

**INFESTATION PAR *THAUMETOPOEA PITYOCAMPA* DEN. AND SCHIFF. DANS DEUX PINERAIES DE LA REGION DE DJELFA (ALGERIE) ET IMPACT DE *JUNIPERUS OXYCEDRUS* ET *JUNIPERUS PHOENICEA* SUR LA MORTALITE ET LA CONSOMMATION DES LARVES *IN VITRO***

BACHIR Kamilia<sup>1</sup>, TAIL Ghania<sup>2</sup>, ZAMOUM Mohamed<sup>3</sup>, ACI Louiza<sup>1</sup>, CHERIF Hamida Saida<sup>2</sup>  
et SAIDI Fairouz<sup>2</sup>

1. Université Ziane Achour Djelfa – Faculté de sciences de la nature et de la vie – Route de Moudjbara, 17000, Djelfa- Algérie

2. Université Blida 01 - Faculté des sciences de la nature et de la vie-Département de biologie des populations et des organismes - laboratoire de Biotechnologie, Environnement, et santé, Algérie

3. Institut National de Recherches Forestières. Laboratoire d'Entomologie Forestière - INRF. BP 37, 16000 Cheraga, Algérie

Reçu le 07/06/2017, Révisé le 24/12/2017, Accepté le 31/12/2017

### Résumé

**Description du sujet :** Le barrage vert conçu comme barrière à la désertification, constitue aujourd'hui un foyer pour la processionnaire du pin dans les pineraies artificielles contrairement aux forêts naturelles où la mixité des espèces ligneuses peut défavoriser la présence de cet insecte.

**Objectif :** Pour comprendre l'impact de la végétation des forêts naturelles sur l'insecte, nous avons récolté les feuilles de *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea* à partir de la forêt mixte de Djellal, et testé in vitro leur effet biocide contre les larves de *Thaumetopoea pityocampa*

**Méthode :** Le traitement a été appliqué par ingestion en utilisant les extraits méthanoliques des deux plantes. Les taux de mortalité ont été évalués durant 15 jours de traitement. Le poids des crotes a été pesé pour estimer l'effet anti-appétant des deux plantes sur les larves des cinq différents stades larvaires.

**Résultats :** L'analyse des probits a permis d'estimer la CL50 à 13,427±3,456 mg/cm<sup>2</sup> pour les extraits méthanoliques des feuilles de *Juniperus oxycedrus* et à 13,659±3,059 mg/cm<sup>2</sup> pour ceux de *Juniperus phoenicea*. Les taux de mortalité varient en moyenne de 54,4 % à 56,2% sur les larves, pouvant être traduit par un effet anti-appétant comparable entre les deux extraits de plantes, qui a diminué jusqu'à 0,797±0,051g de crotes/boîte de 10 larves. L'étude histologique a révélé une vacuolisation des cellules intestinales et la lyse de leurs membranes après ingestion des différents extraits.

**Conclusion :** Les extraits méthanoliques des deux plantes ont agi différemment sur les larves. Par conséquent, une éventuelle introduction de ces deux espèces (*Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea*) dans le barrage vert peut être utile pour dévier le comportement de l'insecte

**Mots clés:** Infestation ; effet biocide ; forêt naturelle, *Juniperus oxycedrus* ; *Juniperus phoenicea* ; reboisement.

**INFESTATION BY *THAUMETOPOEA PITYOCAMPA* DEN. & SCHIFF. IN TWO PINE FOREST FROM THE REGION OF DJELFA (ALGERIA) AND *IN VITRO* IMPACT OF *JUNIPERUS OXYCEDRUS* AND *JUNIPERUS PHOENICEA* ON MORTALITY AND LARVAE CONSUMPTION**

### Abstract

**Description of the subject.** The green dam, designed as a barrier to desertification, is now a home for the pine processionary in artificial pine forests, unlike natural forests, where the mixture of woody species can disfavor the presence of this insect.

