigènes favorisent la survie et la multiplication de cet antagoniste exotique dont l'impact sur la mineuse croît d'année en années. [75]

Une meilleure connaissance des hôtes alternatifs de ces parasitoïdes permettait d'envisager une favorisation de leurs population grâce au maintien ou la multiplication de leurs plantes hôtes aux abords ou à l'intérieur des vergers.

De nombreuses espèces s'avèrent capables de se développer sur la mineuse des agrumes, leur spécialisation dépend souvent plus du mode de vie de leurs hôtes que de son appartenance taxonomique.

Il en est ainsi des complexes de parasitoïdes des larves mineuses de feuilles comme de ceux qui sont associés aux insectes Xylophages ou gallicoles. [75]

La *Citrostichus. phyllocnistoides* a été décrite et signalée comme parasitoïde de *Phyllocnistis citrella*, Les caractéristiques de cette espèce sont montrées dans la figure suivante :

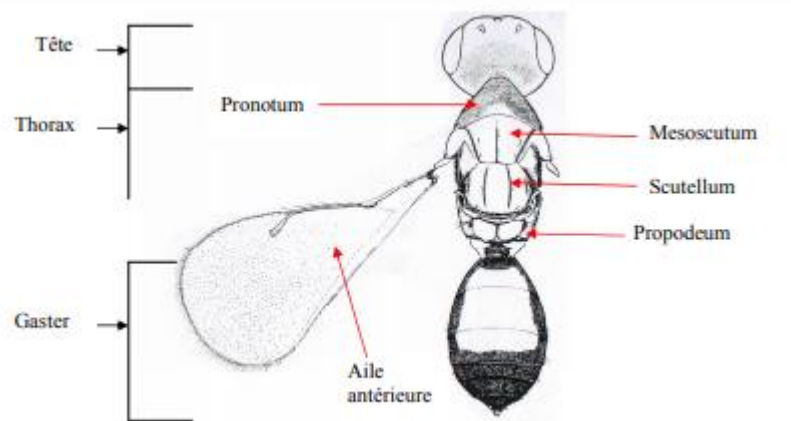


Figure 23: description morphologique de la *Citrostichus. Phyllocnistoides*

Les caractères intrinsèques de cette espèce se caractérisent par un thorax nettement aplati et un pétiole court mais distinct présentant de chaque côté une petite dent. Le gaster porte une large tache jaune pâle sur sa moitié antérieure.

▪ **Biologie de l'espèce *Citrostichus Phyllocnistoides***

C'est un ecto parasitoïde solitaire. Ce parasitoïde se nourrit et se développe sur le stade larvaire de la mineuse des feuilles agrumes, il parasite le second et troisième stade larvaire de la *Phyllocnistis citrella*. Il pose ces œufs à proximité sur son hôte qui est donc la *Phyllocnistis citrella*.

13.1. Distribution géographique

Elle est distribuée un peu partout dans le monde, on peut la trouver en Australie ; en Chine ; Région paléarctique, en Afrique et en Asie, et en Argentine. [76]

13.2. Hôtes

Trioxa absoluta (Hemiptère Triozidae) ; *Acalyptis minimella* ; *Stigmella* sp. (Lépidoptères Nepticulidae) ; *Phyllocnistis citrella* [76]

Elle a été recensée comme parasitoïdes de *P. citrella* dans la région de Mostaganem.

On peut trouver la liste des parasitoïdes ainsi que la liste des synonymes, celle des hôtes connus de ces espèces parmi ces hôtes on trouve la mineuse des feuilles agrumes, dont les références bibliographiques correspondantes sont disponibles sur la base de données « Universal Chalcidoid Database » du National History Museum de Londres. [77]

Après avoir présenté la mineuse des agrumes, et qui est d'ailleurs la principale espèce nuisible au genre citrus, nous avons utilisé comme un moyen de lutte biologique pour lutter et mettre fin à la vie de ce parasite des terres agrumicoles, ces moyens sont illustrés dans le chapitre suivant en montrant les matériels et méthodes qui ont été procurés au cours de notre étude.

Chapitre III : Matériels et méthodes

1. Introduction

Il est intéressant d'observer l'évolution de la mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* Stainton 1856 (*Lepidoptera* : *Gracillariidae*), ce ravageur a fait l'objet de nombreux travaux de recherches à travers le monde entier. Cette espèce envahissante est reconnue par sa vie endophyte, le taux d'infestation des feuilles agrumes chez ce dernier est assez important, sa pullulation peut entraîner une défoliation des arbres et causer un arrêt du développement des pousses, et peuvent alors réduire l'activité photosynthétique des feuilles infestées. Pour cela au cours de ces dernières années de nombreuses méthodes de lutte ont été mise au point.

Notre présent travail consiste à mettre en évidence une méthode de lutte biologique contre cet insecte par l'utilisation de la modélisation moléculaire en créant un bio-insecticide qui pourra mettre fin à la nuisance de cette dévastatrice. Cette technique permet de simuler le comportement des molécules responsable de cet insecte et voir leurs mouvements dans l'espace avec l'aide des logiciels qui vont être démontré dans ce chapitre.

Donc nous avons choisi une plante médicinale qui possède un pouvoir insecticide très important ainsi réputé pour son pouvoir antispasmodique, et antifongique et considéré comme un puissant antibactérien. En extirpant les constituants chimiques des huiles essentielles de cette plante qui est d'ailleurs **l'armoise blanche**, et nous les avons utilisés comme étant des inhibiteurs qui inhibent l'activité des molécules responsable de la *Phyllocnistis citrella*.

D'après notre étude de recherche on a pu constater que les biomolécules, les molécules en général, ne sont pas des objets fixes mais au contraire des objets en mouvements. Et donc on a cette méthode de modélisation moléculaire qu'on appelle la dynamique moléculaire, qui permet de simuler dans le temps l'évolution de biomolécules.

Dans ce chapitre, nous allons déterminer quel matériel a été utilisé, et quel sont les méthodes qui ont été pressuré.

2. Matériels

2.1. Généralités sur les enzymes

L'enzyme est une protéine, elle-même composée par des acides aminés reliés entre eux formant une chaîne dont l'objectif est d'être un catalyseur ou un accélérateur de réaction chimique. L'enzyme est une protéine qui est synthétisée par la cellule afin d'assurer des

Chapitre III : Matériels et méthodes

réactions soit intracellulaire, comme les enzymes de respiration, ou bien des réactions extracellulaires comme les enzymes digestives.

Pour le reconnaître, elles portent au niveau de leurs noms les suffixes ASE, nous pouvons donc considérer qu'une enzyme correspond à un outil et plus précisément un moyen de transport.

Donc ils existent six catégories d'enzymes qui sont volontairement associées à un moyen de transport ; cependant il existe dans chaque catégorie des centaines voire des milliers de sous catégories

Nous retrouvons donc des enzymes : oxydoréductases, des transférases, des hydrolases, des lyases, des isomérases, et enfin des ligases [web1]

Les enzymes ont pour mission d'accélérer plusieurs fois les réactions chimiques dans les organismes vivants.

Il existe un grand nombre d'enzymes spécifiques qui crée un rôle important dans les processus physiologiques (digestion, conduction nerveuse, synthèse d'hormones, etc.).

Toutes les protéines (sauf les protéines intrinsèquement non structurées) se replient dans une conformation dite native et c'est dans cette conformation qu'elles acquièrent leur activité biologique (leur pouvoir de catalyseur dans le cas des enzymes). [78]

Il se trouve une région très particulière dans l'enzyme, et qui s'appelle « le site actif », et il est généralement enseveli au sein de la structure repliée de l'enzyme. Ce site actif est l'endroit où va avoir lieu la catalyse, il est composé de deux site c'est-à-dire deux endroit :

Ce qu'on appelle site de fixation, qui va permettre aux substrats de se fixer sur l'enzyme par complémentarité tridimensionnelle ; et on a le site catalytique : il permet de catalyser une réaction chimique impliquant ces ligands et des groupement chimiques du site actif.

La figure suivante nous montre quand général lorsque le substrat vient se former, l'enzyme modifie légèrement sa configuration ; ce qui permettra aussi au site actif d'entrer en action.

Figure (24)

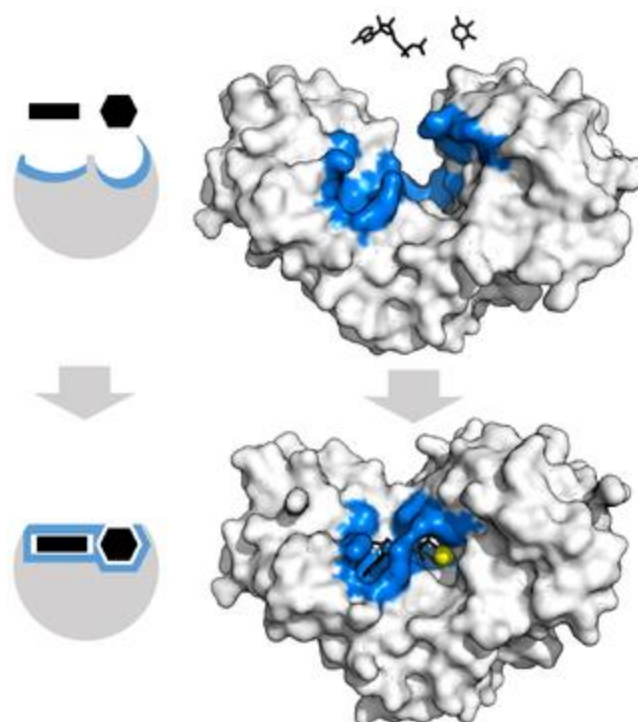


Figure 24 : site actif des enzymes-substrat

On peut citer divers types d'association entre une protéine et un ligand :

- Le complexe enzyme - substrat(s)
- Enzyme - régulateur (inhibiteur, activateur, coenzymes, ...)
- Antigène - anticorps
- Histones - ADN
- Récepteurs - hormones
- Hémoglobine - oxygène

Donc les enzymes ont une double spécificité, il y a une spécificité d'actions, car une enzyme va favoriser la formation d'un complexe « enzyme-substrat », et une réaction chimique.

Et elles ont aussi une spécificité substrat, c'est-à-dire qu'un seul substrat.

De même une augmentation de la température va rendre les enzymes inactives.

Les enzymes ont pour mission d'accélérer plusieurs fois les réactions chimiques dans les organismes vivants. Il existe un grand nombre d'enzymes spécifiques qui crée un rôle important dans les processus physiologiques (digestion, conduction nerveuse, synthèse d'hormones, etc.).

Les inhibiteurs enzymatiques sont des molécules qui diminuent l'activité d'une enzyme, exemple des bio insecticides qui sont des inhibiteurs enzymatiques.

Chapitre III : Matériels et méthodes

Les inhibiteurs sont généralement des molécules de petite taille qui lorsqu'elles se lient à une enzyme elles diminuent l'activité catalytique, elles peuvent empêcher la fixation du substrat en se liant à sa place dans le site actif ou bien encore provoquer une déformation plus ou moins étendue de la structure tridimensionnelle de l'enzyme ne permettant plus alors d'assurer la catalyse de la réaction.

L'inhibition peut être réversible ou irréversible. [79]

3. Les acides aminés

Ces acides aminés sont caractérisés par une chaîne latérale dont à la fois la nature chimique (groupement ionisable ou polarisable) et la structure (encombrement stérique) sont spécifiquement adaptés à la reconnaissance du (ou des) ligand(s).

Les acides aminés ont un motif structural commun. [80]

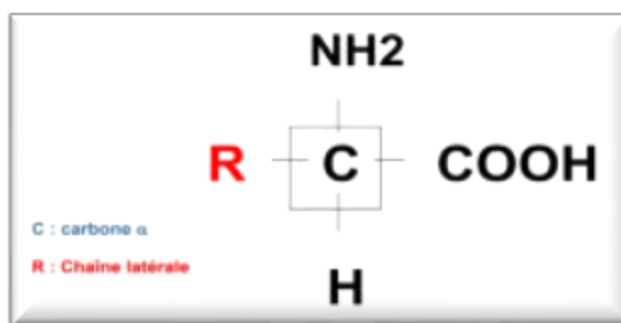


Figure 25 : motif structural des AA

Vingt acides sont fondamentaux sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 9 : les 20 acides fondamentaux

Aminoacide	Abréviations 3 lettres	Symbolisation 1 lettre
------------	------------------------	------------------------

Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Acide aspartique	Asp	D
Cystéine	Cys	C
Glutamine	Gln	Q
Acide glutamique	Glu	E
Glycocolle ou glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Méthionine	Met	M
Phénylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Sérine	Ser	S
Thréonine	Thr	T
Tryptophane	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V

Les vingt acides fondamentaux se regroupent en 4 classes, cette classification se fait selon la polarité de leurs chaînes latérales (à pH 7). [80]

Dans notre étude nous avons plébisciter quatre différentes enzymes qui sont généralement présente chez les lépidoptères :

4. Présentation des enzymes choisies

➤ Visualisation de l'Acétylcholinestérase ACHE : « 5YDJ »

L'ACHE est l'enzyme responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholine après la transmission de l'information par ce neurotransmetteur. Et si cette hydrolyse n'a pas lieu, l'augmentation d'acétylcholine entraîne une action répétitive des neurones aboutissant à la mort de l'insecte.

Au niveau moléculaire, l'ACHE présente deux sites, on a le site de estérasique contenant la triade catalytique, et le site anionique qui est le site de fixation de la choline.

Cette enzyme, a été découverte en 1938 par **David Nachmanson**. D'après son étude, il a réalisé un isolement et une purification de cette enzyme à partir des membranes excitables provenant de préparation nervas de différents mammifères, oiseaux, reptiles et insectes.

Chez l'insecte, en général, l'ACHE est une protéine complexe qui possède un site de liaison anionique, un site estérasique, une multitude de sites périphériques et de nombreux domaines hydrophobes.

Le site actif de l'enzyme contient le site anionique, c'est-à-dire il fixe les groupements cationiques du substrat (inhibiteurs), et il y a le site anionique qui contient des charges négatives, ceux qui proviennent du groupement COO⁻ des chaînes latérales et acides aminés

aspartique ou glutamique. Donc ce site anionique, il permet la fixation des charges positives portées par l'ammonium quaternaire de L'ACh.

L'ACHE est une sérine hydrolase essentielle pour réguler l'effet du neurotransmetteur excitateur dans le système nerveux centrale des insectes et des mammifères.



Figure 26: structure tridimensionnelle de l'enzyme brute d'Acétylcholinestérase non préparée de l'insecte *Phyllocnistis citrella* prise sur le logiciel MOE

Chez les insectes, l'ACHE est principalement localisée dans le SNC ou elle est présente sous une seule forme moléculaire, cette dernière est largement distribuée dans le cerveau de l'insecte, aussi dans les segments thoraciques et abdominaux, et les ganglions abdominaux. Les distributions préférentielles incluent des neurophiles du système nerveux centrale tels que les neurophiles protocérébral et trito-cérébral, le lobule et la moelle des lobes optiques, l'organisme central, l'intérieur des calices et les glomérules antennaires.

Cette enzyme est indispensable au bon fonctionnement des synapses cholinergiques, elle se trouve essentiellement dans l'influx nerveux arrivant dans la terminaison présynaptique entraîne une libération d'acétylcholine (ACh) qui se fixe sur des récepteurs placés sur la membrane postsynaptique. Cette fixation autorise l'ouverture des canaux sodium et potassium, laquelle entraîne la dépolarisation à l'origine de l'influx nerveux sur l'élément post-synaptique. [82].

Le rôle de l'Acétylcholinestérase est d'hydrolyser l'ACh très rapidement en acétate et en choline. Ce qui habilite la fermeture des canaux associés au récepteur du neurotransmetteur. Si l'action de cette enzyme est bloquée, la membrane post-synaptique de notre insecte se trouve continuellement excitée. Donc nos ligands choisis agissent en inhibant l'activité catalytique de

l'Ache. Ils se fixent en effet sur le site actif de l'enzyme, à la place de l'acétylcholine. L'accumulation de l'ACh dans la région synaptique provoque une hyperexcitation des liaisons cholinergiques causant finalement la mort de notre insecte *Phyllocnistis citrella*. Et c'est le but de notre étude.

➤ Visualisation de la chitinase « 5GQB »

Chez les insectes, les chitinases sont des enzymes principalement impliquées dans la dégradation de la chitine, la chitine est un biopolymère très répandu dans la nature qui est produit par les insectes en particulier, elle est le composant majeur de la cuticule qui instaure l'exosquelette chez les insectes. La chitine est aussi présente dans la matrice péritrophique, couche protectrice de l'intestin moyen de notre lépidoptère contre l'attaque de pathogènes ou de toxines. [83]

La chitine est un polymère linéaire composé de N-acétylglucosamines. La biosynthèse de ce polymère fait intercéder différents sucres (glucose, tréhalose) en UPD-N-acétylglucosamine.

Cette dernière est synthétisée par une enzyme très importante qui s'appelle donc, la chitine synthase.

L'enzyme chitinase est un processus crucial pour la croissance et le développement de l'insecte. Cette synthèse est le constituant majoritaire de la cuticule que l'insecte remplace régulièrement à travers le phénomène de mue, ce phénomène est donc le processus de production d'une nouvelle cuticule et de la perte de l'ancienne qui va permettre à l'insecte de grandir en taille. Ce qui permet aux insectes d'acquérir de nouveaux organes, et de changer de métamorphose. [83].

Les chitinases sont des glycosides hydrolases, qui assurent la rupture des liaisons β -1,4 glycosidiques qui lient les carbones C1 et C4 de deux résidus N-acétylglucosamine consécutifs. On distingue généralement deux catégories de chitinases : les endos et les exochitinases. Les premières, également nommés polys [1,4-(Nacétyl- β -D-glucosaminide)] glycanohydrolases (EC 3.2.1.14) hydrolysent les liaisons internes des microfibrilles de chitine pour libérer des fragments de chitobiose, chitotriose et chitotétraose composés respectivement de deux, trois ou quatre unités Nacétylglucosamine. Les secondes, nommées exo-chitinases ou β -N-acétylhexosaminidases (EC 3.2.1.52), participent à la dégradation complète des fragments de

chitine. Parmi ces exo-chitinases, les chitobiosidases libèrent des di-acétylchitobioses à partir des extrémités non-réductrices de la chitine, et les β -D-acétylglucosaminidases hydrolysent ces diacétylchitobioses en monomères de N-acétylglucosamine. [84]

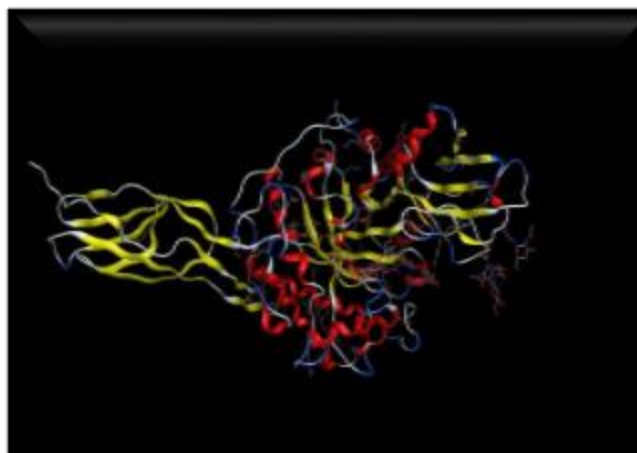


Figure 27 : Structure 3D de l'enzyme brut de chitinase non préparé de l'insecte prise sur logiciel MOE

La chitinase est une enzyme que l'on retrouve chez l'ensemble des organismes vivants qu'ils soient procaryotes, eucaryotes ou de type viral. Cette dernière a été regroupée en cinq classes qui constituent deux familles distinctes de glycosides hydrolases, en fonction de différents facteurs, parmi lesquels leur séquence N-terminale, leur localisation et leurs propriétés. Les chitinases appartenant à la famille 18 rassemblent plus de 180 enzymes présentes chez les eucaryotes, les procaryotes et les virus, et réparties au sein des classes III et V. La famille 19 regroupe plus de 130 composés essentiellement d'origine végétale et formant les classes I, II et IV.

Le rôle de la chitinase diffère en fonction des organismes qui les produisent. Elles peuvent conspirer aux processus de nutrition, de croissance ou bien de défense. Les chitinases sont également conjecturer dans certains mécanismes de pathogénicité, leurs rôles principaux est de défendre contre les agresseurs chimiques ou physiques, et participent aussi à la protection de l'insecte dans la nature. Ces enzymes jouent plusieurs rôles dont deux cas de figure ; structural, et fonctionnel, ces dernières forment une barrière physique entre l'organisme de l'insecte et son environnement. [84]

➤ **Visualisation de l'enzyme Farnesyl diphosphate synthase « 6B04 »**

La FPPS est une enzyme qui compte parmi les enzymes de la voie du mévalonate les mieux examinées. Elle est la première enzyme de la famille des prényl-transférases à courte chaîne à

avoir été assaini. Deux types distincts de FPPS ont été discernés jusqu'à présent, les FPPSs générant des produits trans et les FPPSs générant des produits cis.

Les FPPSs de type trans sont caractéristiques des eucaryotes et se distinguent par leur mécanisme catalytique dépendant de la présence de cations divalents (généralement Mg^{2+} ou Mn^{2+}), et consistant en la condensation de deux unités isopréniques d'IPP avec une unité de DMAPP, pour produire le GPP comme produit intermédiaire, et le E, E-FPP comme produit final. [85].

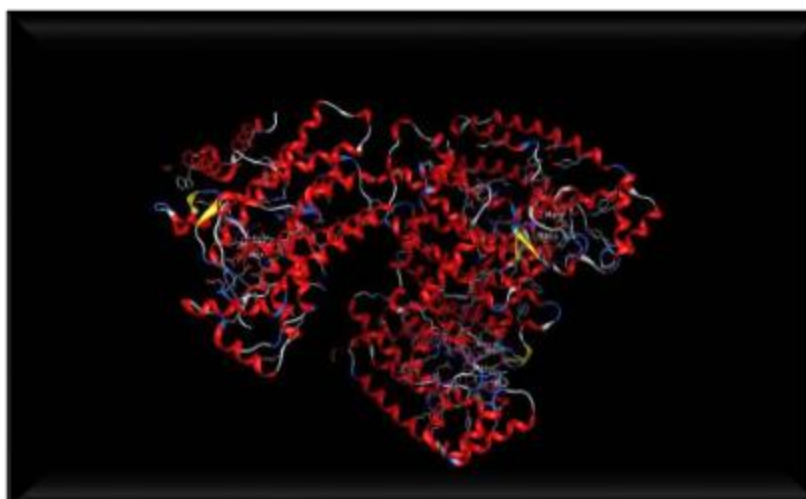


Figure 28: structure tridimensionnelle de l'enzyme de farnésyl diphosphate synthase brut non préparé des lépidoptères prise sur MOE

Chez les insectes, l'enzyme FPPS est la prényltransférase qui a été la mieux distinguée à ce jour. En effet chez les lépidoptères, la Farnésyl diphosphate synthase existe sous deux formes paralogue distinctes : la FPPS de type 1 et la FPPS de type 2.

La FPPS de type 1, est une enzyme qui s'avère structurellement distincte des FPPS d'autres organismes. Cette dernière pourrait être compromise dans la prénylation des protéines dans tous les tissus, quant à la FPPS de type 2, elle semble être accoutumée à la synthèse de formes homologues du FPP à branches éthyliques.

La farnésyl diphosphate synthase (FPPS) est une enzyme de la classe des (E) - prényltransférases à chaîne courte qui catalyse la condensation de deux molécules d'isopentényl diphosphate (IPP, C₅) avec du diphosphate diméthylallyl (DMAPP, C₅) pour générer le C₁₅ produit FPP.