**Objective.** To understand the impact of natural forest vegetation on the insect, we collected the leaves of *Juniperus oxycedrus* and *Juniperus phoenicea* from the Djellal mixed forest, and tested in vitro their biocidal effect against *Thaumetopoea pityocampa* larvae.

**Methods.** The treatment was applied by ingestion using the methanolic extracts of both plants. Mortality rates were assessed during 15 days of treatment. The weight of the crusts was weighed to estimate the anti-appetizing effect of the two plants on the larvae of the five different larval stages.

**Results.** Probit analysis estimated the LC50 at 13,427±3,456 mg/cm<sup>2</sup> for methanolic extracts of *Juniperus oxycedrus* leaves and 13,659±3,059 mg/cm<sup>2</sup> for *Juniperus phoenicea*. Mortality rates vary on average from 54.4% to 56.2% on larvae, which could be translated by a comparable anti-appetizing effect between the two plant extracts, which decreased to 0.797±0.051 g crusts/box of 10 larvae. The histological study revealed a vacuolation of the intestinal cells and the lysis of their membranes after ingestion of the various extracts.

**Conclusion.** The methanolic extracts of both plants have acted differently on the larvae. Therefore, a possible introduction of these two species (*Juniperus oxycedrus* and *Juniperus phoenicea*) into the green dam may be useful in deflecting the behavior of the insect,

**Keywords:** Infestation ; biocide effect ; natural Forest, *Juniperus oxycedrus* ; *Juniperus phoenicea* ; reforestation.

\* Auteur correspondant : BACHIR Kamilia, E-mail:kamy8989@yahoo.fr

## INTRODUCTION

Les diminutions de pullulation d'insectes phytophages en forêts naturelles peuvent être liées soit à la non-accessibilité aux plantes hôtes (barrière physique ou chimique), à l'influence des ennemis naturels, ou à la modification des conditions abiotiques d'un milieu [4, 5]. Un mélange d'essences peut jouer un rôle de barrière physique à la dispersion active d'insectes en sylviculture [6], lorsque l'hôte est physiquement caché par d'autres plantes non hôtes ayant une forme ou une couleur différente, l'apparence des arbres recherchés par l'insecte devient limitée [7].

Dans les forêts composées de résineux, les chenilles processionnaires comptent parmi les principales contraintes menaçant ces plantations, qu'elles soient naturelles ou reboisées [1]. En Algérie, le barrage vert est la limite sud de *Thaumetopoea pityocampa*, un défoliateur à incidences non négligeables sur les arbres [2]. Les pullulations de ce ravageur sont temporaires, considérables dans les forêts naturelles mais les attaques les plus sévères sont observées dans les reboisements [3,2]. Ces infestations concernent toutes les pinèdes et céderais du pays, causant des dégâts conséquents et très significatifs en régions semi-arides qui selon Zamoum [2] s'élèvent à un taux d'infestation moyen de 2,6 nids/arbre dans ces zones.

Les préparations à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (*Btk*) demeurent le seul bio-pesticide préconisé en matière de contrôle de ce lépidoptère [36, 37, 22, 38, 39]. Cependant, des cas de résistances aux toxines de *Btk* ont été notés suite à des mutations qui peuvent survenir particulièrement en fonction de leur mode d'action [40]. Pour contrecarrer cette résistance, l'alternance à l'aide de produits chimiques d'origine végétale apparaît comme une stratégie de contrôle des populations d'insectes ravageurs. En Grèce, Breuer et Devkota [19] ont étudié l'effet de *Melia azedarach* sur les larves de *T.pityocampa*.

Dans cette approche, nous avons choisi pour notre travail deux forêts rapprochées dans l'espace et exposées aux mêmes conditions abiotiques dans une région Sub-Saharienne en Algérie (Djelfa) ce, afin d'étudier le modèle de la chenille processionnaire du pin (CPP) et comprendre la diminution de ses infestations dans la forêt naturelle de Djellal, en comparaison à ses attaques massives dans le reboisement du barrage vert « Moudjbara » [2].

Nous avons donc étudié les niveaux d'infestation des pins situés à proximité ou loin des plantes non hôtes, puis tester *in vitro*, l'effet biocide et anti-appétant des espèces ligneuses issues des peuplements mixtes sur les larves de CPP ce, pour comprendre l'impact de *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea* sur les larves de *Thaumetopoea pityocampa*. Les deux espèces choisies pour le test biocide sont connu dans la littérature par leur potentiel insecticide et anti-appétant sur d'autres types d'insectes cas de *Juniperus phoenicea* sur *Tribolium confusum* démontré par Bouzuita *et al.* [17]. Notre test tend donc à mettre en évidence et pour la première fois le pouvoir biocide et anti appétant de ces deux Cupressacées contre un Lépidoptère.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. Zone d'étude

La région de Djelfa est une zone steppique algérienne localisée à près de 300 km au sud de la capitale Alger, entre 1000 et 1500m d'altitude ; et bénéficie de 300 à 400 mm de précipitations par an [13]. Djelfa est connue pour ses déficits hydriques, et la pauvreté de ses potentiels édaphiques [13] ; ces conditions extrêmes sont adéquates à un patrimoine forestier typique mélangé entre forêts naturelles et reboisements. Comme barrière à la désertification, et pour une reconstitution du complexe climacique, cette région a bénéficié d'un programme de reboisement du pin d'Alep *Pinus halepensis*, nommé « barrage vert », s'étendant sur 1500km de longueur et 20km de largeur par endroits [14].

Plusieurs reboisements se sont succédé depuis 1970 , le dernier d'une superficie de 398 ha a été réalisé en 2014 dans la localité de Moudjbara Ce dernier se caractérise par un relief plat légèrement vallonnée [15], situé dans une enclave à relief relativement homogène avec un taux de recouvrement forestier très variable entre 10 et 100% [16] où la hauteur des arbres varie entre 1,70 mètres en relief et 5,30 mètres en dépression. Dans ce travail, nous avons retenu deux forêts avoisinantes au sud de Djelfa. L'une à caractère naturel au sud-est de la région, dans la commune de Zakkar « Djellal Chergui » (Fig. 1) L'autre est un reboisement de pins d'Alep situé à « Moudjbara » (Fig. 2).

La forêt de Djellal est une formation naturelle sub-saharienne, composée principalement de *Juniperus oxycedrus*, *Juniperus phoenicea* et des *Pinus halepensis* agés pour la plupart de plus de 100 ans [16], où nous avons constaté que les attaques de l'insecte étaient faibles en présence d'autres essences sylvicoles.

Le reboisement de Moudjbara se situe à 4 km au sud-est de Djelfa, limité par les monts de Djellal Chergui au sud, la ville de Djelfa au Nord, et par d'importantes nappes alfatières à l'Est [14]. Il constitue un maillon important dans le projet du barrage vert, recouvrant plus de 13000 hectares.

### 1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé pour la préparation des solutions de traitement est constitué de feuilles de *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea* (Cupressacées) récoltés en mars 2015 dans la forêt naturelle de Djellal et stockés au laboratoire à l'ombre, et à température ambiante. Ces deux arbustes présentent selon Bouzouita *et al.* [17], et Chaouche *et al.* [18] des feuilles riches en huiles essentielles, composés phénoliques, flavonoïdes, tanins, et autres métabolites secondaires.

Nous avons utilisé aussi des aiguilles de l'arbre hôte *Pinus halepensis* récoltées régulièrement, et conservées avec leurs branches dans l'eau à la veille des traitements, pour garder leur fraîcheur et servir de nutrition aux larves traités.