Le rôle des farnésyl diphosphate synthase : La FPPS des eucaryotes active une réaction d'élongation de chaînes carbonées au cours de laquelle deux unités isopréniques d'IPP se lient

à l'isoprène allylique DMAPP. Cette réaction se produit selon un mécanisme séquentiel d'ionisation condensation-élimination, nommé condensation « head-to-tail ». [85]

Chez les insectes, le FPPS joue un rôle clé dans la biosynthèse de "l'hormone juvénile" morphogénétique et gonadotrope (JH). Les génomes des lépidoptères codent pour deux paralogues FPPS très distincts, dont l'un ("type II") est exprimé presque exclusivement dans les glandes productrices de JH, les corpora allata. Il a été supposé que ce paralogue présente des caractéristiques structurales qui permettent la liaison des précurseurs plus volumineux nécessaires à la biosynthèse des JH lépidoptères à ramification éthylique. [85]

➤ Visualisation de l'enzyme Pesticidal crystal protein « 4ARX »

Bacillus thuringiensis est une bactérie qui a été appliquée dans le monde entier en tant qu'insecticide biologique. Elle est qualifiée par la sécrétion des protéines insecticides Vips (Vegetative Insecticidal Proteins) au cours de la phase de croissance végétative.

. On avise 3 classes des protéines Vip dont on trouve : Vip1, Vip2 et Vip3.

Les VIP3, sont laborieuse contre les lépidoptères, alors que des toxines binaires Vip1 et Vip2 sont toxiques pour les coléoptères. La protéine Vip1 est le composant de fixation aux cellules intestinales, alors que Vip2 est une ADP-ribosyl-transférase qui cible l'actine des cellules en condamnant sa polymérisation. [86]

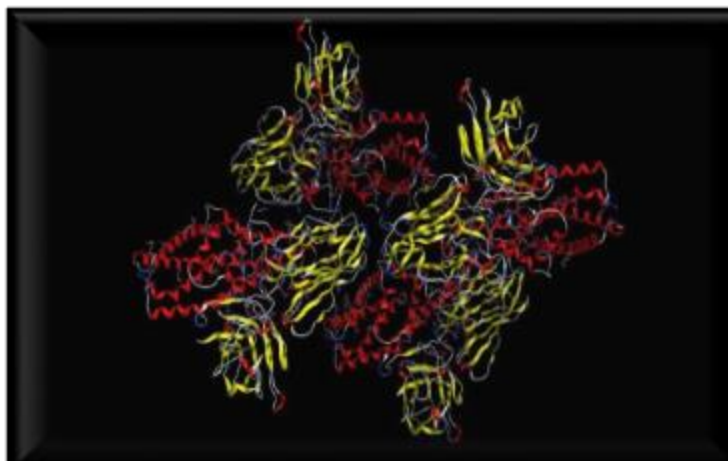


Figure 29: structure tridimensionnelle de la toxine pesticidal crystal protein brut non préparé prise sur le logiciel MOE

5. Présentation du matériel végétal

Dans notre étude nous avons procuré un matériel végétal dont nous avons choisi une plante aromatique et médicinale qui constitue une source importante de molécules bioactives, et qui

contient des substances naturelles dotées de propriétés biologiques puissantes. Et possède une activité antimicrobienne très importante.

La plante choisie est nommée l'armoise blanche dont son nom scientifique est : *Artemisia herba alba asso*, qui fait partie de la famille des *Astéracées*.

5.1. Généralités sur la famille des Astéracées

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, il se réfère à la forme en étoile de l'inflorescence.

La famille des Asteraceae est la plus étendue du groupe des dicotylédones. C'est la plus large famille de Spermatophytes mais également l'une des plus évoluées. Plusieurs plantes de cette famille sont exploitées pour leur valeur alimentaire par exemple (la camomille, la chicorée, la laitue, l'artichaut, de l'endive, du salsifis, de la chicorée, de l'estragon...), et aussi utilisées comme des plantes décoratives comme les asters, les dahlias ... etc. [87].

En effet, il a été administré que les fleurs et les feuilles de ces plantes, contiennent des propriétés antibactériennes, antifongiques, antiviraux, et anti-inflammatoires. C'est pour cela de nombreuses espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle. [87].

5.2. Description morphologique

Les Astéracées étant des plantes à ovules, elles sont classées dans le clade des Spermatophytes. Les Spermatophytes se divisent en deux sous-embranchements : les Gymnospermes (plantes à ovules nus) et les Angiospermes (plantes à ovules protégés dans l'ovaire et à graine protégée par un fruit, présence de la double fécondation). Les Angiospermes se divisent en deux classes : les Monocotylédones (plantes ayant un embryon à un seul cotylédon qui est une feuille embryonnaire) et les Dicotylédones (plantes ayant un embryon à deux cotylédons). [88]

5.3. Systématique

La famille des Astéracées est classée de la façon suivante : [88]

→ Plantae

→ Embryophytes (Plantes terrestres)

→ Trachéophytes (Plantes à vaisseaux)

→ Embranchement des Spermatophytes (Plantes à graines)

→ Sous-embranchement des Angiospermes (Plantes à fleurs)

→ Clade des Dicotylédones vraies

- Clade des Dicotylédones vraies évoluées
 - Clade des Astéridées
 - Clade des Campanulidées
 - Ordre des Astérales
 - Famille des Astéracées

6. Distribution géographique des Astéraceae

a) Dans le monde

Les plantes de la famille des Asteraceae se rencontrent sur toute la surface de la planète terre. C'est une famille cosmopolite qui se trouve un peu partout dans le monde avec une diversification plus importante au niveau des régions sèches, comme dans le bassin méditerranéen, l'Afrique du Nord et du Sud, le Mexique et l'Amérique du Sud ainsi qu'au sud-ouest des Etats-Unis. [88]

La distribution géographique des Asteraceae montre une structuration cohérente avec sa phylogénie. Figure (30)



Figure 30 : Répartition géographique des Astéracées dans le monde

b) Présentation de notre plante

Le bassin méditerranéen se caractérise par une exceptionnelle biodiversité, et une richesse élevée des végétaux. Parmi ces végétaux on aperçoit que l'existence de l'armoise blanche est très répandue dans ce dernier.

L'Artemisia herba alba asso (Armoise blanche), est une plante aromatique médicinale caractérisée par une bonne valeur fourragère très appréciée par le bétail, et aussi par une composition en huiles essentielles ayant des propriétés antiseptiques, vermifuges et antispasmodiques. Elle est très utilisée dans la médecine traditionnelle et dans l'alimentation animale.

Elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent. [89]

c) Origine et répartition géographique de l'armoise blanche en Algérie

L'Armoise blanche est une plante spontanée, vivace et hermaphrodite, Elle est très commune en Afrique du Nord et du Sud et au Moyen-Orient.

En Algérie, l'*Artemisia herba alba* asso couvre près de six millions d'hectares dans les steppes, elle affectionne les climats secs et chauds et forme des peuplements importants dans les zones désertiques. Elle est très large sur les hauts plateaux mais rare au Sahara septentrional. Elle se présente sous forme de buissons blancs, laineux et espacés.

Ces origines viennent du nom de guerre des armoises, son nom provient de celui de la déesse grecque de la chasse Artémis. Le nom *herba alba* signifie herbe blanche (Eloukili,2013).

Plusieurs noms ont été crédités à l'armoise blanche tels que le thym des steppes, absinthe du désert. En Afrique du nord et en moyen orient, on l'appelle communément « Shih » ou "Chih", ou encore appelé *semen-contra* de barbarie.

d) Description botanique

L'Artemisia herba alba asso est composée de : Tiges, feuilles, fleurs. C'est un arbuste nain vivace.

- **Tige** : ou partie ligneuse, ramifiée de 30 à 50 centimètres de long, très feuillée avec une couche épaisse. la touffe des tiges est plus importante selon la pluviométrie.
- **Feuilles** : elles sont courtes, alternées, très divisées, laineuses, blanches, pubescentes et pennatifides. Elles diminuent de taille au fur et à mesure que les rameaux s'allongent.
- **Fleurs** : elles sont groupées en grappes, à capitules très petites (3/1.5mm) et ovoïdes. L'involucre est à bractées imbriquées, le réceptacle floral est nu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites (11). Sa formule florale qui correspond à cette plante est : $5S+5P+5E+2C$. [90]

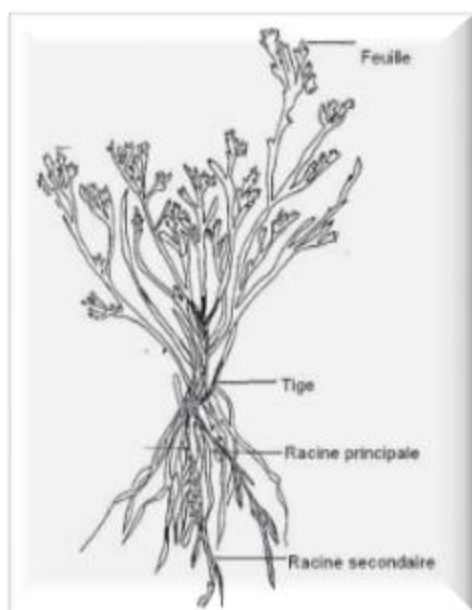


Figure 31: une image qui représente la morphologie générale de *l'Artemisia herba alba asso*

7. Systématique et classification

- **Embranchement :** Phanérogames.
- **Sous-embranchement :** Angiospermes.
- **Classe :** Dicotylédones gamopétales.
- **Sous-classe :** Gamopétale Epigynes Isostémones.
- **Ordre :** Astérales.
- **Famille :** Syntherées ou composées.
- **Sous-famille :** Tubuliflores.
- **Tribu :** Anthémidées.
- **Genre** Artemisia.
- **Espèce :** *Artemisia herba alba asso* (chih).

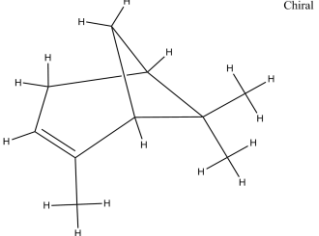
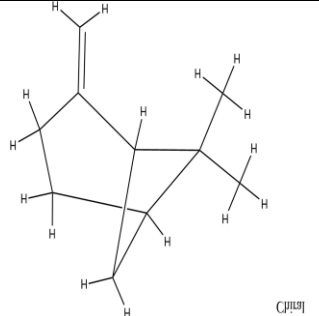
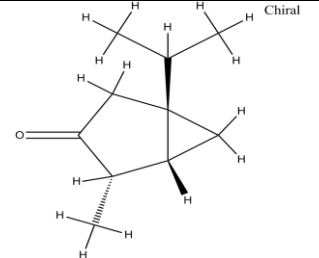
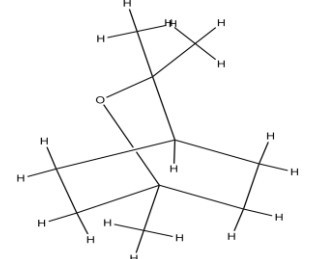
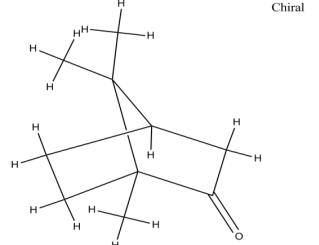
7.1. Composition chimique des huiles essentielles de *l'Artemisia herba alba asso*

L'Artemisia herba alba asso est une plante très riche en métabolites secondaires, qui offre des capacités bénéfiques en terme médicinale. Parmi ces métabolites, on trouve les huiles essentielles dont elles sont diversifiées qualitativement et quantitativement. Les principaux constituants chimiques de *l'Artemisia herba alba asso* sont : alpha-pinène (0.1%), beta-pinène (0.2%), beta-thujone (41.2%), camphène (3.2%), camphre (20.2%), 1-8 Cinéole (3.7%), gamma-terpinène (0.2%), myrcène (0.5%), p-cymène (0.8%), terpinène-4-ol (0.2%),

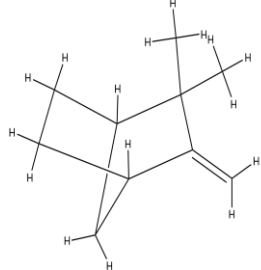
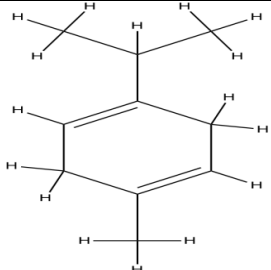
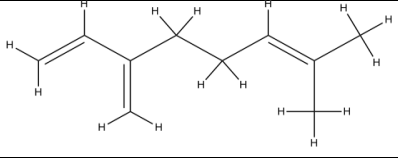
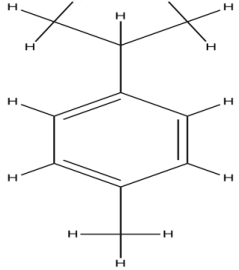
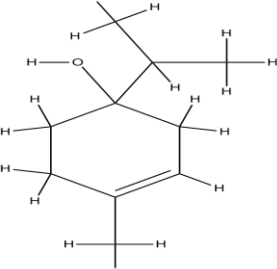
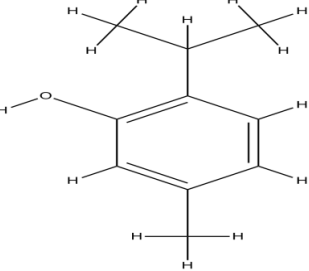
Chapitre III : Matériels et méthodes

thymol (0.1%). Le pourcentage des variations de ces composées chimiques varie selon la région ou elle se trouve l'armoise.[91] Voir le tableau suivant :

Tableau 10 : Les onze principaux constituants chimiques de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba asso*

Constituants de la plante :	Rendement en huiles essentielles (%) :	Structure chimique des composés
Alpha-pinène	0.1%	
Beta-pinène	0.2%	
Beta-thujone	41.2%	
1.8-Cinéole	3.7%	
Camphre	20.2%	

Chapitre III : Matériels et méthodes

Camphène	3.2%	 <chem>C1=CC2(C)CC1(C)C2</chem>
Gamma-terpinène	0.2%	 <chem>C1=CC=C(C=C1)C2=CC=CC2</chem>
Myrcène	0.5%	 <chem>C=CC(=C)CC=C</chem>
p-cymène	0.8%	 <chem>CC1=CC=C(C=C1)C=C</chem>
Terpiène-4-Ol	0.2%	 <chem>CC1=CC=C(C=C1)C(O)C</chem>
Thymol	0.1%	 <chem>CC1=CC=C(C=C1)C(O)C</chem>

Notre travail se repose sur l'étude de l'inhibition de ces quatre enzymes par le principe actif de *l'Artemisia herba alba asso*. Pour cela nous avons entamé une approche informatique pour explorer les inhibitions à base de plante comme bio-insecticide.

8. Présentation du matériel informatique

Le but de notre étude, est de trouver de nouvelles molécules inhibitrices ou autrement dit LIGANDS, afin d'inhiber nos quatre enzymes qui sont distillées par la mineuse *Phyllocnistis citrella* qui diatribe les feuilles agrumes.

Ces molécules sont issues des huiles essentielles de notre plante aromatique qui est de la famille des Astéracées, elles favorisent la formation des bio-insecticides.

De ce fait, nous avons utilisé les matériaux suivant au niveau du laboratoire des substances naturelles et bioactives « LASNABIO » n°44 universités d'Abou Bekr Belkaid.

Notre travail a été réalisé sur un ordinateur portable « Laptop », CPU : Intel Core i3, avec une mémoire RAM de : 4 GO. Les logiciels dont nous avons adopté dans notre étude sont installés sous le système d'exploitation Microsoft Windows version 7.

➤ **Banques de données**

Nous avons procuré deux sites web. Le premier s'appelle RCSB, son utilité est de télécharger les enzymes choisies dans notre étude sous format PDB, et le deuxième vient sous le nom de PubChem, il sert à télécharger les ligands sous forme de structure SDF 2D. Ces deux sites sont nécessaires dans notre étude.

➤ **RCSB**

La RCSB (Research collaboratory for structural Bionformatics), et aussi nommé sous le nom de PDB (Protein Data Bank), Cette ressource est alimentée par les informations d'archive de la banque de données sur les protéines sur les formes 3D des protéines, des acides nucléiques et des assemblages complexes qui facilite la tâche aux étudiants et aux chercheurs à mieux comprendre toute la physiologie de la biomédecine et de l'agriculture de la synthèse des protéines à la santé et aux maladies.

Le PDB-RCSB s'appuie sur les données en créant des outils et des ressources pour la recherche et l'enseignement en biologie moléculaire, en biologie structurale, en biologie computationnelle, en écologie, et au-delà. **Figure (32) [WEB 2]**



Figure 32 : La banque de données RCSB.PDB

➤ PubChem

PubChem est une base de données ouverte sur la chimie des National Institutes of Health (NIH). « Ouvrir » signifie que nous pouvons mettre nos données scientifiques dans PubChem et que d'autres peuvent les utiliser, c'est une ressource d'information chimique clé qui est accessible aux scientifiques, étudiants et aux grands auteurs scientifiques. Ce dernier est un service programmatique qui fournit des données à plusieurs utilisateurs dans le monde entier.

A travers ce site, nous ramassons des informations sur les structures chimiques des ligands, en la téléchargeant sous forme de SDF STRUCTURE 2D, en notant les propriétés chimiques et physiques, les activités biologiques, la formule moléculaire, le poids moléculaire, les identifiants, et les données de toxicité. [Web 3] Figure (33)

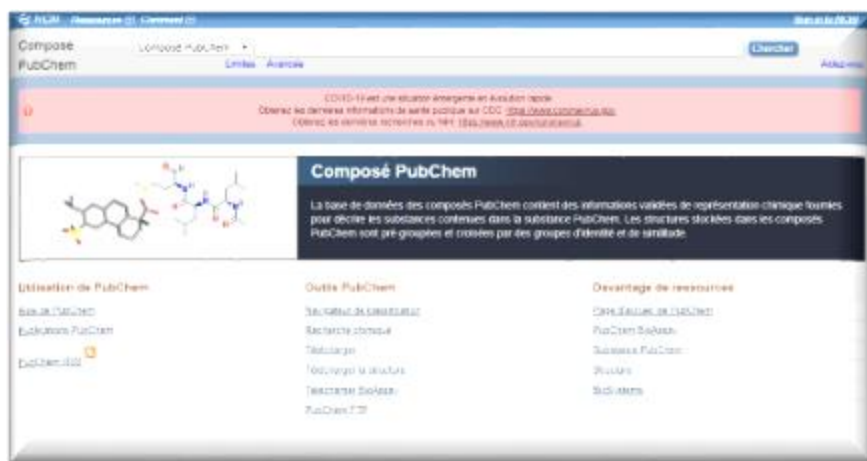


Figure 33 : La base de données de PubChem

Les logiciels qui ont été procuré dans notre étude sont les suivants :

➤ ChemDraw version : 12.0.2

Ce logiciel est un éditeur moléculaire utilisé dans les laboratoires, il permet de dessiner la molécule organique qui a été téléchargée à partir de la base de données de PubChem sous forme de structure SDF 2D, en la transformant sous forme de fichier MOL. [Web 4] **Figure (34)**

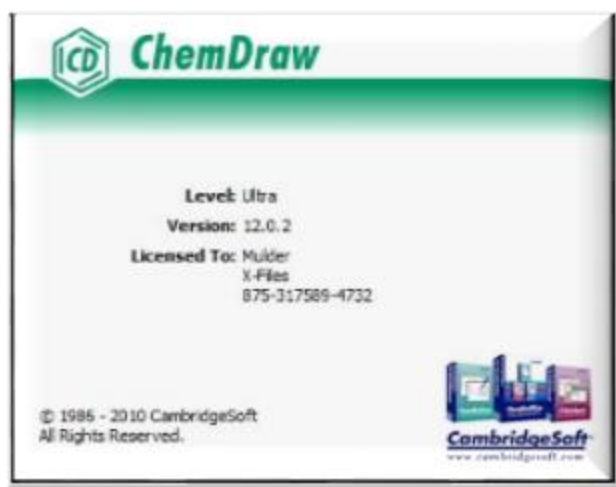


Figure 34 : logiciel ChemDraw version 12.0.2

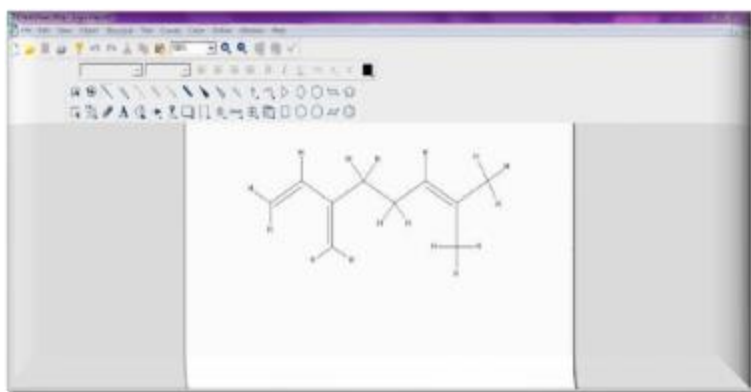


Figure 35: ChemDraw ultra. Mulder, X-Files875-317589-4732

➤ HyperChem

HyperChem professionnel version 8.0.10, est un logiciel, un outil qui permet de réaliser une modélisation moléculaire sophistiqué connu pour sa qualité, sa flexibilité et sa facilité d'utilisation. Unissant visualisation et animation tridimensionnelle avec calculs chimiques, mécanique moléculaire et dynamique moléculaire. Il est utilisé pour l'optimisation géométrique des inhibiteurs selon la méthode semi-empirique AM1. [Web 5] **Figure (36)**.

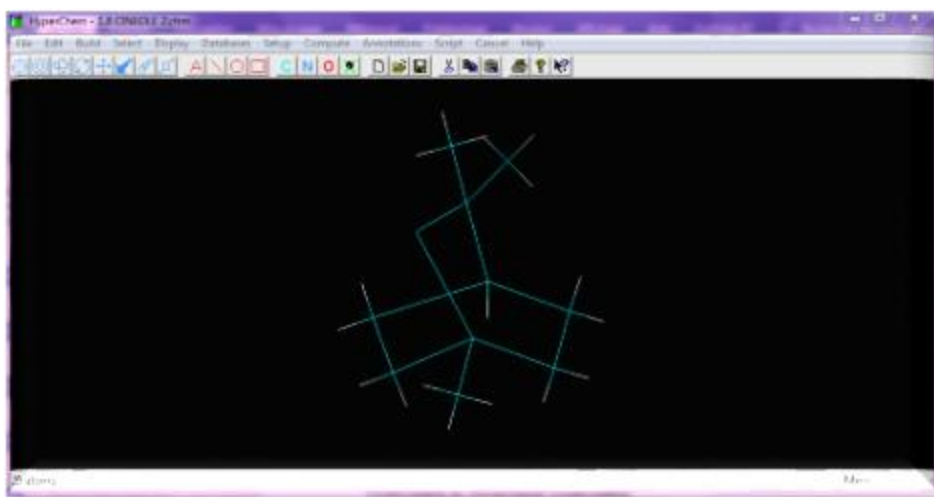


Figure 36 : Logiciel HyperChem version 8.0.10

9. Molecular operating environment « MOE »

Le logiciel MOE est une plateforme, un programme de modélisation moléculaire spécialement conçu pour gérer de grandes molécules biologiques. Il est conçu aussi pour utiliser plusieurs champs de force différents, et peut également être utilisé pour configurer les fichiers d'entrée pour la mécanique moléculaire et les calculs d'ancrage de tous les LIGANDS, il permet de modéliser les protéines et les ligands, et de les dessiner, les minimiser afin d'obtenir de meilleures conformations. Et il accorde aussi le Docking de plusieurs molécules qui sont regroupés dans une base de données à l'intérieur du site actif d'une enzyme. C'est la modélisation et simulations moléculaires, il est utilisé par les chimistes informaticiens, pharmaciens, biologistes et aussi par des médecins... [92] **Figure (37)**

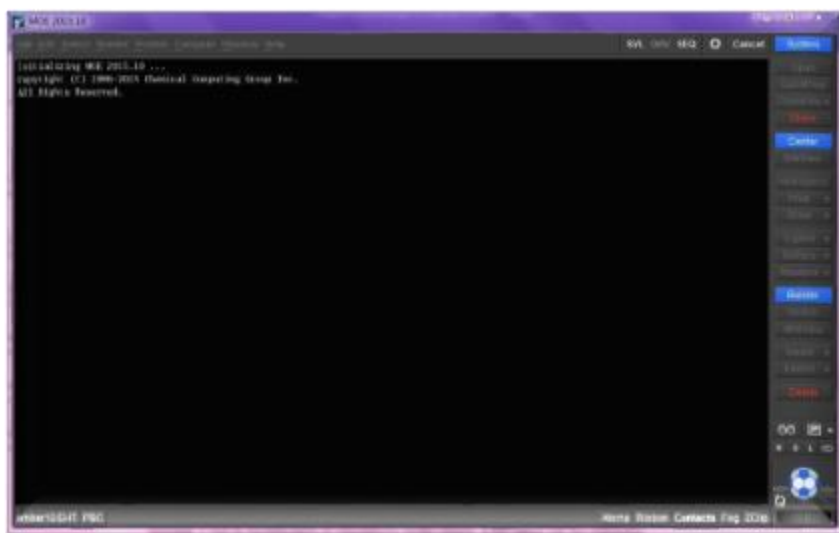


Figure 37 : Le Molecular Operating Environment MOE.

Et en final, nous avons évalué notre étude avec un programme de modélisation moléculaire de protéines qui s'appelle :

a) Le serveur IMODS

Ce serveur est un outil de simulation de dynamique moléculaire rapide convivial et efficace, qui peut être utilisé efficacement pour étudier la dynamique structurale des complexes protéiques. Ce serveur fournit les valeurs de déformabilité, facteur B (profils de mobilité), valeurs propres, variance, carte de covariance et élastique réseau. Il est facile pour déterminer et mesurer la flexibilité des protéines. [93]



Figure 38 : image qui présente le serveur IMODS

Ensuite, Nous allons parler des méthodes :

10. Méthodologie de travail

Notre étude porte un intérêt biologique. L'objectif de ce présent travail est l'étude de la modélisation moléculaire afin de lutter contre l'insecte *Phyllocnistis citrella* qui provient de la famille des Gracillariidae, et de créer un insecticide biologique, ou autrement dit bio-insecticide.

Une évolution informatique de divers programmes de modélisation des protéines a eu lieu dans notre travail.

Notre travail consiste à établir une relation structure – activité des principes actifs d'*Artemisia herba alba asso*, c'est pour cela nous avons administré la méthode de simulation moléculaire dont on l'appelle « la dynamique moléculaire ».

Nous allons parler des méthodes appliquées dans notre étude :

11. La modélisation moléculaire

Elle se fait grâce à des modèles moléculaires, on a de différent type de molécules mais une norme internationale, cette méthode relie les atomes par des bâtonnets. Son principe se base sur deux phases différentes : La 1^{ère} est la mécanique moléculaire, la 2^{ème} est le Docking moléculaire. Cette méthode du Docking en général elle peut prendre du temps, comme elle peut se faire dans un laps de temps minime c'est-à-dire très court.

12. La mécanique moléculaire MM

La mécanique moléculaire a pour but d'annoncer l'énergie associée à une disposition donnée d'une molécule. C'est une méthode pragmatique qui s'appuie sur l'expérience mathématique de divers paramètres de potentiels. Les protéines sont formées de centaines ou de milliers d'atomes et les seules méthodes de calculs pour des systèmes de cette taille sont les calculs de mécanique moléculaire. [Web 6].

13. Docking moléculaire

Dans notre travail, nous s'intéressant uniquement sur le Docking « inhibiteur-enzyme ». Ce dernier consiste à trouver la meilleure position pour le ligand dans le site de liaison d'un récepteur, et qui est donc la protéine de façon à optimiser et d'évaluer les interactions ligand-enzyme.

Le Docking moléculaire se fait en deux étapes fondamentales :

Dans un premier temps, on a le Docking, ce dernier permet de prédire la structure 3D entre deux molécules interagissant, et de prophétiser les types de liaisons entre ligand et le récepteur.

Dans un deuxième temps, on a le « Scoring », il permet de calculer l'énergie d'interaction ligand-enzyme. Et il consiste aussi à calculer la constante de dissociation ou de stabilité du complexe formé « ligand-enzyme », et de choisir le meilleur candidat qui est donc le ligand, qui effectue les interactions les plus fortes avec l'enzyme cible. [94]

Le Docking moléculaire, permet aujourd'hui de déterminer la structure des protéines, et la cristallographie par rayon X. [94]

Le but de cette opération, est de caractériser le mode des interactions du complexe ligand-enzyme formé, et d'obtenir un complexe plus stable et avec un meilleur score. Ce travail a été réalisé sur le logiciel MOE.

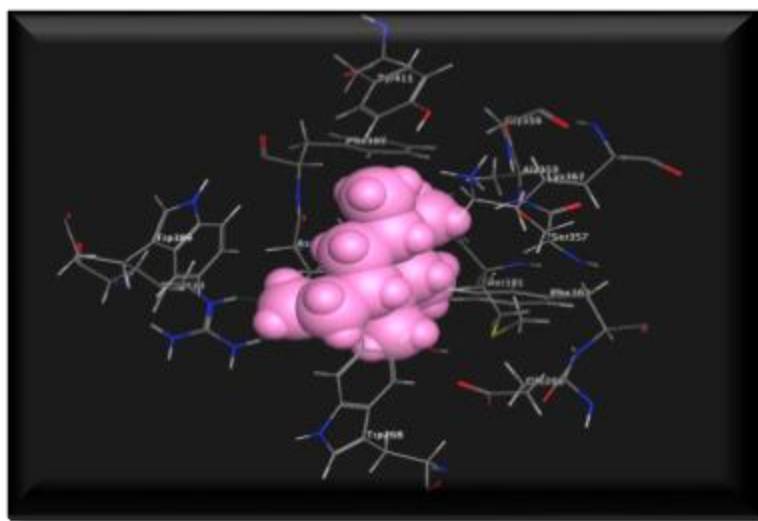


Figure 39 : Docking inhibiteur-protéine.

➤ Le scoring

Le scoring est une fonction utilisée pour prédire approximativement la liaison par affinité entre deux molécules après qu'ils ont été amarré [94]

Le scoring, habilite de façon à classer les premières poses de chaque ligand inhibiteur afin d'ajuster un classement final des molécules les plus prometteuses.

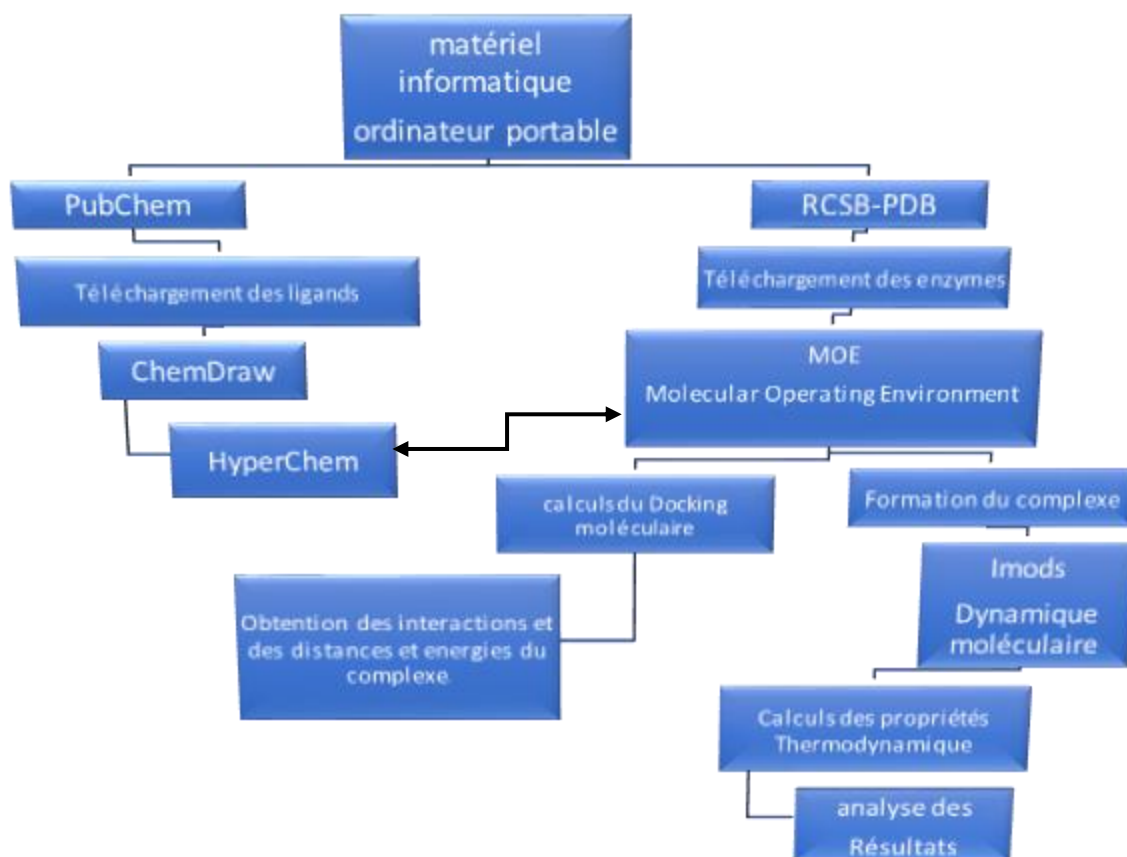
14. La dynamique moléculaire

La dynamique moléculaire est comme son nom l'indique, une méthode qui approuve une simulation et l'évolution temporelle (dynamique) d'un système moléculaire. Elle étudie les interactions entre deux molécules, la première peut être un médicament comme dans le cas de notre étude il s'agit d'un bio-insecticide, et la deuxième sa cible thérapeutique, et qui est donc l'enzyme de note insecte lépidoptère. Donc on va éprouver l'interaction LIGAND-PROTEINE.

Chapitre III : Matériels et méthodes

C'est la raison pour laquelle la dynamique moléculaire est très largement utilisée dans l'industrie pharmaceutique pour développer de nouveaux médicaments. Cette opération est réalisée par le serveur en ligne dont son appellation est : iMODS (<http://imods.chaconlab.org/>). [Web 7].

L'organigramme ci-dessus nous illustre les démarches que nous avons suivies lors de la préparation du meilleur complexe INHIBITEUR-ENZYME, avec nos quatre différents enzymes de la mineuse *Phyllocnistis Citrella*.



➤ Protocole suivi lors de notre étude de modélisation moléculaire

Dans ce chapitre nous avons présenté tous les matériels qui ont été procurés lors de notre étude, avec les méthodes utilisées pour aboutir à des résultats qu'on va les présenter dans le chapitre qui suit.

Chapitre IV

Résultats et Discussion

Notre présent travail se comporte sur l'étude des interactions entre nos quatre enzymes de la mineuse des agrumes, *Phyllocnistis citrella* Stainton 1856, (Gracillariidae), Avec les onze inhibiteurs issus de l'armoise blanche d'où son nom scientifique est *Artemisia herba alba* asso, qui provient de la famille des Astéracées.

Dans ce chapitre, nous avons englobé les résultats obtenus à partir du Docking moléculaire et la dynamique moléculaire. Et par suite nous avons discuté en expliquant ces résultats qui ont été effectué.

Résultats

1. Préparation des enzymes

La préparation de nos quatre enzymes, a été effectué à partir de la banque des données « **Protein Data Bank** », en téléchargeant leurs structures sous format PDB.

On a pu télécharger quatre différents enzymes, dont leurs code PDB vient comme suit :

- **5YDJ** : qui est l'Acétylcholinestérase, une protéine qui se trouve dans le système nerveux centrale de l'insecte.
- **4ARX** : qui est Pesticidal crytal protein., une toxine spécifique aux lépidoptères, qui se trouve au niveau du tube digestif des insectes.
- **5GQB** : qui est la Chitinase, une protéine responsable de la croissance et le développement de l'insecte.
- **6B04** : qui est la Farnesyl Diphosphate synthase type 2., une protéine qui est responsable de l'état juvénile JH de l'insecte.

En définitive, nous estimons que la structure d'une protéine ayant une résolution entre 1,5 – 2,8Å, peut être classée parmi les meilleures résolutions retenues dans notre étude.

Pour cela, nous avons téléchargé les quatre enzymes sous 4 codes d'accès différents, dont leurs résolutions varient entre 1,8 et 3,04 Å à partir de la banque de données *Protein Data Bank*.

Ceci dit, les tableaux suivants illustrent bien nos propos :

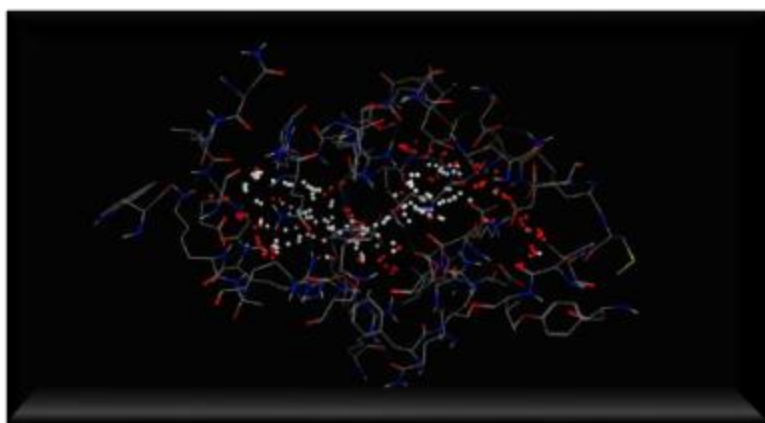


Figure 40: structure 3D de Farnésyl diphosphate synthase de Type 2 préparé sur MOE

Tableau 11 : Propriétés cristallographiques de la protéine 6B04

Protéine	Farnésyl diphosphate synthase
Classification	TRANSFERASE / INHIBITEUR DE TRANSFÉRASE
Méthode	DIFFRACTION AUX RAYONS X
Inhibiteur de Co-cristallisation	Acide [2- (1-méthylpyridin-2-yl) -1-phosphono-éthyl] phosphorique $C_8H_{14}NO_6P_2$
Polymère	1
Chaines	A, B, C
Type de chaines	Polypeptide (L)
Longueur de séquence	341 Résidus
Résolution (Å)	1,83 Å

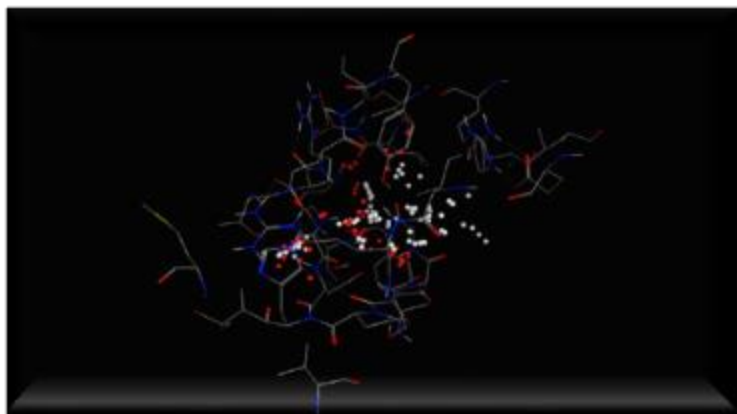


Figure 41 : structure 3D de l'enzyme Pesticidal crystal protein préparé sur MOE

Tableau 12 : propriétés cristallographiques de la protéine 4ARX

Protéine	PESTICIDAL CRYSTAL PROTEIN CRY1AC
Classification	TOXIN
Méthode	DIFFRACTION AUX RAYONS X
Inhibiteur de Co-cristallisation	1,3-DIAMINOPROPANE C ₃ H ₁₀ N ₂
Polymère	1
Chaines	A, B, C, D
Type de chaines	Polypeptide (L)
Longueur de séquence	579 Résidus
Résolution (Å)	2,35 Å

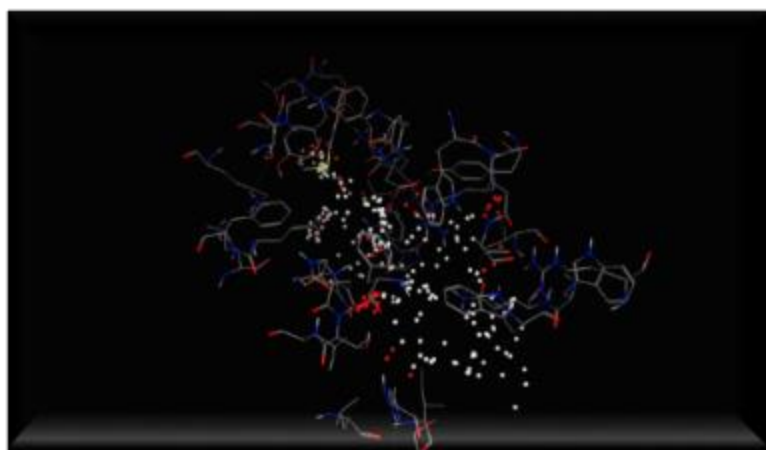


Figure 42: structure 3D de l'enzyme chitinase préparé sur MOE

Tableau 13 : propriétés cristallographiques de la protéine 5GQB

Protéine	Chitinase
Classification	HYDROLASE
Méthode	DIFFRACTION AUX RAYONS X
Inhibiteur de Co-cristallisation	D-GLUCOSAMINE C ₆ H ₁₃ NO ₅
Polymère	1
Chaines	Une
Type de chaines	Polypeptide (L)
Longueur de séquence	553 Résidus
Résolution (Å)	2,70 Å

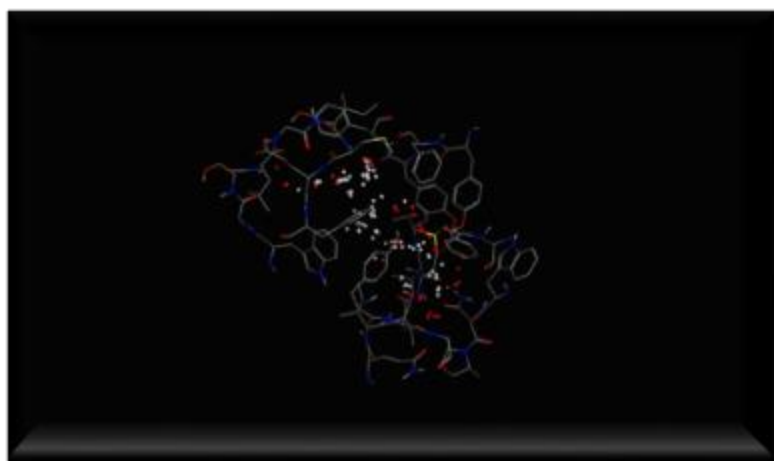


Figure 43 : structure 3D de l'Acétylcholinestérase préparé sur MOE

Tableau 14 : propriétés cristallographiques de la protéine 5YDJ

Protéine	Acétylcholinestérase
Classification	HYDROLASE
Méthode	DIFFRACTION AUX RAYONS X
Inhibiteur de Co-cristallisation	N-ACÉTYL-D-GLUCOSAMINE C ₈ H ₁₅ NO ₆
Polymère	1
Chaines	UN B
Type de chaines	Polypeptide (L)
Longueur de séquence	737 Résidus
Résolution (Å)	3,04 Å

La préparation de ces enzymes se fait en cinq étapes :

- On importe l'enzyme brut dans le Logiciel **Molecular Operating environment « MOE »**.
- On éradique les chaînes des acides aminés en gardant une seule chaîne avec ligand de Co-Cristallisation, en éliminant les molécules d'eau.
- On écarte les molécules d'hydrogènes.
- On sépare les atomes de l'enzyme afin de déterminer le site actif de la protéine.
- Et en dernier, nous avons employé le module du « Site Finder », afin de détecter la cavité enzymatique de la protéine, et de distinguer le site actif le plus volumineux en AA, et le plus propice pour les interactions.

2. Préparation des inhibiteurs « Ligands »

Nous avons réussi à se faire accorder les structures de nos 11 ligands à partir de la banque de données « PubChem » sous forme de structure 2D.

Dans notre étude, la préparation des onze ligands a été réalisée sur deux logiciels :

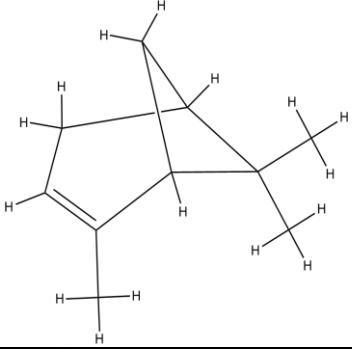
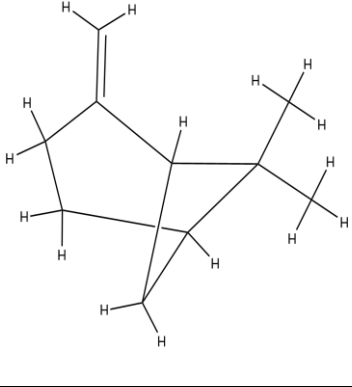
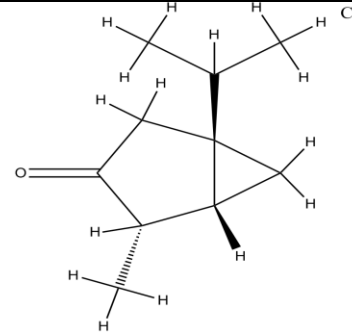
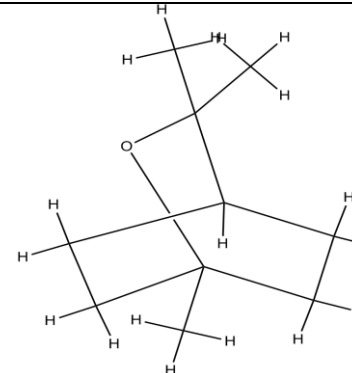
Le premier logiciel est donc ChemDraw Version 12.0.2, nous avons esquissé nos 11 structures de ligands sur ce dernier, en l'enregistrant sous forme de fichier « CHM ».

Après cela, nous avons procuré le deuxième logiciel HyperChem Version 8.0.10, qui sert à réaliser l'optimisation géométrique de nos onze inhibiteurs dont nous les avons sauvegardés sous forme de fichier « mol ».