Figure 1 : Forêt naturelle de Djellal (Géo-localisation: E 00 336 137°/N 34 55 688°/ 1379)



Figure 2 : Reboisement de Moudjbara (Géo-localisation: E 00 331 738°/ N 34 61 258°/ 1175)

### 1.2. Matériel entomologique

Les insectes traités dans cette étude ont été récoltés à Moudjbara une forêt reboisée proche du lieu de récolte des plantes, subissant chaque année des attaques massives de chenilles processionnaires, principal dévastateur de ces pineraies. Des colonies de larves ont été échantillonnées en Septembre (larves L1 issues des pontes) et Octobre 2013 (des larves au stade L2), puis des nids d'hivers ont été échantillonnés contenant des larves à des stades avancés. Les chenilles utilisées ont donc été récoltées de Novembre 2012 à Février 2013, un échantillonnage au hasard de 20 nids contenant des colonies de chenilles des stades (L3, L4 et L5) été prélevé. Notons que la détermination du stade larvaire a été possible particulièrement grâce à la taille des capsules céphaliques. Avant l'application des différents types de biocides, les chenilles ont été mises en élevage durant 48 heures dans des conditions semi naturelles.

### 2. Estimation du taux d'infestation par la CCP dans les sites forestiers étudiés

Nous avons estimé le taux d'infestation des arbres exprimé par le nombre moyen de nids d'hiver par arbres selon la méthode de Duleaurant [05], dans trois placettes forestières différentes, à raison de dix pins d'Alep (soit 30 arbres par forêt). Les différences de moyennes des taux d'infestation comparé entre les deux forêts ont été déduites par le test-t réalisé à l'aide du logiciel STATISTICA10

### 3. Test de l'effet biocide des essences forestières sur la CPP

Les extraits méthanoliques des deux plantes ont été préparés selon la méthode préconisée par Chaouche *et al.* [18]. Les feuilles des deux espèces *Juniperus oxycedrus* « EJO » et *Juniperus phoenicea* « EJP » sont séchées à l'air libre, mixées, remuées puis broyées en poudre. Chaque 10g de poudre de chaque espèce est macéré dans 500ml de méthanol pur pendant 48 heures à température ambiante. Les extraits méthanoliques ont été obtenus par une évaporation rotative. A partir de l'extrait sec obtenu, nous avons préparé des dilutions à 1mg, 10mg et 15mg. Ces extraits ont été conservés au réfrigérateur à 4°C. La technique de traitement adopté est celle donnée par Breuer et Devkota [19].

En ce qui concerne le dispositif expérimental, nous avons procédé à l'application de 10ml d'extraits méthanoliques sur toutes les aiguilles des branches de l'arbre hôte (*P.halepensis*) à l'aide des solutions préparées de EJO et EJP de 5mg/cm<sup>2</sup>, 10mg/cm<sup>2</sup>, 15mg/cm<sup>2</sup>. Les chenilles témoins positifs ont été traitées avec du Méthanol à 80 % alors que les témoins négatifs n'ont subi aucun traitement.

D'autres parts, 10 chenilles ont été installées dans chaque boîte de Pétri dans laquelle les branches traitées à différentes concentrations avec 5 répétitions ont été déposées. Ces traitements ont été appliqués dans les conditions du laboratoire (température ambiante, 65% d'humidité relative et une photopériode de 18 h de lumière et 6 h d'obscurité).

Durant les 15 jours de traitement, un dénombrement quotidien des chenilles mortes a été effectué. Les différences des taux moyens de mortalité calculée à l'aide du test de Dunett ont fait l'objet d'une ANOVA (ANalysis Of Variance) et d'une analyse en composantes principales (ACP) par le logiciel PAST vers.2.17 Hammer *et al.* [40]. en prenant en considération les facteur doses, stades larvaires, et espèces de plantes utilisées.. Pour déterminer la concentration létale de 50 et de 90 pourcent sur les trois concentrations utilisées, La mortalité a été enregistrée, et les CL50 et CL90 ont été calculées en prenant en compte l'analyse des probits utilisant des programmes écrits en langage R. [41].

### 4. Effet anti-appétant des traitements

Selon Breuer *et al.* [20] et Robert *et al.* [19], l'anti-appétence peut être évaluée à partir des variations du poids des larves ou de leurs excréments. Les excréments des chenilles traitées et témoins ont été pesés (à l'aide d'une balance de précision) tous les trois jours durant toute la durée d'exposition, L'effet des extraits méthanoliques de *J. oxycedrus* et *J.phoenicea* appliqués sur les aiguilles de pin a été évalué sur la consommation de l'insecte.