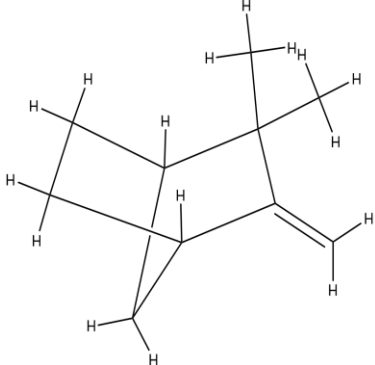
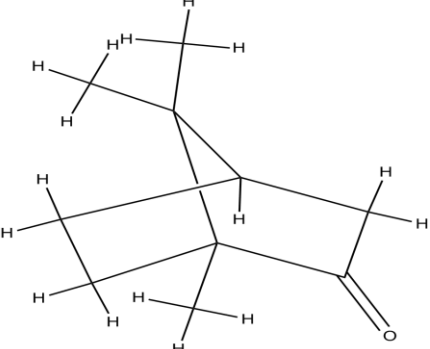
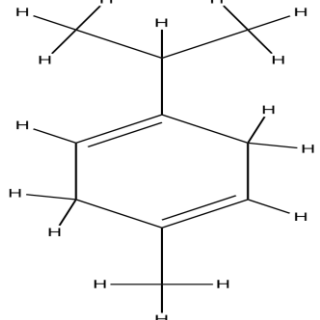
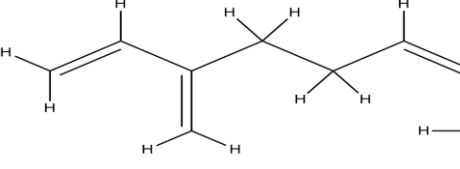
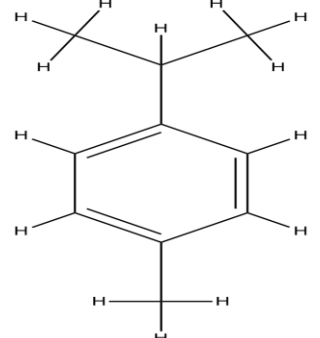
Chapitre IV : Résultats et discussion

Nous avons assemblé les structures chimiques de nos onze inhibiteurs issus de *l'Artemisia herba alba asso* dans le tableau ci-dessous :

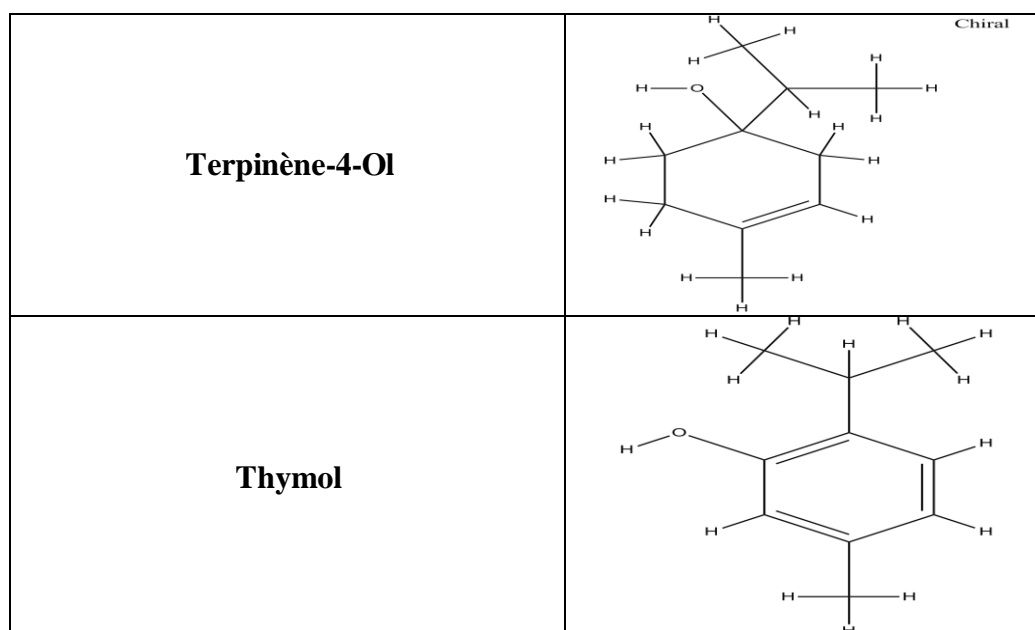
Tableau 15: structures dimensionnelles des composés chimiques issus de l'armoise blanche

Composés chimiques « Ligands » :	Structure 2D :
Alpha-Pinène	 <p>Chiral</p>
Beta-Pinène	 <p>C₁₀H₁₆</p>
Beta-Thujone	 <p>Chiral</p>
1.8-Cinéole	

Chapitre IV : Résultats et discussion

<p>Camphène</p>	 <p>C₁₀H₁₆</p>
<p>Camphre</p>	 <p>C₁₅H₂₄O</p>
<p>Gamma-Terpinène</p>	
<p>Myrcène</p>	
<p>P-Cymène</p>	

Chapitre IV : Résultats et discussion



Après avoir optimisé nos 11 ligands dans le logiciel HyperChem, nous avons minimisé les énergies de ces 11 inhibiteurs à partir du logiciel MOE. Les propriétés des ligands sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau 16: Les propriétés des onze Ligands

<u>Ligands</u>	<u>Toxicité</u>	<u>Rsynth</u>	<u>Poids mol</u>	<u>TPSA</u>	<u>LogP :</u>	<u>LogS :</u>
<i>1.8 Cinéole</i>	<i>Non</i>	<i>0.00 %</i>	<i>404.77 g/Mol</i>	<i>0.00 A^2(don :0, acc 0)</i>	<i>9.63</i>	<i>-14.58</i>
<i>Alpha-Pinène</i>	<i>Non</i>	<i>0.00 %</i>	<i>136.24 g/Mol</i>	<i>0.00 A^2(don :0, acc 0)</i>	<i>3.00</i>	<i>-3.44</i>
<i>Beta-pinène</i>	<i>Non</i>	<i>0.00 %</i>	<i>136.24 g/Mol</i>	<i>0.00 A^2(don :0, acc 0)</i>	<i>3.00</i>	<i>-3.94</i>
<i>Bêta-thujone</i>	<i>Non</i>	<i>0.00 %</i>	<i>150.26 g/Mol</i>	<i>0.00 A^2(don :0, acc 0)</i>	<i>3.24</i>	<i>-4.45</i>
<i>Camphène</i>	<i>Non</i>	<i>0.00 %</i>	<i>136.24 g/Mol</i>	<i>0.00 A^2(don :0, acc 0)</i>	<i>3.00</i>	<i>-3.94</i>
<i>Camphre</i>	<i>Non</i>	<i>0.00 %</i>	<i>150.26 g/Mol</i>	<i>0.00 A^2(don :0, acc 0)</i>	<i>3.39</i>	<i>-4.45</i>
<i>Gamma- Terpinène</i>	<i>Non</i>	<i>0.00 %</i>	<i>136.24 g/Mol</i>	<i>0.00 A^2(don :0, acc 0)</i>	<i>3.31</i>	<i>-2.83</i>

Chapitre IV : Résultats et discussion

<i>Myrcène</i>	<i>Non</i>	0.00 %	136.24 g/Mol	0.00 A ² (don :0, acc 0)	3.48	-4.02
<i>P-Cymène</i>	<i>Non</i>	30.00 %	134.22 g/Mol	0.00 A ² (don :0, acc 0)	3.12	-3.36
<i>Terpinène-4- Ol</i>	<i>Non</i>	0.00 %	152.28 g/Mol	0.00 A ² (don :0, acc 0)	3.78	-4.06
<i>Thymol</i>	<i>Non</i>	27.27 %	148.25 g/Mol	0.00 A ² (don :0, acc 0)	3.43	-3.84

Le tableau ci-dessus ; nous montre les propriétés des onze Ligands étudiées à partir du logiciel MOE, nous observons que nos onze inhibiteurs ne sont pas toxiques, car ce sont des constituants purement naturels issus de notre plante *Artemisia herba alba* asso. Ceci explique que ces inhibiteurs ne présentent aucun impact ni sur l'environnement ni sur la santé humaine. Donc nous pouvons les utiliser comme un bio-insecticide contre la *Phyllocnistis citrella Stainton 1856*, ce qui nous amène a constaté que le risque est quasiment inexistant.

Nous pouvons dire que les onze ligands ont été préparé afin qu'ils soient plus ductiles et homogènes sans rupture, de plus nos 4 enzymes ont été aussi préparé afin qu'ils soient un corps plus austère et inflexible.

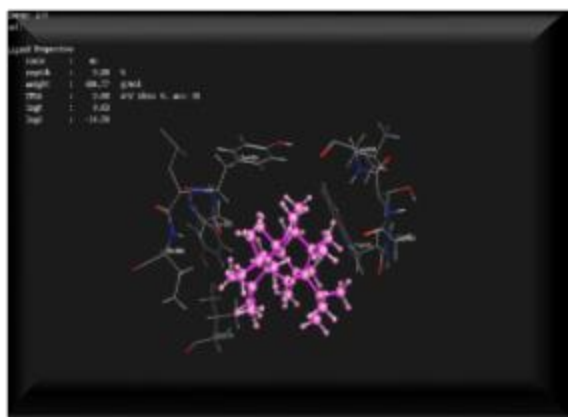
L'étape qui suit, est l'utilisation du Docking moléculaire :

3. Docking moléculaire « Enzymes-Ligands »

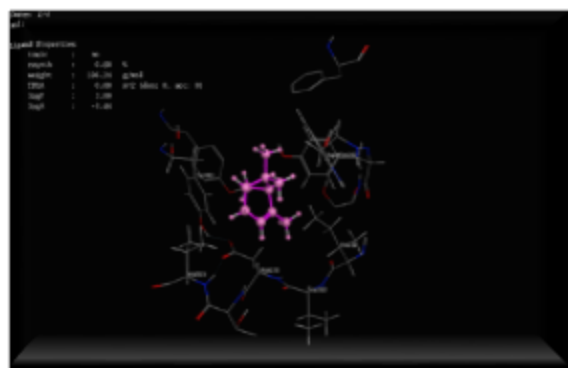
Après avoir préparé nos 4 enzymes et nos 11 ligands, on se référant du Docking moléculaire, qui est de type « inhibiteur-enzyme », nous avons effectué le module Docking moléculaire de façon à établir entre les inhibiteurs et les récepteurs une liaison rigide, pour avoir une fixation et de réalisé un complexe « enzyme-Ligand ». Donc une fois le complexe est formé nous allons avoir de différentes interactions entre les 11 ligands et nos 4 enzymes.

Les complexes formés sont représentés dans la figure suivante :

Nous allons commencer par les complexes formés de l'enzyme Acétylcholinestérase 5YDJ :



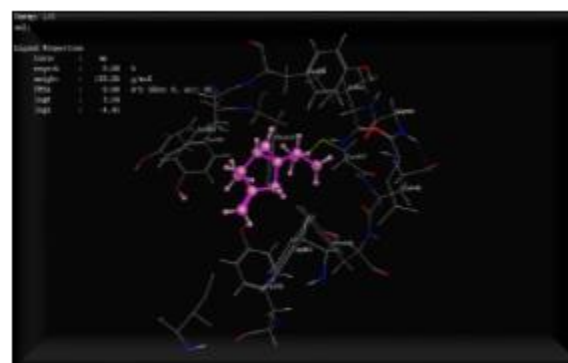
Complexe 5YDJ-1.8 Cinéole



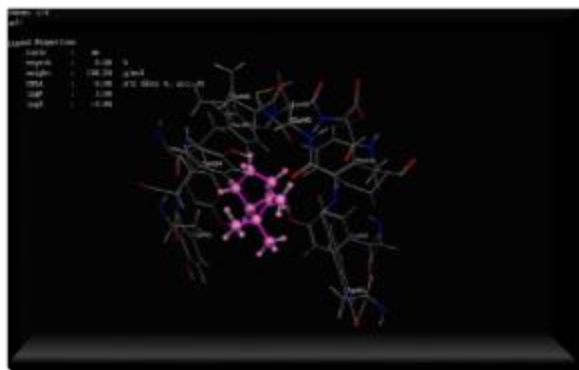
Complexe 5YDJ-Alpha pinène.



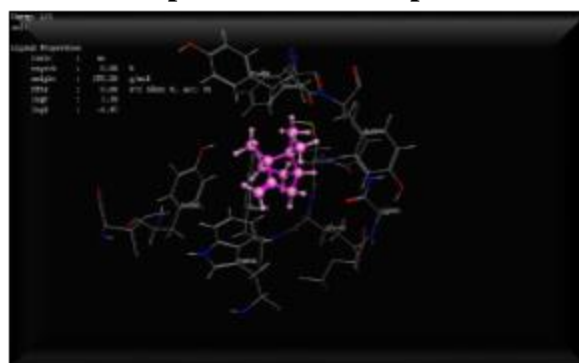
Complexe 5YDJ-Beta pinène.



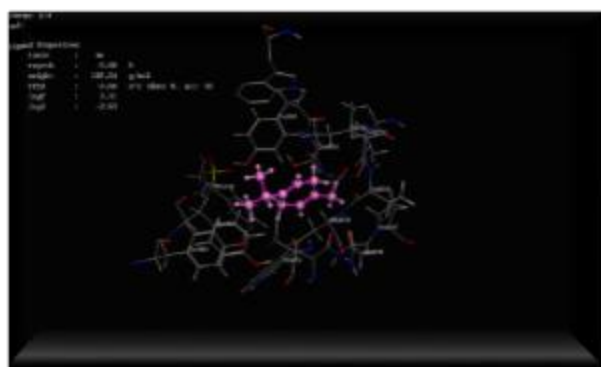
Complexe 5YDJ-Beta thujone.



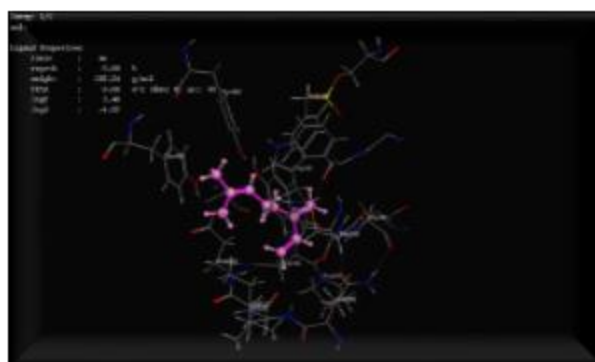
Complexe 5YDJ- Camphène.



Complexe 5YDJ- Camphre



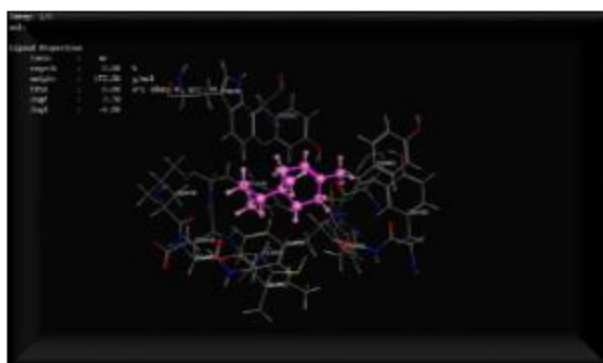
Complexe 5YDJ-Gamma-Terpinène.



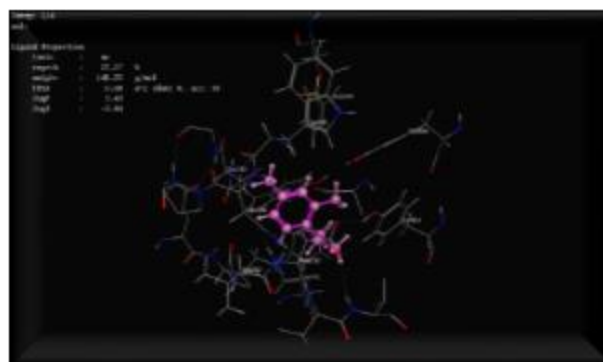
Complexe 5YDJ-Myrcène.



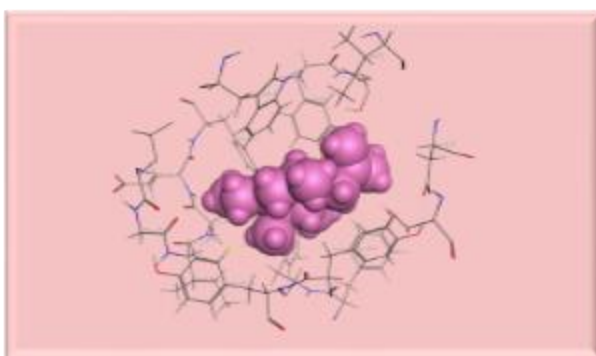
Complexe 5YDJ-Peppermint.



Complexe 5YDJ-Terpinolene-4-OH.



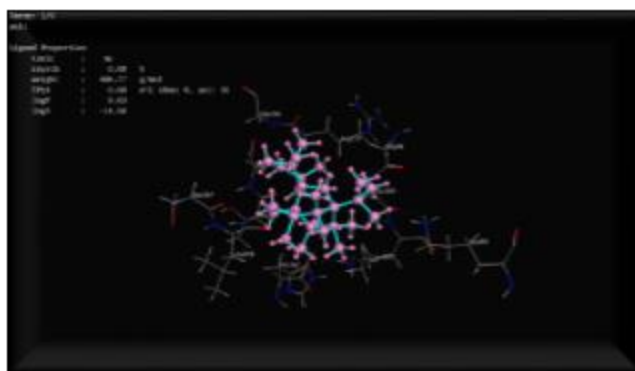
Complexe 5YDJ-Thymol.



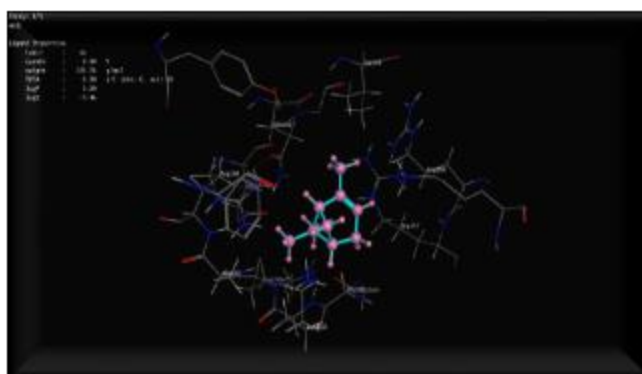
Complexe 5YDJ-Ligand de Co-cristallisation N-Acetylglucosamine

Chapitre IV : Résultats et discussion

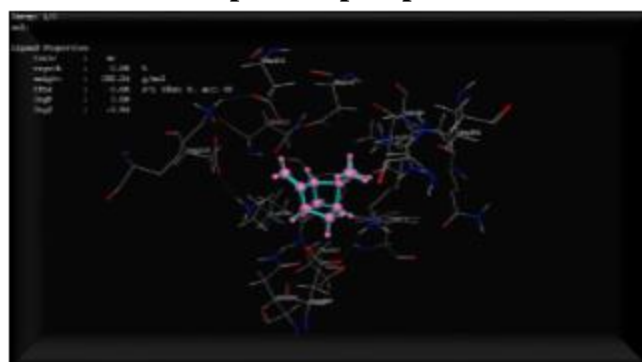
Les complexes formés de l'enzyme Farnésyl Diphosphate Synthase 6B04 :



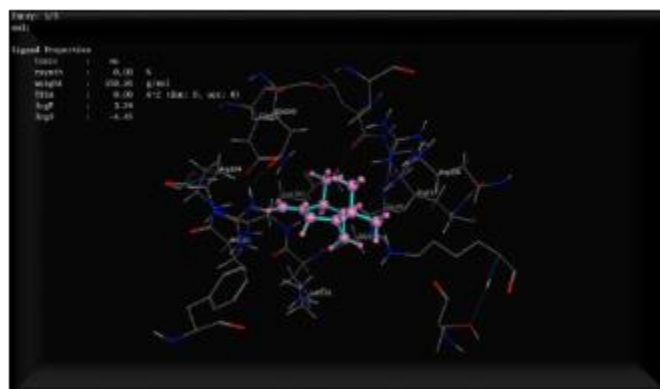
Complexe 6B04-1.8 Cinéole.



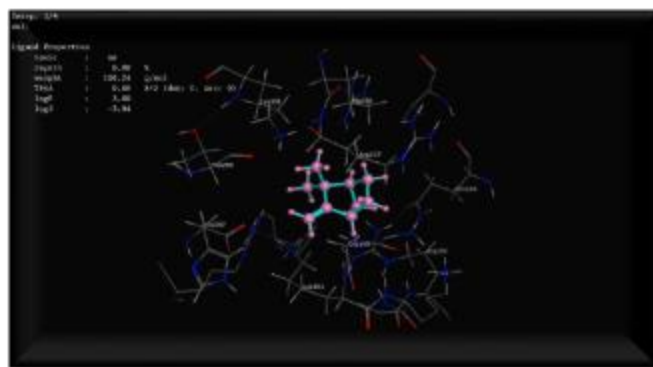
Complexe Alpha-pinène.



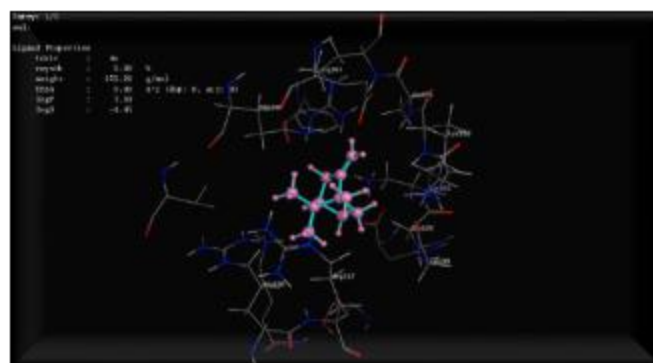
Complexe 6B04-Beta-pinène.



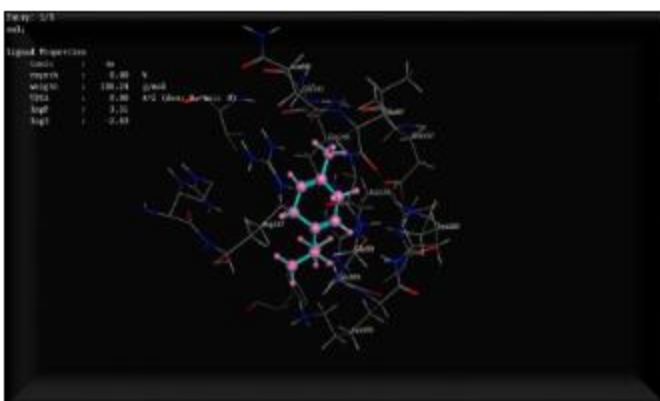
Complexe 6B04-Beta-thujone



Complexe 6B04-Camphène.



Complexe 6B04-Camphre.



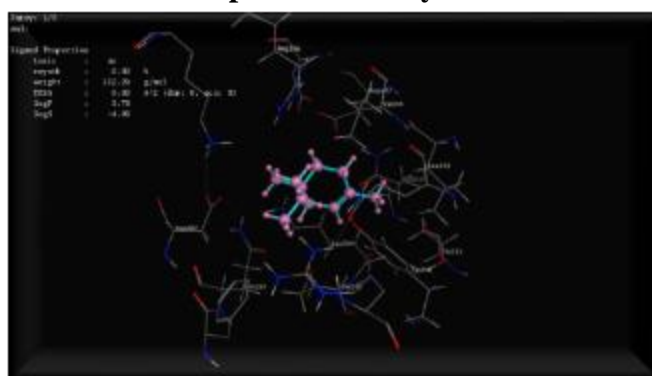
Complexe 6B04-Gamma-Terpinène.



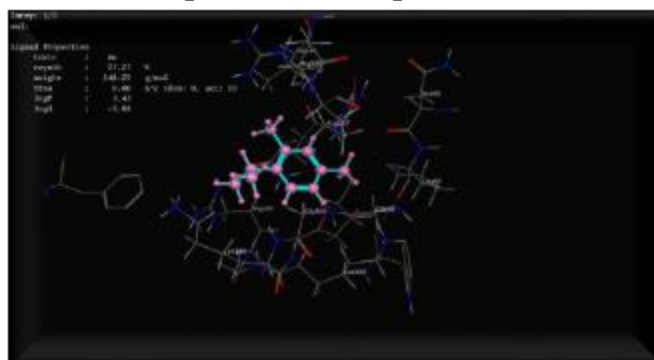
Complexe 6B04-Myrcène.



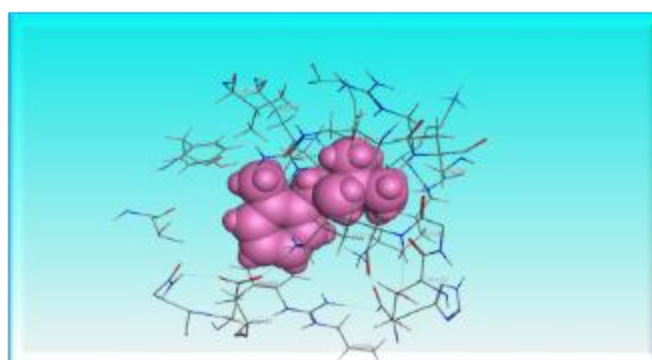
Complexe 6B04-Pcymène



Complexe 6B04-Terpinène-4-Ol.

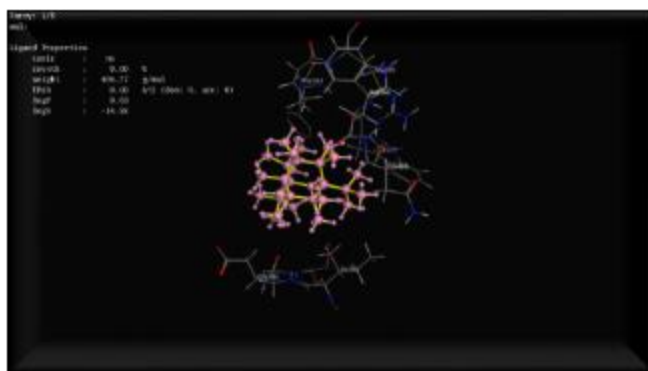


Complexe 6BB04-Thymol.

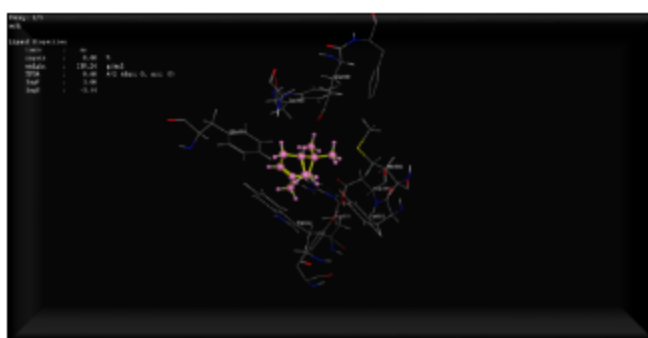


Complexe 6B04-Ligand de Co-cristallisation.

Les complexes formés de l'enzyme Chitinase 5GQB :



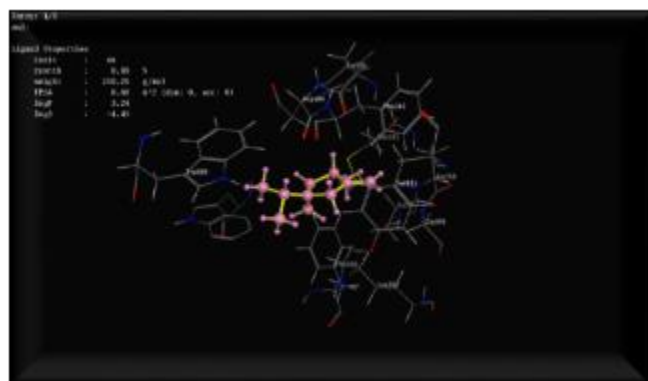
Complexe 5GQB-1.8-Cinéole.



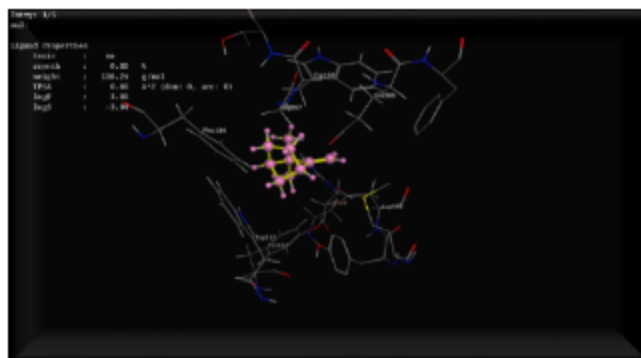
Complexe 5GQB-Alpha Pinène.



Complexe 5GQB-Beta pinène.



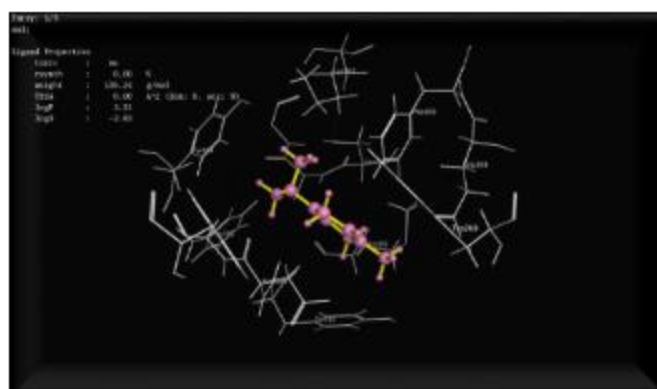
Complexe 5GQB-Beta thujone.



Complexe 5GQB-Camphène.



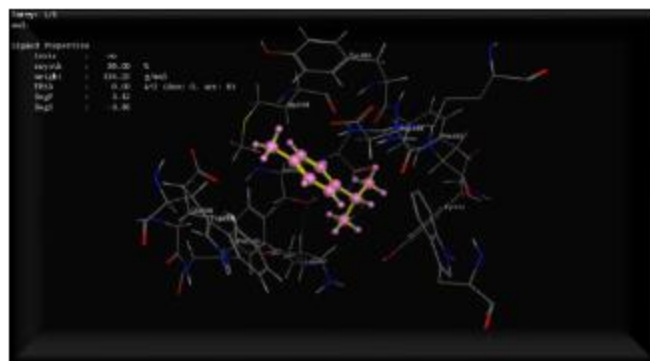
Complexe 5GQB-Camphre.



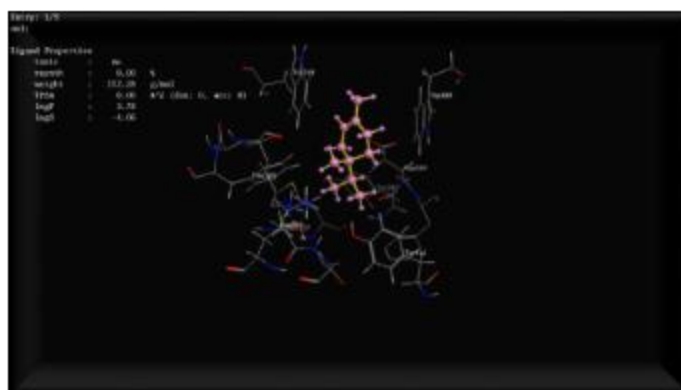
Complexe 5GQB-Gamma-Terpinène.



Complexe 5GQB-Myrcène.



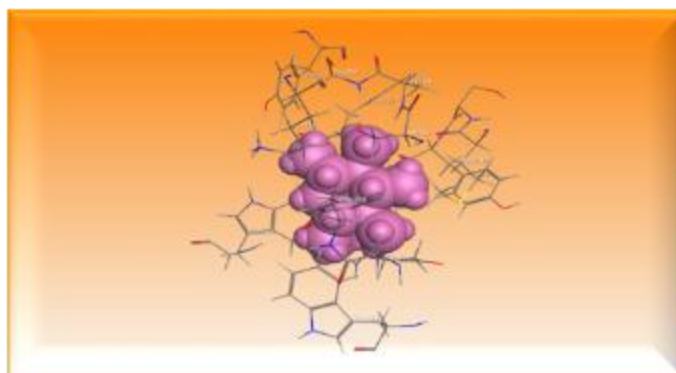
Complexe 5GQB-Pcymène.



Complexe 5GQB-Terpinène-4-Ol.

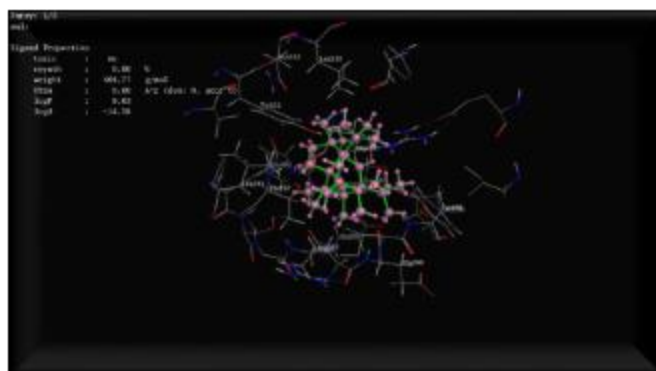


Complexe 5GQB-Thymol.

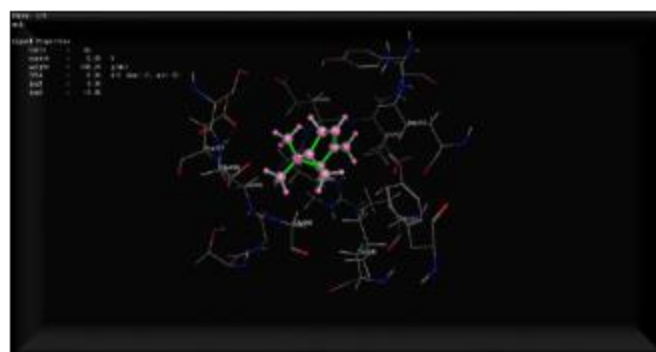


Complexe 5GQB-Ligand de Co-cristallisation. D-Glucosamin.

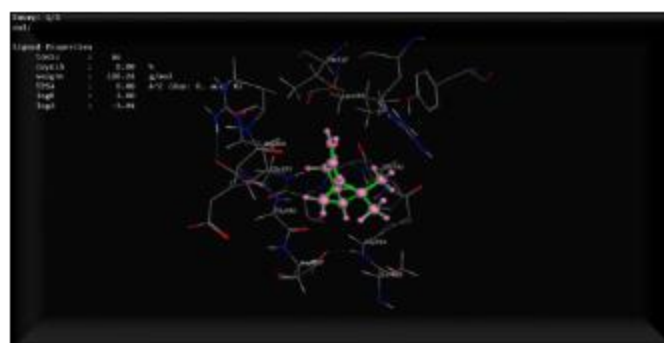
Les complexes formés de l'enzyme Pesticidal crystal Protein 4ARX :



Complexe 4ARX-1.8-Cinéole.



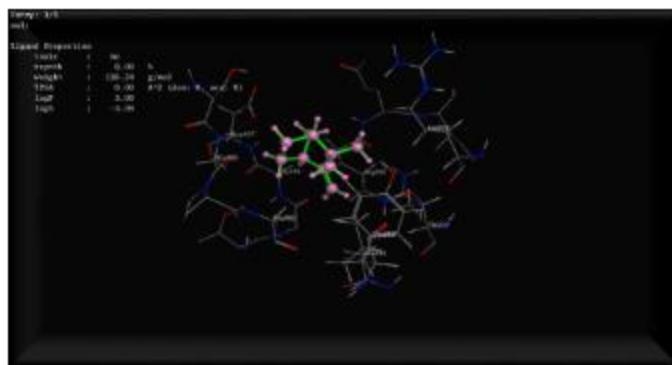
Complexe 4ARX-Alpha pinène.



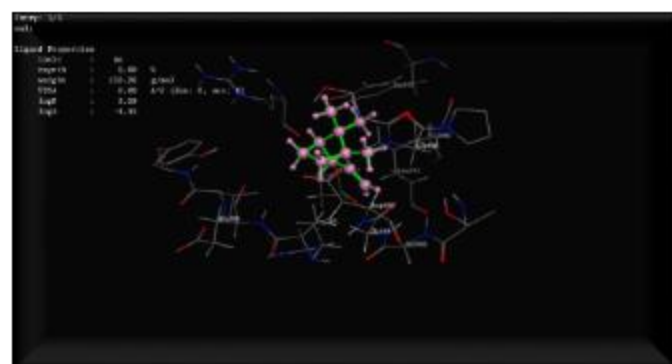
Complexe 4ARX-Beta pinène.



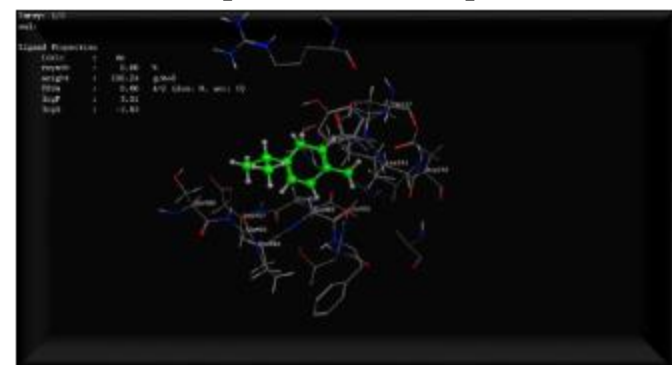
Complexe 4ARX-Beta thujone.



Complexe 4ARX-Camphène.



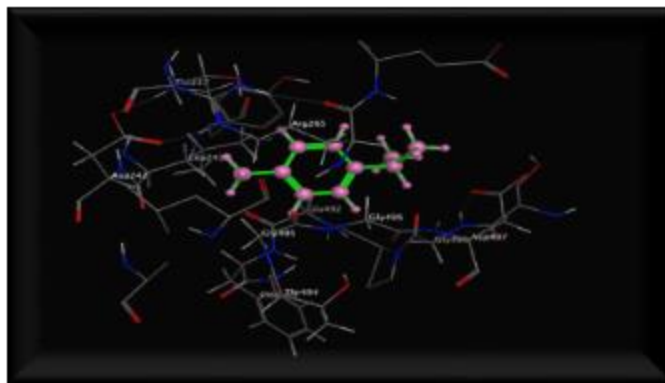
Complexe 4ARX-Camphre.



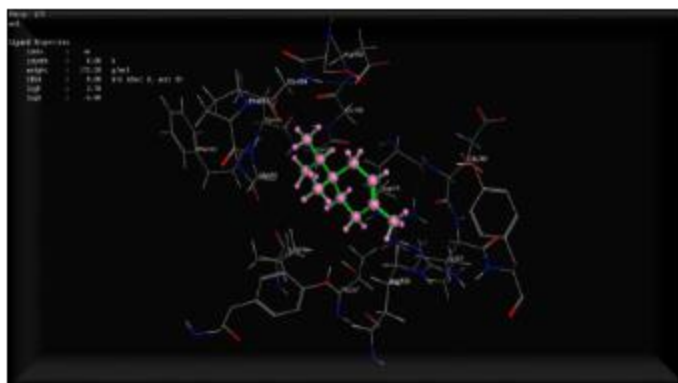
Complexe 4ARX-Gamma Ter pinène.



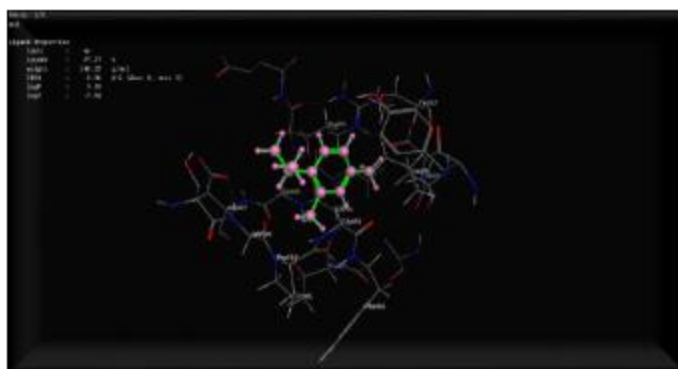
Complexe 4ARX-Myrcène.



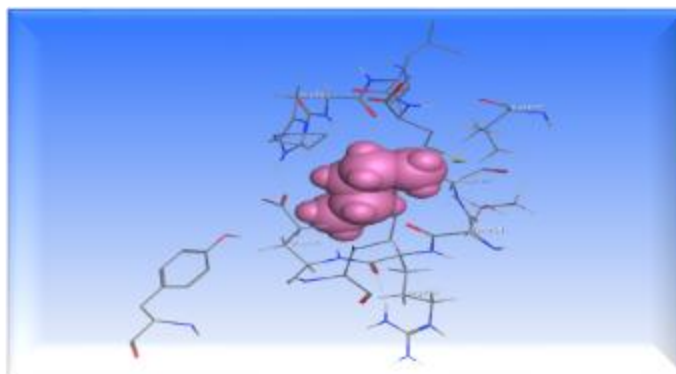
Complexe 4ARX-Pcymène.



Complexe 4ARX-Terpinène-4-Ol.



: Complexe 4ARX-Thymol.



Complexe 4ARX-Ligand de Co-cristallisation 1.3-Diaminopropane.
Figure 44 : les différents complexes

Chapitre IV : Résultats et discussion

Nous avons formé (réalisé) 48 complexes dissemblable avec nos quatre enzymes différents à l'aide du Docking moléculaire. Parmi ces complexes, nous avons constaté que certaines interactions ont été décelées de surcroit. Cette opération a été réalisé dans le but de voir et de comparer l'équilibre, la constance, la stabilité de ces 48 complexes formés.

De ce fait nous avons obtenus un score pour chaque ligand de chaque enzyme, ainsi les différentes interactions des acides aminés de la cavité des quatre différents enzymes et les 11 ligands, ces résultats obtenus sont représentés dans les tableaux suivants :

Tableau 17 : Résultat obtenu après le Docking du premier enzyme Acétylcholinestérase 5YDJ

Ligands	Score (Kcal/Mol)	Interactions avec les résidus du site actif	Types d'interactions	Distance (A)	Energies (Kcal/Mol)
N-Acétyle-D-Glucosamine Ligand de référence	-5.7877	/	/	/	/
Myrcène	-5.3142	/	/	/	/
Gamma-Terpinène	-5.1042	/	/	/	/
Terpinène-4-Ol	-5.0779	/	/	/	/
Thymol	-5.0376	6-ring CB ASP 233 (A) 6-ring CE1 TYR 282 (A)	pi-H pi-H	3.57 3.57	-0.6 -0.8
Beta-Pinène	-4.9501	/	/	/	/
P-Cymène	-4.7702	/	/	/	/
Beta-Thujone	-4.7104	/	/	/	/

Chapitre IV : Résultats et discussion

1.8-Cinéol	-4.6751	/	/	/	/
Camphène	-4.6374	/	/	/	/
Alpha-Pinène	-4.3142	/	/	/	/
Camphre	-4.3093	/	/	/	/

**Tableau 18 : Résultat obtenu après le Docking du deuxième enzyme FARNESYL
DIPHOSPHATE SYNTHASE 6B04**

Ligands :	Score (Kcal/MOL)	Interactions avec les résidus du site actif	Types D'interactions	Distance (Å)	Energies (Kcal/mol)
[2-(1-Methylpyridin-2yl) -1-phosphonoethyl] phosphoriques Acid LIGAND DE REFERENCE	-5.6086	NZ LYS 101 (A)	H-acceptor	3.58	-8.0
		NH2 ARG 104 (A)	H-acceptor	3.55	-4.5
		NH1 ARG 156 (A)	H-acceptor	2.86	-5.5
		NZ LYS 101 (A)	Ionic	3.58	-1.6
		NH1 ARG 104 (A)	Ionic	3.54	-1.7
		NH2 ARG 104 (A)	Ionic	3.55	-1.7
		NH1 ARG 156 (A)	Ionic	3.68	-1.3
		NE ARG 157 (A)	Ionic	3.39	-2.3
		NH1 ARG 156 (A)	Ionic	2.86	-5.5
		NZ LYS 301 (A)	ionic	3.72	-1.1
GAMMA TERPINENE	-5.1442	/	/	/	/
MYRCENE	-5.0991	/	/	/	/
TERPINENE-4- OL	-5.0346	/	/	/	/
BETA THUJONE	-4.9726	/	/	/	/

Chapitre IV : Résultats et discussion

THYMOL	-4.9715	/	/	/	/
P CYMENE	-4.8964	/	/	/	/
1.8 CINEOLE	-4.8569	/	/	/	/
ALPHA PINENE	-4.8522	/	/	/	/
CAMPBRE	-4.6891	/	/	/	/
BETA PINENE	-4.5420	/	/	/	/
CAMPHENE	-4.2428	/	/		

Tableau 19: Résultat obtenu après le Docking du troisième enzyme Chitinase 5GQB

Ligands :	Score (Kcal/Mol)	Interactions avec les résidus du site actif	Types d'interactions	Distance (Å)	Energies (KCAL/MOL)
D-GLUCOSAMINE LIGAND DE REFERENCE	-5.1895	/	/	/	/
BETA THUJONE	-4.9274	/	/	/	/
THYMOL	-4.8699	/	/	/	/
MYRCENE	-4.6601	5-ring TRP 532 (Å) 6-ring TRP 532 (Å)	H-pi H-pi	3.84 4.10	-0.8 -0.6
GAMMA TERPINENE	-4.6412	/	/	/	/
1.8 CINEOLE	-4.4869	/	/	/	/
TERPINENE-4OL	-4.4851	/	/	/	/
P CYMENE	-4.4839	6-ring PHE 309 (Å)	pi-H	4.01	-0.6
CAMPBRE	-4.4429	6-ring TRP 532 (Å) 5-ring TRP 532 (Å)	H-pi H-pi	3.62 4.01	-0.7 -0.6
BETA PINENE	-4.4263	/	/	/	/
ALPHA PINENE	-4.3948	6-ring TRP 532 (Å)	H-pi	3.79	-0.6
CAMPHENE	-4.1470	/	/	/	/

Chapitre IV : Résultats et discussion

Tableau 20: Résultat obtenu après le Docking du quatrième enzyme PESTICIDAL CRYSTAL PROTEIN 4ARX

Ligands :	Score (Kcal/MOL) :	Interactions avec les résidus du site actif :	Types d'interactions :	Distance (Å) :	Energies (Kcal/mol) :
THYMOL	-5.2051	/	/	/	/
BETA THUJONE	-5.1588	/	/	/	/
MYRCENE	-5.1532	/	/	/	/
TERPINENE 4 OL	-5.1075	/	/	/	/
GAMMA TERPINENE	-4.9500	/	/	/	/
P CYMENE	-4.8907	/	/	/	/
1.8 CINEOLE	-4.7694	/	/	/	/
BETA PIENENE	-4.5444	/	/	/	/
CAMPHRE	-4.5021	/	/	/	/
CAMPHENE	-4.4473	/	/	/	/
ALPHA PINENE	-4.4417	/	/	/	/
1.3-DIAMINOPROPANE LIGAND DE REFERNCE	-4.3634	/	/	/	/

Nous avons QUATRE tableaux dont chacun nous renseigne sur les différents résultats acquis indépendamment. Nos ligands sont classés par ordre croissant (le ligand qui a la plus basse énergie est classé premier).

Chapitre IV : Résultats et discussion

Les résultats des tableaux ci-dessus, nous montre qu'il y a 4 meilleurs scores obtenus à l'aide du Docking moléculaire. Ces scores nous confirme qu'il y a quatre meilleurs inhibiteurs pour chaque enzyme étudié.

Pour le premier enzyme **ACETYLCHOLINESTERASE** dont son code pdb est **5YDJ** son meilleur inhibiteur est le **MYRCENE** avec un score de **-5.2314(Kcal/mol)** suivi par le ligand **GAMMA-TERPINENE** avec un score de **(-5.1042Kcal/mol)**, ainsi le **TERPINENE-4-Ol(-5.0779Kcal/mol)** et le **Thymol (-5.0376 Kcal/mol)**, en comparant avec le ligand de Co-cristallisation **N-Acétyle-Glucosamine** qui a un score plus faible de **-5.7877(Kcal/mol)**, nous constatons que le **MYRCENE** est un inhibiteur naturel issu des huiles essentielles de l'armoise blanche contrairement au ligand de référence.(donc ce qui est pris en considération est le ligand naturel).

Pour le deuxième enzyme qui est donc le **FARNESYL DIPHOSPHATE SYNTHASE type 2 « 6B04 »**. Son meilleur inhibiteur est le **GAMMA-TERPINENE** suivi d'un score de **-5.1442(Kcal/mol)**. En vérifiant avec le ligand de référence **[2-(1-methylpyridin-2yl) -1-phosphonoethyl] phosphorique Acid** qui a un score de **-5.6086(Kcal/mol)**, il a un score plus faible que celui du **GAMMA-TERPINENE**. (L'essentiel nous avons une faible énergie d'un inhibiteur naturel).

Pour le troisième enzyme la **CHITINASE « 5GQB »**, le meilleur inhibiteur est le **BETA-THUJONE** qui présente un score de **-4.9274(Kcal/mol)**, en comparant avec le ligand de référence on remarque qu'il a un score plus faible de **-5.1895(Kcal/mol)** a celui du ligand naturel.

Pour le quatrième enzyme **PESTICIDAL CRYSTAL PROTEIN «4ARX »**, son meilleur inhibiteur est le **THYMOL** avec un score de **-5.2051(Kcal/mol)** par rapport au ligand de référence qui a un score de **-4.3634(Kcal/mol)**, l'inhibiteur **THYMOL** est plus raffiné.

Nous avons déduit d'après ces résultats, que le **THYMOL**, le **GAMMA-TERPINENE**, le **BETA-THUJONE**, et le **MYRCENE**, sont considérés comme des meilleurs inhibiteurs de ces quatre enzymes. Nous considérons que ces inhibiteurs ont une activité inhibitrice et peuvent arrêter l'activité enzymatique de l'insecte donc nous pouvons classés ces inhibiteurs parmi les meilleurs inhibiteurs par rapport aux ligands qui ont été étudié.

Chapitre IV : Résultats et discussion

Après avoir concrétisé ces résultats, nous avons présenté les différentes interactions de liaison entre l'atome du ligand et les résidus du site actif, on a pu obtenir certains complexes formés dans les tableaux ci-dessus.

Nous notons qu'en règle générale, les distances d'énergies comprises :

2.5 Å et **3.1 Å** == » sont des interactions Fortes.

3.1 Å et **3.55 Å** == » sont des interactions moyennes.

D est supérieure à **3.55 Å** == » sont des interactions faibles.

Le tableau nous illustre, qu'il existe sept différentes interactions de liaison entre l'atome des ligands et les résidus du site actif dans les 4 différents enzymes.

Commençons par l'**ACETYLCHOLINESTERASE**, nous remarquons qu'il existe seulement une interaction avec un seul ligand qui est donc l'inhibiteur **THYMOL**, qui a une interaction de liaison avec les acides aminés **TYR282 (A)** et **ASP233 (A)** du site actif cible avec une distance d'énergie comprise entre **3.57** ce qui explique que c'est une interaction faible.

Ensuite, pour la **FARNESYL DIPHOSPHATE SYNTHASE** qui de **type 2**, nous observons qu'il y a une seule et unique interaction et c'est celle avec le ligand de Co-cristallisation, ce ligand de référence a formé 10 liaisons avec les acides aminés **LYS101 (A)**, **ARG104 (A)**, **ARG156 (A)**, **LYS101 (A)**, **ARG104 (A)**, **ARG104 (A)**, **ARG156 (A)**, **ARG157 (A)**, **ARG156 (A)**, **LYS301 (A)** ciblent le site actif de notre enzyme avec une distance d'énergies qui varie entre **3.58, 2.86, 3.58, 3.54, 3.55, 3.68, 3.39, 2.86, 3.72**, ce qui énonce que ces distances des liaisons appartiennent aux intervalles des interactions faible, forte et moyenne.

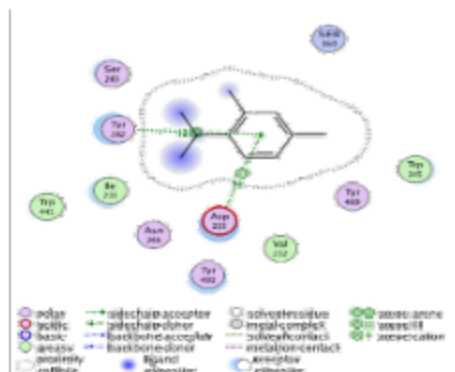
Puis nous avons la **CHITINASE**, nous apercevons dans le tableau ci-dessus qu'il existe 4 différentes interactions avec 4 différents ligands. Nous commençons par le **MYRCENE** dont il a formé deux liaisons avec les acides aminés **TRP532(A)**, **TRP532(A)**, qui ciblent le site actif avec une distance d'énergies comprise entre **3.84** et **4.10**, a posteriori nous avons le **P-CYMENE**, ce ligand a formé une liaison avec l'acide aminé **PHE309(A)**, qui cible le site actif ainsi une distance d'énergie qui a une valeur de **4.01**. Le **camphre** dont il a formé deux liaisons avec les acides aminés **TRP532 (A)**, et **TRP532 (A)** qui ciblent la cavité de l'enzyme **5GQB** avec une distance d'énergies qui varie entre **3.62** et **4.01**. Et en dernier le **ALPHA-PINENE**, qui a formé une seule et unique liaison avec l'acide aminé **TRP532 (A)**, qui cible la cavité

Chapitre IV : Résultats et discussion

enzymatique avec une distance d'énergie de **3.79**. Nous distinguons que les valeurs des distances d'énergies acquises sont supérieures à **3.55** ce qui élucide que ces distances appartiennent à l'intervalle des interactions faibles.

Quant à notre enzyme **PESTICIDAL CRYSTAL PROTEIN « 4ARX »**, nous notons qu'il n'y a aucune interaction avec la cible du résidu. Avec aucun de nos ligands.

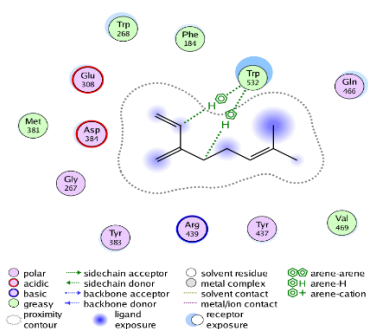
Ces différentes interactions sont démontrées dans les figures suivantes :



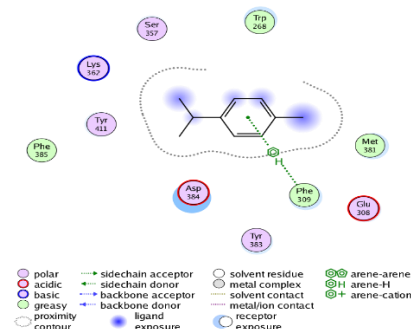
Interaction 5YDJ-THYMOL



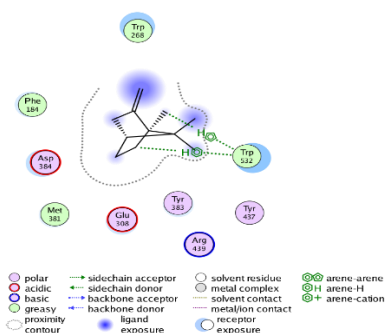
Interaction 6B04-Ligand de référence



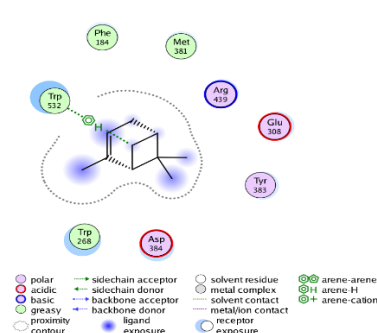
Interaction 5GQB-MYRCENE



Interaction 5GQB-P-CYMENE



Interaction 5GQB-CAMPHRE



Interaction 5GQB-A-PINENE

Figure 45 : Les différentes interactions avec 3 différents enzymes

Chapitre IV : Résultats et discussion

Nous estimons que les ligands **MYRCENE**, **GAMMA-TERPINENE**, **THYMOL** et le **BETA-THUJONE**, sont considérés comme de meilleurs inhibiteurs pour les QUATRE enzymes **5YDJ**, **6B04**, **4ARX**, **5GQB** de notre insecte *Phyllocnistis citrella* Stainton 1856. Ils présentent une activité inhibitrice qui a pour rôle d'arrêter le fonctionnement des 4 enzymes de notre lépidoptère.

Une comparaison a été réalisé dans notre travail, nous avons donc comparé les scores de nos quatre complexes avec deux insecticides qui sont les plus appliqués dans l'agrumiculture.

Le **DIMETHOATE** et **P'ENDOSULFAN**, ce sont deux produits chimiques qui ont été testés contre la mineuse des feuilles d'agrumes dont certains sont homologués contre les ravageurs clés des citrus cultivés.

Nous avons amarré les deux produits avec les 4 différents enzymes à l'aide du Docking moléculaire, les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux ci-dessus :

Tableau 21 : les résultats obtenus après le Docking des deux ligands « DIMETHOATE, ENDOSULFAN » avec les quatre différents enzymes

5YDJ

Ligands :	Score (Kcal/MOL) :	Interactions avec les résidus du site actif :	Types D'interactions :	Distance (A) :	Energies (Kcal/mol) :
Diméthoate	-4.9620	/	/	/	/
Endosulfan	-4.2636	/	/	/	/

6B04

Ligands :	Score (Kcal/MOL) :	Interactions avec les résidus du site actif :	Types D'interactions :	Distance (A) :	Energies (Kcal/mol) :
Diméthoate	-5.0325	/	/	/	/
Endosulfan	-5.1422	/	/	/	/

5GQB

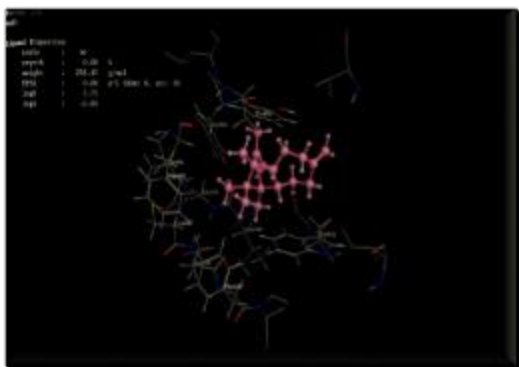
Chapitre IV : Résultats et discussion

Ligands :	Score (Kcal/MOL) :	Interactions avec les résidus du site actif :	Types D'interactions :	Distance (A) :	Energies (Kcal/mol) :
Diméthoate	-4.2315	/	/	/	/
Endosulfan	-4.9289	/	/	/	/

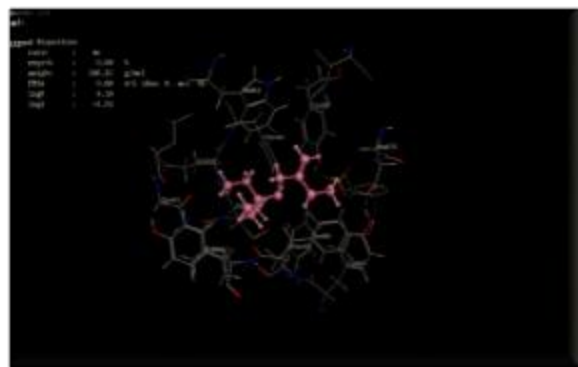
4ARX

Ligands :	Score (Kcal/MOL) :	Interactions avec les résidus du site actif :	Types D'interactions :	Distance (A) :	Energies (Kcal/mol) :
Diméthoate	-5.1768	/	/	/	/
Endosulfan	-5.1067	/	/	/	/

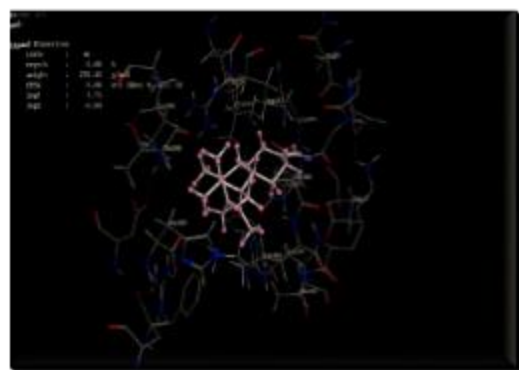
Les quatre complexes sont élucidés dans les figures ci-dessus :



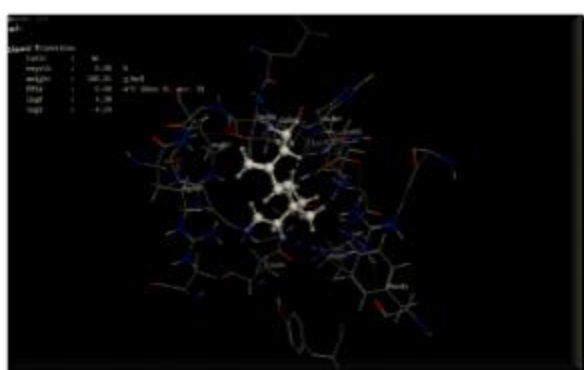
Complexe **5YDJ-ENDOSULFAN**



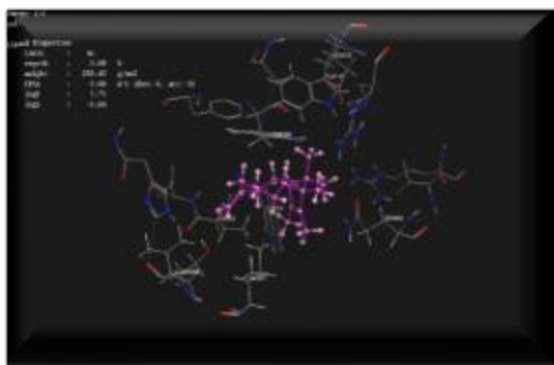
Complexe **5YDJ-DIMETHOATE**



Complexe **6B04-ENDOSULFAN**



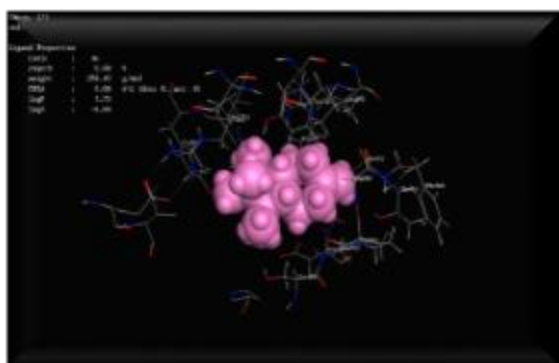
Complexe **6B04-DIMETHOATE**



Complexe **5GQB-ENDOSULFAN**



Complexe **5GQB-DIMETHOATE**



Complexe **4ARX-ENDOSULFAN**



complexe **4ARX-DIMETHOATE**

Les résultats auxquels nous avons abouti ont permis de caractériser globalement que les scores des deux insecticides chimiques comparativement aux scores des quatre complexes sont supérieurs par rapport aux scores des inhibiteurs.

4. La dynamique moléculaire :

Après avoir présenté les résultats obtenus par le Docking moléculaire, nous avons fait l'étude de simulation de la dynamique moléculaire de ces 4 meilleurs complexes formés, cette étude a été appliquée par le serveur **IMODS**. Les résultats décrochés sont affichés dans les figures suivantes (23-24-25) :

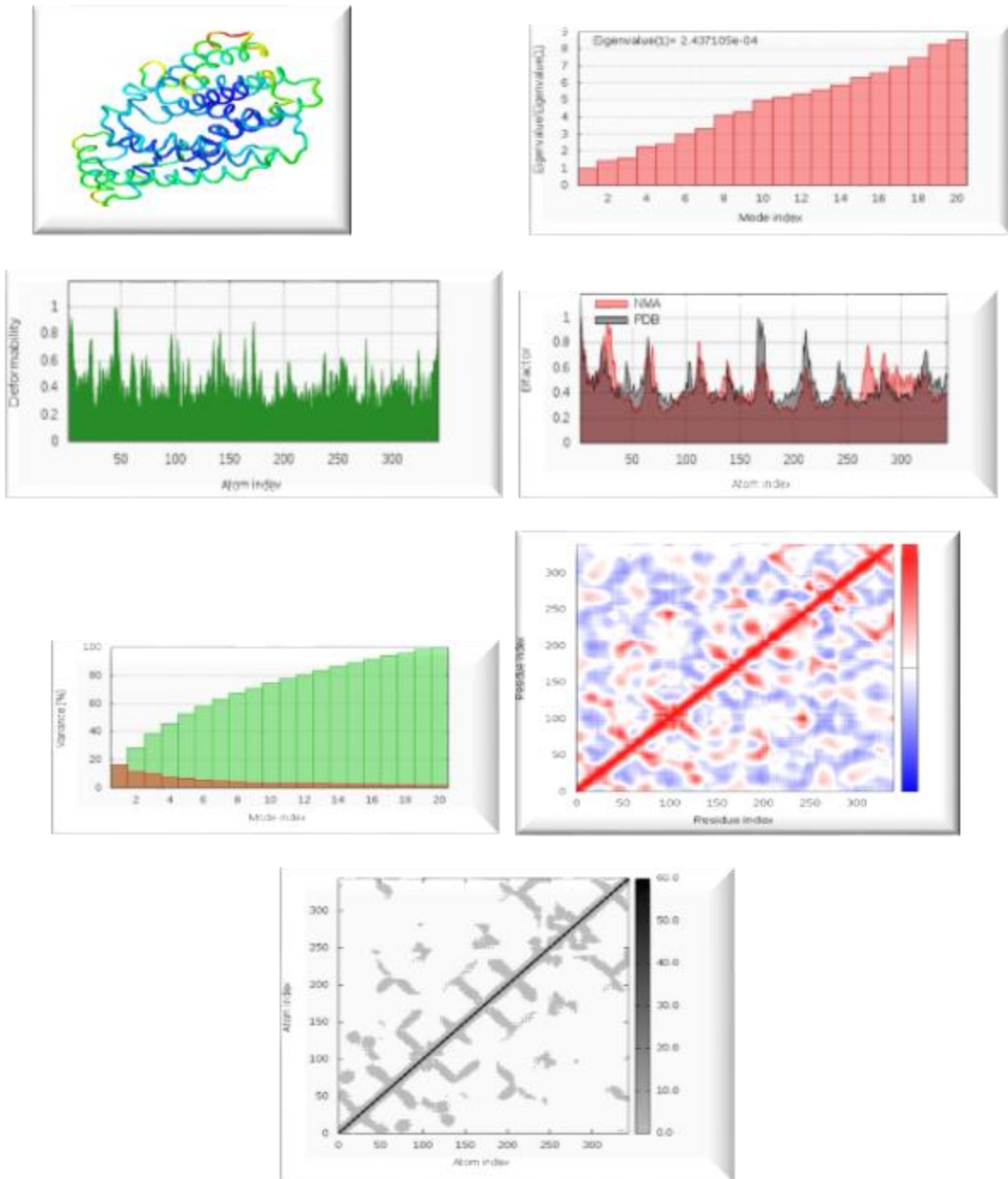


Figure 46 : Résultats de la simulation de la dynamique moléculaire du récepteur GAMMA-TERPINENE-6B04

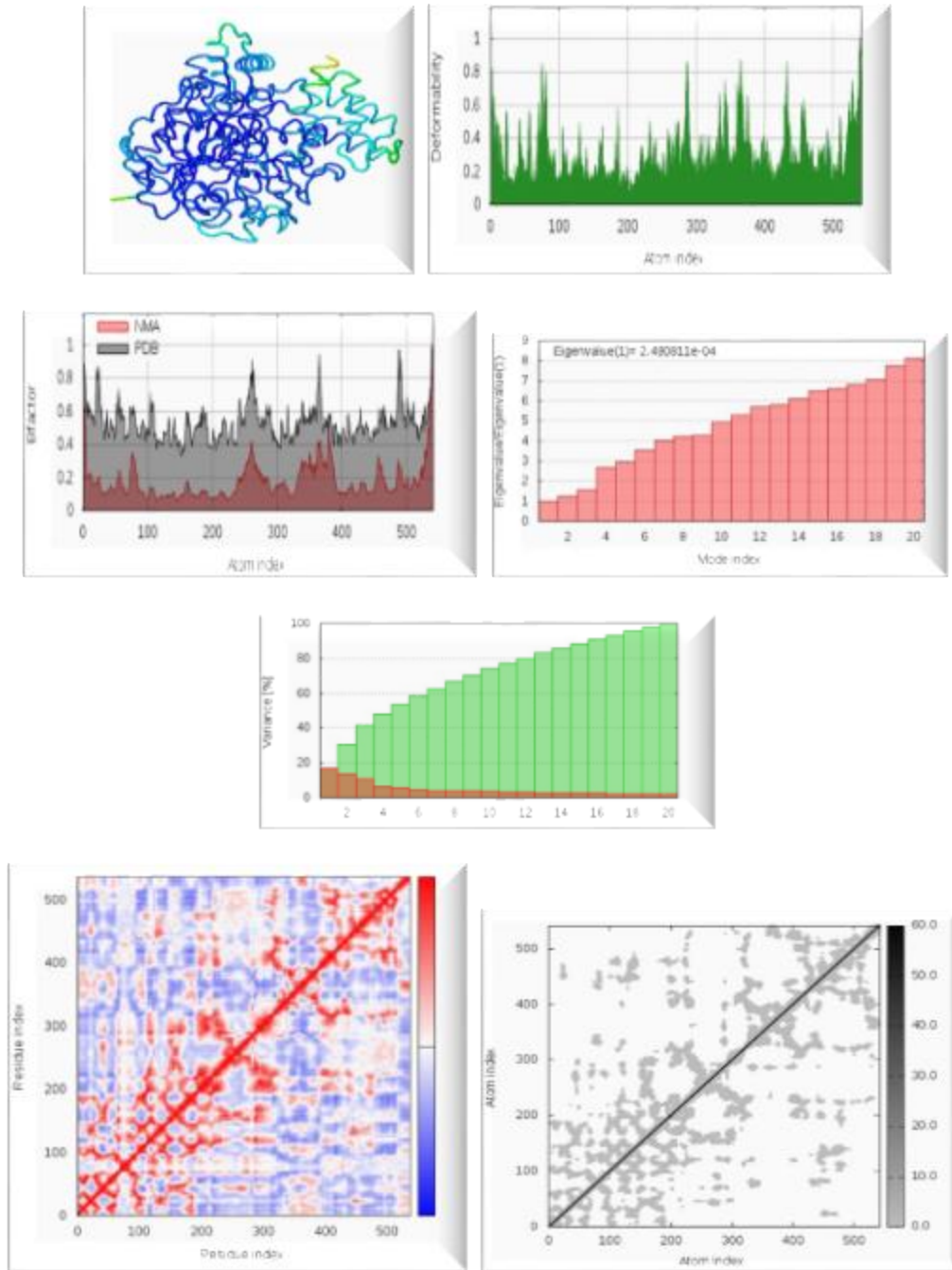


Figure 48 : Résultats de la simulation de la dynamique moléculaire du récepteur MYRCENE-5YDJ

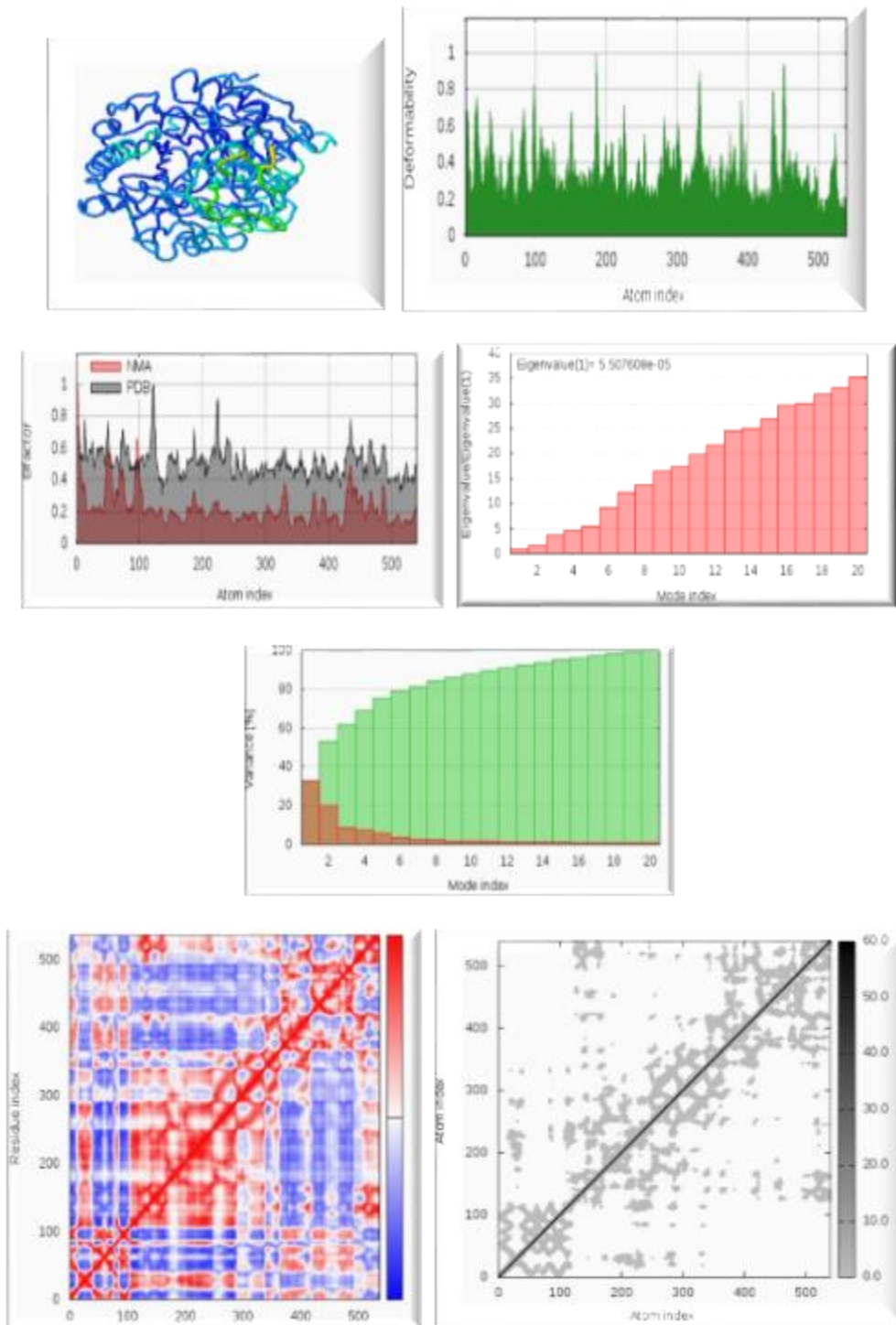


Figure 49 : Résultats de la simulation de la dynamique moléculaire du récepteur BETATHUJONE-5QB

Chapitre IV : Résultats et discussion

L'étude de simulation de la dynamique moléculaire, a été réalisée par le serveur IMODS. Nous avons pris les 4 meilleurs complexes des quatre enzymes, qui sont d'ailleurs : le **MYRCENE-5YDJ**, le **GAMMATERPINENE-6B04**, le **BETATHUJONE-5GQB**, et le **THYMOL-4ARX**, et nous les avons téléchargés sous format PDB grâce au logiciel MOE, par suite nous avons importé ces complexes sur le serveur IMODS. Les résultats ont été affichés en maintenant tous les paramètres par défaut.

Le serveur IMODS est un outil de simulation qui est considéré comme rapide et efficace pour étudier la dynamique structurale des complexes protéiques. Cet outil nous a fourni des valeurs de déformation (B) qui est le profil de mobilité. Ainsi les valeurs propres, la variance, la carte de covariance, et l'élastique du réseau pour un complexe ou une protéine.

Nous constatons que selon cet outil la déformation de la protéine dépend de la capacité de se déformer à chacun de ses résidus d'acides aminés, c'est-à-dire elle cherche une certaine conformité pour que son site actif soit adéquat par rapport a son ligand, la valeur propre à une relation avec l'énergie nécessaire pour défigurer la structure donnée, et plus la valeur propre est faible plus la déformation du complexe est facile et accessible et plus la valeur est importante et élevée plus elle est difficile. De plus la valeur propre représente également la dureté de mouvement du complexe protéique. Le serveur IMODS est très certainement un serveur rapide pour déterminer et mesurer la flexibilité des protéines, afin d'analyser la simulation de la dynamique moléculaire des quatre complexes.

L'étude de la dynamique moléculaire des 4 complexes qui sont illustrés dans les figures ci-dessus (B), (D), nous montrent que les deux complexes **myrcene-5YDJ**, et le **gammaterpinène-6B04** ont une très bonne qualité de déformité, avec une valeur de **2.490811^{e-04}** pour le complexe **5YDJ-MYRCENE**, et une valeur de **2.437105^{e-04}** pour le complexe **6B04-GAMMATERPINENE**. Et qui sont bien meilleure qu'aux deux autres valeurs des deux autres complexes **4ARX-THYMOL** avec une valeur de **3.457607^{e-04}**, et le **5GQB-BETATHUJONE** avec une valeur **5.507608^{e-05}**. Nous réalisons que les deux premières valeurs ont une bonne quantité de déformité, elles peuvent faciliter la déformation des deux complexes ainsi la rigidité de leurs mouvements.

Pour les figures (E), La carte de variance a montré un degré assez important pour les variances cumulatives que les variances individuelles. La covariance, la carte du réseau élastique des 4 récepteurs nous ont donné de bons résultats. (F, G).

Chapitre IV : Résultats et discussion

Au final, nous avons fait un calcul de thermodynamique des 4 complexes pour but de voir le comportement des molécules en fonction de leurs variations ainsi leurs énergies, la température est reliée au degré d'agitation moléculaire.

Chapitre IV : Résultats et discussion

Si la vitesse des molécules et leurs énergies augmentent, le degré d'agitation thermique du milieu est plus grand.

Nous avons réalisé cette dernière dans le but de faire l'étude des propriétés thermodynamique, et voire leurs évolutions en fonction des échanges d'énergies avec le milieu extérieur.

Les résultats obtenus après avoir administré le calcul de la thermodynamique pour chaque différent complexe, sont illustré dans les tableaux Suivants :

Complexe 5YDJ-MYRCENE

Stage	T	H	U	K	T	P	V	Ua	Ub	Uab	Pos	Vel	Xpt	Box
Equilibre « 100 »	100.00 00	-0.5954	- 385.63 47	19.05 54	299.6555 9	7.3986	67628.56 25	- 385.6330	0.000 0	0.0000	14.36501 3	0.0000 0.0	0.7901 0.7	0.0000 0.0
Production « 600 »	600.00 00	0.7891	- 391.79 35	23.34 97	367.1865	6.3183	67 628.5625	- 391.7935	0.000 0	0.0000	14.36501 3	0.0000 0.0	0.8297 -1,	0.0000 0.0
Production « 700 »	700.00 00	-0.3548	- 389.04 80	21.33 59	335.5179	14.752 4	67 628.5 625	- 389.0480	0.000 0.0	0.000 0.0	14.36501 3	0.000 0.0	0.8435 -0,	0.0000 0.0

Complexe 4ARX-Thymol

Stage	T	h	U	K	T	P	V	Ua	Ub	Uab	pos	Vel	Xpt	Box
Equilibre « 100 »	100.000 0	-0.2042	- 444.892 5	21.2302	288.740 1	-1.7531	72686.0 703	- 444.869 5	0.0000	0.0000	14 800, 1.4	0.0000 0,0	1.5559 - 0,	0.0000 0,0
Producti « 600 »	600.000 0	0.5006	- 446.457 1	23.1343	314.636 4	-5.0761	72686.0 703	- 446.457 1	0.0000	0.0000	14 800, 1.4	0.0000 0,0	1.5372 - 0,	0.0000 0,0
Producti « 700 »	700.000 0	0.5565	- 450.102 8	18.7756	255.356 5	-0.0489	72686.0 703	- 4450.10 28	0.0000	0.0000	14 800, 1.4	0.0000 0,0		0.0000 0,0

Chapitre IV : Résultats et discussion

Complexe 5GQB-BETATHUJONE

Stage	T	H	U	K	T	P	V	Ua	Ub	Uab	Pos	Vel	Xpt	Box
Equilibre « 100 »	100.0000	0.1889	- 379.589 4	17.2730	251.944 3	-2.2635	66718.3 281	- 379.589 2	0.0000	0.0000	22.1920 22	0.0000 0,0	0.6836 - 0,	0.0000 0,0
Product ion « 600 »	600.0000	0.1397	- 386.216 5	26.0502	379.967 4	2.7819	66718.3 281	- 386.216 5	0.0000	0.0000	22.1920 22	0.0000 0,0	0.6590 0,0	0.0000 0,0
Product ion « 700 »	700.0000	0.5947	- 370.062 5	16.4194	239.493 0	4.1799	66718.3 281	- 370.062 5	0.0000	0.0000	22.1920 22	0.0000 0,0	0.5680 0,0	0.0000 0,0

Complexe 6B04-GAMMATERPINENE

Stage	T	H	U	K	T	P	V	Ua	Ub	Uab	Pos	Vel	Xpt	Box
Equilibre « 100 »	100.0000	-0.4927	- 268.475 0	22.7769	369.732 8	5.0554	43893.8 359	- 268.474 2	0.0000	0.0000	44.2560 45	0.0000 0,0	0.5949 - 0,	0.0000 0,0
Product ion « 600 »	600.0000	0.3938	- 281.981 0	16.5969	269.413 7	0.1074	43893.8 359	- 281.981 0	0.0000	0.0000	44.2560 45	0.0000 0,0	1.0561 - 0,	0.0000 0,0
Product ion « 700 »	700.0000	-0.4695	- 284.253 9	21.6689	351.746 7	-1.0046	4393.83 59	- 284.253 9	0.0000	0.0000	44.2560 45	0.0000 0,0	0.96700, 0	0.0000 0,0

Chapitre IV : Résultats et discussion

Nous avons étudié l'évolution des propriétés thermodynamiques des 4complexes. Ce système donne des valeurs beaucoup plus importantes pour la thermodynamique, Ces derniers se caractérisent d'une énergie de configuration très importante, les propriétés des quatre complexes peuvent s'expliquer par la complexité de la molécule qui entraîne des changements dans la structure tridimensionnelle du système au niveau vibratoire et rotationnel.

Discussion

Nul ne peut négliger l'importance des agrumes, leurs bien faits et leurs apports nutritionnel pour l'être humain.

Les agrumes sont sujets à plusieurs maladies qui peuvent être fatales pour certaines espèces si l'on n'y prend pas garde, ainsi il existe des ravageurs qui sont extrêmement nuisibles pour ces vergers, ces derniers sont un véritable fléau qui touchent la culture agrumicole.

Parmi ces parasites, nous nous sommes intéressés spécialement à un insecte qui appartient à la famille des gracilariidae. Ces derniers sont connus par leurs dommages et dégâts que peuvent engendrer en niveau des feuilles des vergers.

Notre recherche s'articule principalement, autour d'une lutte biologique par l'utilisation de la modélisation moléculaire en procurant l'utilisation des huiles essentielles de l'armoise blanche comme un moyen de lutte contre la mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella*,

L'armoise blanche révèle un effet bio insecticide de l'huile essentielle extraite de *Artemisia herba alba asso*, cette plante aromatique est connue par sa diversité bénéfique en métabolites, et ses propriétés médicinales qui peuvent servir comme antifongique, antispasmodique, et un puissant antibactérien.

À travers notre étude, nous avons utilisé la méthode de modélisation moléculaire afin de voir l'efficacité des principes actifs de la plante aromatique *Artemisia herba alba asso* à partir de ces constituants chimiques, en inhibants les enzymes qui sont responsable de notre insecte lépidoptère.

Parmi ces enzymes, nous avons choisi quatre enzymes principaux de notre insecte lépidoptère. Pour le premier enzyme, s'appelle l'acétylcholinestérase connu sous le code **5YDJ**, il est le neurotransmetteur excitateur le plus répandu chez les insectes lépidoptères. Le deuxième enzyme s'appelle l'enzyme chitinase, connu ainsi par son code PDB **5GQB**, c'est

Chapitre IV : Résultats et discussion

l'enzyme qui peut défendre l'insecte contre les agresseurs chimiques ou physiques. Ensuite nous avons l'enzyme Farnésyl diphosphate synthase connu sous le code de **6B04**, cette enzyme de **type 2**, il est responsable de l'hormone juvénile de l'insecte, autrement dit responsable de la croissance et du développement de l'insecte. Et en dernier nous avons l'enzyme pesticidal crystal protein connu sous le code **4ARX**, ce dernier est une bactérie nommée « *Bacillus thuringiensis* », c'est une bactérie qui a été appliquée dans le monde entier en tant qu'insecticide biologique, on peut la trouver au niveau du tube digestif de notre insecte. En général, ces 4 enzymes rapportent un potentiel vital pour les lépidoptères.

Nous avons mené une étude *IN SILICO* afin de réaliser une inhibition des quatre enzymes par les composés chimiques de notre plante aromatique choisie, d'où nous avons effectué une méthode d'étude en se référant des ordinateurs en permettant d'utiliser la modélisation moléculaire à l'aide du logiciels MOE.

Nous nous somme servis du logiciel MOE, en réalisant un amarrage des 4 complexes, nous avons donc obtenus des scores à l'aide du Docking moléculaire pour les 4 différents complexes avec les 4 différents enzymes, ces calculs nous ont montré que les ligands **THYMOL**, **MYRCENE**, **BETATHUJONE**, et **GAMMATERPINENE**, sont les meilleurs inhibiteurs pour notre insecte *P.citrella*. Ils représentent un bon inhibiteur pour les 4 différents enzymes de notre insecte.

Lors de cette étude, nous avons fait une comparaison avec deux différents insecticides qui sont fréquemment utilisés par les agrumiculteurs afin de lutter contre ce parasite, nous avons donc réalisé une autre opération a l'aide du logiciel MOE, et nous avons amarré les deux insecticides qui se nomment ainsi « **DIMETHOATE** », et « **ENDOSULFAN** » avec les quatre différents enzymes.

Après avoir effectué le Docking de ces deux insecticides, les résultats obtenus nous ont indiqué que les scores de ces deux insecticides sont supérieurs à celle des scores de nos 4 inhibiteurs. Cela veut dire que nos inhibiteurs ont un meilleur score par rapport à ces insecticides chimiques. Cela s'avère que c'est un bon avantage pour notre étude.

En effet, nous avons réalisé la simulation de dynamique moléculaire afin d'étudier la dynamique structurale des 4 meilleurs différents complexes protéiques, pour but de déterminé la flexibilité et le mouvement des protéines.

Chapitre IV : Résultats et discussion

Ces résultats, nous ont montré que l'armoise blanche possède un pouvoir bio insecticide contre la *Phyllocnistis citrella*, elle a un effet perturbateur sur la mineuse des agrumes.

Certainement, il existe que certains auteurs ont fait une étude *IN VIVO* sur les lépidoptères avec les huiles essentielles de l'armoise blanche.

L'armoise blanche présente des propriétés insecticides sur les lépidoptères vis-à-vis des adultes, et possèdent un effet larvicide sur ces derniers.

Les mécanismes d'action des huiles essentielles de *l'Artemisia herba alba asso* sont considérées comme des neurotoxines de nos jours.

Les huiles essentielles de l'armoise blanche, agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens a corps mou.

Nos résultats sont en harmonie avec ceux portés par les autres auteurs qui ont mis en exergue l'efficacité des propriétés chimiques de la plante aromatique *Artemisia herba alba asso*.

En finalité, nous pouvons offrir l'exploitation de l'armoise blanche comme un moyen de lutte biologique contre les différents ravageurs qui peuvent exister dans les terres agrumicoles, en remplaçant les insecticides chimiques et toxiques par les bio insecticides et qui sont donc naturel et bénéfique pour notre santé et notre environnement.

Conclusion générale

Notre travail de recherche a été réalisé pour but de lutter contre l'espèce dévastatrice *Phyllocnistis citrella*, en adoptant une méthode naturelle et biologique par l'utilisation de la modélisation moléculaire, en employant les propriétés chimiques de la plante aromatique *Artemisia herba alba asso*. Ceci, en inhibant les quatre enzymes différents de l'insecte.

Cette étude nous a emmenée à emprunter 11 ligands différents extraient de l'armoise blanche et qui sont d'ailleurs : le THYMOL, 1.8-CINEOLE, BETA-THUJONE, ALPHA-PINENE, BETA-PINENE, CAMPHRE, CAMPHENE, P-CYMENE, TERPINENE-4-OL, MYRCENE, et enfin, GAMMA-TERPINENE. Ce sont les principaux constituants de la plante aromatique les plus essentielles.

Les ligands : MYRCENE, THYMOL, BETA-THUJONE, et GAMMA-TERPINENE, sont considérés comme de meilleures protéines inhibitrices contre la mineuse des feuilles agrumes. Cependant, l'armoise blanche détient un pouvoir bio insecticides, qui dispose de ces 4 meilleurs ligands.

Ce présent travail a compris 4 chapitres :

- Le premier chapitre est accordé à une recherche bibliographique sur les généralités des agrumes, leurs origines et répartition dans le monde, en appuyant sur les différentes maladies que peuvent atténuer les vergers d'agrumes.
- Dans le deuxième chapitre, nous avons impatronisé les généralités des lépidoptères, en se basant sur la mineuse des agrumes, son histoire et origine, en évoquant les dégâts et les ravages que peuvent introduire ces derniers sur les cultures agrumicoles.
- Quant au troisième chapitre, nous avons exposé les matériels et méthodes qui ont été pressuré lors de notre étude, en expliquant la modélisation moléculaire (Docking moléculaire), et en indiquant tout type de matériel utilisés, en définissant ainsi les différentes enzymes choisies de notre insecte en démontrant les rôles de chacune de ces enzymes.
- Et en dernier le quatrième chapitre, qui consiste les résultats et discussion.

Dans ce chapitre nous avons expliqué les résultats obtenus après avoir utilisés tous les matériels adoptés lors de notre étude, en décrivant la simulation de la dynamique moléculaire, en ajoutant les calculs de la thermodynamique.

Après avoir décroché ces résultats, nous pouvons exprimer que l'armoise blanche peut se servir comme un bio insecticide contre la mineuse des feuilles agrumes.

Perspectives

Vu les résultats obtenus, nous espérons que ce présent travail sera un point de départ pour d'autres recherches fructueuses qui Ouvriront de nouveaux horizons dans la culture des agrumes qui s'avèrent en fin de compte une terre fertile qui cherche toujours à être développée davantage.

En outre, nous souhaitons que ces méthodes soient appliquées au futur sur les vergers. En élargissant le spectre de ses plantes, et en rajoutant d'autres plantes ou familles et faire une recherche d'autres ligands issus des huiles essentielles d'une ou plusieurs plantes en appliquant ses résultats IN SITU, afin de réaliser une lutte biologique qui intervient de façon incontestable sur ces ravageurs en gardant les plantes hôte en bonne santé ainsi l'ensemble des conditions naturelles et culturelles.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] SAHARAOU, Lounes, BENZARA, Abdelmadjid, et DOUMANDJI-MITICHE, Bahia. Dynamique des populations de *Phyllocnistis citrella* Stainton (1856) et impact de son complexe parasitaire en Algérie. *Fruits*, 2001, vol. 56, no 6, p. 403-413.
- [2] Virbel-Alonso, Christine. *Citron et autres agrumes : Un concentré d'astuces pour votre maison, votre santé, votre beauté*. Editions Eyrolles, 2011.
- [3] Khefifi, Hajer. *Etudes physiologiques et génétiques de caractères morpho-physico-chimiques des fruits d'agrumes au cours de la maturation jusqu'à l'abscission*. Diss. 2015.
- [4] MEKKIOUI, Meriem, and Rima BERBAOUI. *Bio-écologie de la Mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* sur oranger dans la région de Tlemcen*. Diss. 2015.
- [5] Raghuvanshi, SS "Études cytogénétiques dans le genre *Citrus*." *Cytologia* 27,2 (1962): 172-188.
- [6] Loussert, R. "Les agrumes. 2 productions." *Techniques Agricoles méditerranéennes. Technique et documentation. Lavoisier/Tec (Eds), Paris, France* (1989).
- [7] "Food and Agriculture Organization." (2002).
- [8] BOUGHANI, M. "inventaire qualitatif et quantitatif des insectes inféodés aux agrumes dans un verger de Tabouker (Tizi-Ouzou). Diplôme d'Etat supé. Bio. ani." *Inst. Scie. natu., Univ. Tizi-Ouzou. 14p* (2000).
- [9] Chafaa, Smail, et al. "Effet du climat et de l'exposition sur la dynamique des populations de la cochenille violette, *Parlatoria oleae* Colvée (Hemiptera: Diaspididae), en conditions arides." *Annales de la Société entomologique de France (NS)*. Vol. 49. No. 3. Taylor & Francis, 2013.
- [10] BEDRANE. MED ELAMINE. Agronomie info. Production des agrumes en Algérie.
- [11] Oustric, Julie et al. "L'hybridation somatique entre le diploïde *Poncirus* et le *Citrus* améliore le refroidissement naturel et les tolérances au stress léger par rapport aux génotypes diploïdes doublés équivalents." *Arbres* 32,3 (2018) : 883-895
- [12] Boualem, Malika, Claire Villemant, and Abdallah Berkani. "Présence en Algérie de trois nouveaux parasitoïdes (Hymenoptera, Eulophidae) de la Mineuse des agrumes, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera, Gracillariidae)." *Bulletin de la Société entomologique de France* 112.3 (2007): 381-386.
- [13] Bitters, WP "Porte-greffes d'agrumes : leurs caractères et leurs réactions." *Bibliothèque scientifique de l'UC Riverside. 236p* (1986).
- [14] Duportal, M. Jorda, et al. "D. and Vannière, H. 2013." *FruiTrop FOCUS Citron. FruiTrop Cirad Hors-Série* 140 (2013).
- [15] Loussert, Raymond. "Arboriculture." (1989)

Références bibliographiques

- [16] Fairouz, Belaribi, and Halladj Malika. "Étude éco-éthologique des cochenilles des agrumes dans un verger d'oranger à la wilaya de Skikda." (2015).
- [17] Nicolas, Julie. *Phase exploratoire à la mise en place d'un schéma d'approvisionnement de plants d'agrumes sains et authentiques en Guyane*. Diss. ISTOM, 2014.
- [18] Fochezato, Júlia. "Biología de microlepidópteros (Gracillaridae) asociados a *Daphmopsis fasciculata* (Meisn.) Neveling (Thymelaeaceae) e *Psychotria suterella* Müll. Arg. (Rubiaceae) na Mata Atlântica." (2018).
- [19] Rebour, Henri. "Les Agrumes ; manuel de culture des citrus pour le Bassin mediterraneen." (1966).
- [20] Lota, Marie-Laure, et al. "Chemical variability of peel and leaf essential oils of mandarins from *Citrus reticulata* Blanco." *Biochemical Systematics and Ecology* 28.1 (2000): 61-78.
- [21] MEDJDOUB, Yamina. *Bio-écologie de la cochenille noire *Parlatoria ziziphi* (Homoptera, Diaspididae) sur les agrumes dans la station d'El Fhoul à Tlemcen*. Diss. 2014.
- [22] BENM'HAMMED, F. A. T. I. M. A., and IMENE BENTAHAR. *RECHERCHE DES PUCERONS-VECTEURS DU CITRUS TRISTEZA VIRUS (CTV) SUR LES AGRUMES*. Diss. 2016.
- [23] Hani, ARABA Oum, and B. O. U. C. H. M. E. L. Hanane. "Contribution à l'étude de la biodiversité entomologique dans un verger d'agrumes dans la région de Guelma." (2016).
- [24] Tamesse, Joseph Lebel, and Jean Messi. "Facteurs influençant la dynamique des populations du psylle africain des agrumes *Trioza erytraea* Del Guercio (Hemiptera: Triozidae) au Cameroun." *International Journal of Tropical Insect Science* 24.3 (2004): 213-227.
- [25] KADDOURI, YUCEF HICHAM, and ABDERRAOUF BOURABA. "Étude de l'effet «in vitro» et «in vivo» de l'extrait méthanoïque de *Salvia officinalis* sur le puceron vert des agrumes *Aphis spiraeicola*." (2018).
- [26] van Ee, Simone. *AD05F 2005 La culture fruitière dans les zones tropicales*. Agromisa Foundation.
- [27] TARI, Meryem. "Étude d'influence de deux espèces de portegreffes «*Citrus Volkameriana* et *Citrangé Carrizo*» sur la reprise de greffage de deux variétés d'agrumes, l'Orange Washington Navel, et Clémentine Orograndé." (2019).
- [28] Chikhi, Abdelghani. *Contribution à l'étude de la fertilité des sols sous agrumes cas de l'orangerie de la région de Draâ Ben Khedda*. Diss. Université Mouloud Mammeri, 2019
- [29] HOUSSA, Abdelhadi AIT, et al. "Éléments d'aide au contrôle de gestion et au management de l'agrumiculture au Maroc." *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires* 8.1 (2020).

Références bibliographiques

- [30] Sanou, Abdoul Gafar, et al. "Influence des supports alimentaires sur quelques paramètres biologiques de *Bactrocera dorsalis* (Hendel) et de son parasitoïde *Fopius arisanus* (Sonan) en conditions de laboratoire." *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 13.2 (2019): 870-881.
- [31] Harbi, Ahlem, et al. "Establishment of *Citrostichus phyllocnistoides* Narayanan (Hymenoptera: Eulophidae) as a biological control agent of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in citrus orchards in Tunisia." *IOBC-WPRS Bulletin* 132 (2018): 99-104.
- [32] KHERROUB, Nadia. "Le pouvoir insecticide de l'extrait et huile essentielle d'*Origanum vulgare* vis-à-vis de pucerons d'agrumes." (2018).
- [33] Galice, Eric Novelo, Moisés Armando Luis Martínez et Carlos Cordero. "Fausse complexité de la tête et preuve d'attaques de prédateurs chez les papillons mâles et femelles de la queue de cheveux (Lépidoptères : Theclinae: Eumaeini) du Mexique." *PeerJ* 7 (2019): e7143.
- [34] Lee, Sanghyeob et al. "Les parasitoïdes indigènes comme ennemis naturels efficaces de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) en Corée." *Journal of Forestry Research* 28.1 (2017): 183-187.
- [35] Davis, Donald R. "Anarsioses, un nouveau nom générique pour *Phyllonorycter aberrans* (Braun) (Lepidoptera: Gracillariidae)." *Zootaxa* (2019).
- [36] Dahmane, Meriem, and Gahdab Chakali. "Distribution pattern of developmental stages of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) on the surface of citrus leaves." *Polish Journal of Entomology* 89.1 (2020): 1-6.
- [37] Prins, Jurate De et al. "Un catalogue illustré des Gracillariidae néotropicaux (Lépidoptères) avec de nouvelles données sur les types primaires." *Zootaxa* (2019).
- [38] Vaca, Gloria V., and Adriana A. Michel. "Morfología del desarrollo larval de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) en cultivos de citrus de Tucumán." *Acta zoológica lilloana* (2016): 148-169.
- [39] Smaili, Moulay Chrif, Abdelmalek Boutaleb-Joutei, and Abdelaali Blenzar. "Beneficial insect community of Moroccan citrus groves: assessment of their potential to enhance biocontrol services." *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 30 (2020): 1-15.
- [40] Hassina, Khechna, et al. "Population dynamics and parasitic complex of *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera; Gracillariidae) on three varieties of citrus in Oued-El-Alleug of Mitidja (Algeria)." *Advances in Environmental Biology* 11.2 (2017): 1-12.

Références bibliographiques

- [41] Brito, Rosangela et al. "La diversité existante et le nombre estimé d'espèces de Gracillariidae (Lepidoptera) restent à découvrir dans la région néotropicale." *Revista Brasileira de Entomologia* 60.4 (2016) : 275-283.
- [42] Heppner, John B. "Mineuse des agrumes, *Phyllocnistis citrella*, en Floride (Lépidoptères : Gracillariidae: Phyllocnistinae)." (1993).
- [43] Hoy, Marjorie A. et RU Nguyen. "Lutte biologique classique contre la mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): Théorie, pratique, art et science." (1997).
- [44] ELEKÇIOĞLU, NAİME ZÜLAL et Nedim Uygun. "Le complexe parasitoïde de la mineuse des agrumes, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) dans la région de la Méditerranée orientale de la Turquie et leur rôle dans la lutte biologique." *Journal turc de zoologie* 30.2 (2006): 155-160.
- [45] Chermiti, B. et al. "Premiers résultats sur l'acclimatation d'*Ageniaspis citricola* Logvinovskaya (Hym., Encyrtidae), parasitoïde spécifique de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lep., Gracillariidae), en Tunisie." *Journal of Applied Entomology* 125.1-2 (2001): 45-52.
- [46] Méchélan, E., and J. Matny. "Etude bio-écologique de la mineuse des feuilles des agrumes" *Phyllocnistis citrella stainton*." *Annales de recherche scientifique* (1998)
- [47] AYOUB, M. "Phyllocnistis citrella Stainton, a main Citrus pest in Saudi Arabia (Microlepidoptera: Lyonetiidae)." *Bulletin de la Société Entomologique d'Egypte* 44 (1960).
- [48] Guerout, R. "Occurrence of *Phyllocnistis citrella* Stainton in West Africa." *Fruits* (1974).
- [49] Barroga, Salud F. "Biological notes and control of citrus leafminer (*Phyllocnistis citrella* Stainton) affecting citrus seedlings." *Philippine J. Plant Industry* 33 (1969): 17-29.
- [50] Khyami-Horani, H. et M. Ateyyat. "Efficacité des isolats jordaniens de *Bacillus thuringiensis* contre la mineuse des agrumes, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae)." *Journal international de lutte antiparasitaire* 48.4 (2002): 297-300.
- [51] Beattie, G. A. C., and D. Smith. "Citrus leafminer." *Agfact H2. AE* 4.2 (1993): 6.
- [52] BERKANI, Abdallah. "Durée de développement pré-imaginal et mortalité de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera, Gracillariidae) en conditions semi-contrôlées en Algérie." *Fruits* (1978) 55.5 (2000) : 303-308.
- [53] Jacas, Josep-Anton et Antonio Garrido. "Différences dans la morphologie des pupes mâles et femelles de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae)." *The Florida Entomologist* 79.4 (1996): 603-606.
- [54] Mafi, Sh et N. Ohbayashi. "Biologie de *Chrysocharis pentheus*, une guêpe endoparasitoïde de la mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* Stainton." (2010): 145 à 154.

Références bibliographiques

- [55] Pandey, N. D., and Y. D. Pandey. "Bionomics of *Phyllocnistis citrella* Stt.(Lepidoptera: Gracillariidae)." *Indian J. Entomol* 26 (1964): 417-423.
- [56] ATEYYAT-TAWFI, MAZENA et M. MUSTAFA. "Facteurs de mortalité de la mineuse des agrumes, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera, Gracillariidae) sur le citron dans la vallée centrale du Jourdain." (2000).
- [57] Argov, Y., and Y. Rossler. "Introduction, release and recovery of several exotic natural enemies for biological control of the citrus leaf miner, *Phyllocnistis citrella*, in Israel." *Phytoparasitica* 24.1 (1996): 33-38.
- [58] Quilici, Serge et al. "Etude préliminaire des parasitoïdes indigènes de la mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* (Stainton) (Lepidoptera, Gracillariidae) à La Réunion." (1997)
- [59] Mungroo, Y. et D. Abeeluck. "Le ravageur des agrumes, *Phyllocnistis citrella* Stainton et son contrôle à Maurice." *Troisième réunion annuelle des agronomes*. 1999.
- [60] Arshad, Muhammad et al. "Évaluation d'extraits de plantes pour la gestion de la mineuse des agrumes, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae)." *Kuwait Journal of Science* 46.1 (2019).
- [61] Brun, P., and J. G. Borelli. "Présence en France d'un nouveau ravageur : la mineuse des feuilles d'agrumes, *Phyllocnistis citrella* Staint.(Lepidoptéra: Gracillariidae). Symposium Méditerranéen sur Mandariniers. SRA–San Giuliano. Corse. France. Session 5, defense des cultures–lutte intégrée." *Crop. Protection* (1995).
- [62] Guérou, R. "Apparition du# *Phyllocnistis citrella*# STAINTON en Afrique de l'ouest." *Fruits* 29.7-8 (1974) : 519-523
- [63] KHALADI, Omar, and Atika GUENDOZ-BENRIMA. "An assessment of population fluctuations of a hemipteran citrus pest in the northeast of Algeria : A case study from Guelma region." *Acta agriculturae Slovenica* 113.2 (2019) : 289-298.
- [64] Ali, Fouad AF. "Population Dynamics of Citrus Leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) and Its Parasitoids on Mandarin Trees in Sharkia Governorate, Egypt." *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology* 12.6 (2019): 143-154.
- [65] Urbaneja, Alberto et al. "Ravageurs des agrumes dans un monde global." *Le genre agrumes*. Éditions Woodhead, 2020. 333-348.
- [66] Arshad, Muhammad et al. "Estimation de l'analyse d'image des dommages à la surface foliaire causés par la mineuse des agrumes, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) Larves sur différents cultivars d'agrumes." *Sarhad Journal of Agriculture* 35.3 (2019): 948-954.

Références bibliographiques

- [67] Grafton-Cardwell, EE, et al. "Mineuse des agrumes." *Mineuse des agrumes*. 3441 (2011).
- [68] Kumar, K. Kiran et al. "Biopesticides microbiens pour la lutte contre les insectes nuisibles en Inde: état actuel et perspectives d'avenir." *Journal de la pathologie des invertébrés* 165 (2019): 74-81.
- [69] Quilici, Serge, et al. "Un nouveau ravageur des agrumes à la Réunion. La mineuse *Phyllocnistis citrella*." (1995).
- [70] Quilici, Serge, et al. "First studies on the Citrus leaf-miner *Phyllocnistis citrella* (Stainton) (Lepidoptera: Gracillariidae) in Reunion island." ISC, 1996
- [71] Bhut, JB et DM Jethva. "Effet de différents insecticides contre la mineuse des feuilles, *Phyllocnistis citrella* Stainton infestant la chaux kagzi." *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 8.4 (2019) : 103-105.
- [72] Dahmane, Meriem, and Gahdab Chakali. "Distribution pattern of developmental stages of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) on the surface of citrus leaves." *Polish Journal of Entomology* 89.1 (2020) : 1-6.
- [73] Jerraya, A., et al. "Lutte contre la mineuse des agrumes : Effet de l'acétamipride, nouvel insecticide." *Phytoma, la défense des végétaux* 499 (1997) : 46-50.
- [74] Abbassi, M., et al. "Lutte biologique contre la mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* stainton." *Proceedings of the 5th International Conference on Pest in Agriculture*. 1999.
- [75] Sharma, Rakesh Kumar et Yogesh Khokhar. "Études sur la dynamique saisonnière des populations du mineur de feuilles d'agrumes, *Phyllocnistis citrella* stainton (lépidoptères : gracillariidae) sur kinnow dans la région submontanée du Punjab." *Journal of Agrometeorology* 21.3 (2019) : 385-387.
- [76] Neale, C. et al. "Importation, test de spécificité de l'hôte, élevage et libération de trois parasitoïdes de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) dans l'est de l'Australie." *Australian Journal of Entomology* 34.4 (1995) : 343-348.
- [77] Ullah, Muhammad Irfan et al. "Caractéristiques physiologiques des plantes d'agrumes infestées par la mineuse des agrumes, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae)." *International Journal of Fruit Science* (2020): 1-13.
- [78] Gnutt, David. "L'effet d'encombrement macromoléculaire dans la cellule vivante et ses implications pour le repliement de la superoxyde dismutase 1." (2019).
- [79] Aassem, Younes, et al. "Effet inhibiteur d'extraits aqueux de pulpes de caroube, de citron et d'orange sur la cristallurie de patients lithiasiques." *International Journal of Innovation and Applied Studies* 27.2 (2019) : 678-685.

Références bibliographiques

- [80] Moro, J., et al. "Identification de biomarqueurs de sources protéiques déficientes en acides aminés indispensables: lysine et thréonine." *Nutrition Clinique et Métabolisme* 33.1 (2019) : 61-62.
- [81] Musilek, Kamil et al. "Progrès des antidotes (réactivateurs de l'acétylcholinestérase) contre les pesticides organophosphorés." *Pesticides dans le monde moderne - Effets de l'exposition aux pesticides* (2011) : 341-358.
- [82] Abdelli, Imane et al. "Évaluation in silico des composés phénoliques comme inhibiteurs de l' α -amylase et de l' α -glucosidase." *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* (2020) : 1-7.
- [83] Saguez, Julien. *Dérégulation des activités chitinases: vers de nouvelles perspectives de lutte contre les aphides*. Diss. 2007.
- [84] Jeuniaux, Charles. "Biochimie de la mue chez les arthropodes." *Bulletin de la Société Zoologique de France* 86.5 (1961) : 590-599.
- [85] Barbar, Aline, and Michel Cusson. "La prénylation des protéines chez les insectes : cible prometteuse pour le développement d'insecticides biorationnels ciblant les Lépidoptères" *BASE* (2014).
- [86] SELLAMI, Sameh, Lobna ABDELKEFI MESRATI, and Slim TOUNSI. "Amélioration des activités insecticides des protéines Vip3 de *Bacillus thuringiensis*." *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires* 4.2 (2016) : 32-39.
- [87] Keddachi, Djamilia, and Sara Mihoubi. *Extraction et caractérisation de l'huile essentielle extraite à partir de la plante Artemisia herba-alba*. Diss. Université de bouira, 2015.
- [88] Ayad, Nadira, et al. "Contribution à l'étude de l'implantation de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso.) dans la steppe du sud de Tlemcen." *Rev. de l'écologie–environnement* 09 (2013).
- [89] Bouchikhi-Tani, Zoheir, Mohamed Anouar Khelil, and Mourad Bendahou. "Evaluation des propriétés larvicides des huiles essentielles extraites de cinq plantes aromatiques d'Algérie : essai sur la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera: Tineidae)." *Lebanese Science Journal* 19.2 (2018): 187-199.
- [90] Chaabna, Naila. *Activité anticoccidienne des extraits d'Artemisia herba alba*. Diss. 2018.
- [91] BELOUFA, Meriem. "Etude chimique et activité antioxydante des huiles Essentielles du *Thymus fontanesii*, *Rosmarinus Officinalis* et *Artemisia herba alba* de la région de Tlemcen." (2018).
- [92] Environnement d'exploitation moléculaire (MEO). (2013). Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbooke St. West, Suite # 910, Montréal, QC, Canada, H3A 2R 7, (2014).

Références bibliographiques

[93] López-Blanco JR, Garzón JI, Chacón P. (2011) iMod: analyse polyvalente en mode normal en coordonnées internes. *Bioinformatique*. 27 (20) : 2843-2850

[94] TIFOURAK, Dalal. "Etude par Docking Moléculaire de l'inhibition des CYP3A4 par le jus de pamplemousse." (2019).

Sites Web :

Web 1 : <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/EEbioch/POLY.Chp.2.html> consulté 19/05/2020 à 19h07.

Web 2 : <https://www.rcsb.org/> consulté le 29/04/2020 à 10h00.

Web 3 : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> consulté le 29/04/2020 à 10h30.

Web 4 : <https://ritme.com/BE-fr/logiciels/chemdraw-chemoffice/> consulté le 29/04/2020 à 10h45

Web 5 : [Hypercube, Inc.\(C\). 1985-2007. Inc.](#) Consulté le 13/04/2020 à 20h45.

Web 6 : <http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/TexteTD/9BioinfoSTRUCTURALE/1MecaniqueMoleculaire/1MecaniqueMoleculaire.htm> consulté le 18/05/2020 à 11h00.

Web 7 : <http://imods.chaconlab.org/>

Résumé

L'agrumiculture occupe une place prépondérante dans les différentes filières agricoles en Algérie. Les agrumes constituent le groupe le plus important parmi les différentes espèces ligneuses fruitières cultivées à l'échelle mondiale. La *Phyllocnistis citrella* est un insecte endophyte qui provoque des dégâts considérables sur les vergers d'agrumes, sa pullulation peut entraîner une défoliation des arbres et arrête le développement des jeunes pousses.

Dans cette concordance, nous avons adopté une méthode de lutte biologique par l'utilisation de la modélisation moléculaire en réalisant un bio insecticide naturelle et non toxique pour la santé humaine avec des effets profitable et avantageux pour les verges d'agrumes. Sur ce nous avons choisi une plante aromatique connue par ses pouvoir insecticides en ôtant les constituants chimiques des huiles essentielle de l'*Artemisia herba alba* asso, et les utiliser comme inhibiteurs d'enzymes de cet insecte dévastateur, ceci dit nous avons choisi quatre enzymes différents de notre insecte lépidoptères dont ils sont : l'**Acétylcholinestérase**, la **chitinase**, la **Farnésyl diphosphate synthase type 2**, et en dernier le **pesticide Crystal protéine**, en réalisant un amarrage moléculaire autrement dit Docking moléculaire à l'aide du logiciel MOE (Molecular Operating Environment).

Grace aux principes actifs des huiles essentielles de l'*Artemisia herba alba* asso, nous avons obtenus des résultats satisfaisant concernant l'inhibition de ces quatre enzymes d'après les scores du Docking. Certains de ces ligands comme le **MYRCENE**, le **GAMMA-TERPINENE**, le **BETA-THUJONE**, et le **THYMOL** sont considéré comme de bons inhibiteurs de ces quatre différents enzymes.

L'application de la simulation de la dynamique moléculaire a été assimilée pour les quatre ligands proclamés comme de meilleures molécules parmi les molécules sélectionnée.

Mots clés : Agrumes, *Phyllocnistis citrella*, Lépidoptères, bio insecticide, armoise blanche, modélisation moléculaire, simulation de la dynamique moléculaire, ligands, enzymes.

ملخص

تحتل زراعة الحمضيات مكانة بارزة في مختلف القطاعات الزراعية في الجزائر. الحمضيات هي أكبر مجموعة بين مختلف أنواع الفاكهة الخشبية المزروعة في جميع أنحاء العالم. *Phyllocnistis citrella* هي حشرة بطانية تسبب ضرراً كبيراً للبساتين الحمضيات، ويمكن أن يتسبب انتشارها في تساقط الأوراق وتوقف نمو البراعم الصغيرة.

في هذا التوافق، اعتمدنا طريقة التحكم البيولوجي باستخدام النمذجة الجزيئية من خلال تحقيق مبيد حشري طبيعي وغير سام لصحة الإنسان مع آثار مفيدة ومفيدة لبساتين الحمضيات. على هذا اخترنا نباتاً عطرياً معروفاً بقدرته على استخدام المبيدات الحشرية عن طريق إزالة المكونات الكيميائية للزيوت العطرية من *Artemisia herba alba* asso، ولستخدامها كمثبطات إزيمية لهذه الحشرة المدمرة، التي تقول إننا اخترنا أربع إنزيمات مختلفة من حشرة lepidopteran التي هم Acetylcholinesterase، chitinase، Farnésyl diphosphate synthase type 2، ولخيراً بروتين كريستال المبيدات، من خلال إجراء إرساء جزيئي بعبارة أخرى الإرساء الجزيئي باستخدام برنامج) MOE بيئة التشغيل الجزيئية.

بفضل المكونات النشطة في الزيوت العطرية من *Artemisia herba alba* asso، فقد حصلنا على نتائج مرضية فيما يتعلق بتنشيط هذه الإنزيمات الأربعة وفقاً لدرجات الإرساء. تعتبر بعض هذه الليجندات مثل MYRCENE و GAMMA-TERPINENE و BETA-THUJONE و THYMOL مثبّطات جيدة لهذه الإنزيمات الأربعة المختلفة.

تم استيعاب تطبيق محاكاة الديناميكيات الجزيئية للرابطات الأربعة المعلنة كأفضل الجزيئات بين الجزيئات المختارة.

الكلمات المفتاحية: الحمضيات، *Phyllocnistis citrella*، Lepidoptera، المبيدات الحشرية الحيوية، فرشاة المريمية، النمذجة الجزيئية، محاكاة الديناميكيات الجزيئية، ligands، الإنزيمات.

Abstract

Citrus growing occupies a prominent place in the various agricultural sectors in Algeria. Citrus is the largest group of the world's various woody fruit species. The phyllocnistis citrella is an endophytic insect which causes considerable damage on citrus orchards, its proliferation can cause defoliation of trees and stops the development of young shoots.

In this concordance, we have adopted a biological control method by using molecular modeling by realizing a natural bio-insecticide and non-toxic for human health with beneficial and advantageous effects for citrus orchards. On this we have chosen an aromatic plant known for its insecticidal power by removing the chemical constituents of the essential oils of *Artemisia herba alba* asso, and using them as enzyme inhibitors of this devastating insect, that said we have chosen four different enzymes of our lepidopteran insect of which they are: Acetylcholinesterase, chitinase, Farnésyl diphosphate synthase type 2, and lastly the pesticide Crystal protein, by performing a molecular docking in other words molecular docking using MOE software (Molecular Operating Environment).

Thanks to the active ingredients in the essential oils of *Artemisia herba alba* asso, we have obtained satisfactory results regarding the inhibition of these four enzymes according to the Docking scores. Some of these ligands like MYRCENE, GAMMA-TERPINENE, BETA-THUJONE, and THYMOL are considered good inhibitors of these four different enzymes.

The application of molecular dynamics simulation has been assimilated for the four ligands proclaimed as the best molecules among the selected molecules.

Key words: Citrus, *Phyllocnistis citrella*, Lepidoptera, bio insecticide, sagebrush, molecular modeling, molecular dynamics simulation, ligands, enzymes.