### 5. Effet des extraits étudiés sur l'histologie de l'insecte

L'étude histologique a été réalisée selon la méthode adoptée par auteurs [21&22]. Les larves L4 traitées ont été fixées dans le formol 10%, et conservés à 4°C. Les différents individus sont ensuite déshydratés à l'éthanol, lavés dans le toluène 100% puis enrobés de paraffine.

De fines coupes ont été effectuées à l'aide d'un microtome, puis déparaffinées dans le toluène à 100% avec de l'hématoxylineosine. Des photographies des coupes obtenues ont été faites sous un microscope (Olympus optical Co.LTD) connecté à une camera DP70.

#### 6. Screening chimique des deux espèces végétales

A partir de l'infusé de la plante, nous pouvons vérifier la présence des tanins, anthocyanes, leuco-anthocyanes et saponosides

en utilisant la méthode du screening qualitative de Solfo [23] et Harbone [24].

## RÉSULTATS

### 1. Taux d'infestation

L'analyse de la variance a révélé une différence très hautement significative entre les nombres de nids par arbre au niveau des deux forêts ( $p < 0,001$ ) (Tableau 1).

Tableau 1 : Taux d'infestations des arbres dans les stations forestières étudiées

| Forêts                  | Parcelles | Moy $\pm$ ET ; Min-Max (CV)       |
|-------------------------|-----------|-----------------------------------|
|                         |           | Nbr. De Nids                      |
| Reboisement (M)         | M1        | 1,40 $\pm$ 1,07<br>0-3 (76,78)    |
|                         | M2        | 1,40 $\pm$ 1,35<br>0-4 (96,42)    |
|                         | M3        | 1,50 $\pm$ 1,43<br>0-4 (95,58)    |
| Forêt naturelle (Dj)    | Dj1       | 0,40 $\pm$ 0,52<br>0-1 (129,10)   |
|                         | Dj2       | 0,1 $\pm$ 0,32<br>0-1 (316,23)    |
|                         | Dj3       | 0,6 $\pm$ 0,7<br>0-2 (116,53)     |
| <b>Moyenne (test t)</b> |           | 0,9*** $\pm$ 1,10<br>0-4 (122,23) |

Moy, Moyenne ; ET, écart type ; Min, minimum ; Max, maximum ; CV, Coefficient de variation (%) ; Seuil de signification statistique \*,  $p < 0,05$  ; \*\*,  $p < 0,01$  ; \*\*\*,  $p < 0,001$ .

Néanmoins, les taux d'infestation entre les arbres de chaque placette forestière sont similaires. La variabilité intergroupes est supérieure à la variabilité intra-groupes, notamment au niveau du reboisement de Moudjbara, avec des écarts allant de 1,07 à 1,4, supérieurs à l'écart type regroupé d'une valeur de 0,93. Hors qu'à Djellal ces écarts varient de 0,32 à 0,7 (inférieurs à l'écart type regroupé). Dans cette dernière, les taux d'infestation sont minimes, surtout dans la parcelle Dj2 où nous n'avons dénombré qu'un seul nid sur 10 arbres, soit une moyenne de 0,1 nid/arbre alors qu'au niveau de la parcelle Dj3, les taux d'infestations enregistrés sont plus importants et s'élèvent jusqu'à deux nids par arbre, pour une moyenne allant de 0,3 à 0,5 par arbre.

Quant à la pineraie artificielle et mono-spécifique, le taux d'infestation par la CPP observé était le plus élevé.

En effet, soit les larves ne s'installent pas sur l'arbre, soit elles tissent jusqu'à quatre nids sur un seul arbre hôte souvent un sujet jeune, à aiguilles vertes, et bien exposé au soleil (Conditions favorables). La distance entre les arbres dans cette forêt est mesurée à 2m uniquement.

A Djellal, les pins d'Alep examinés sont très distants (20-40 m) d'où le nombre d'arbres est réduit. Précisant que dans cette parcelle, il a été remarqué en outre plusieurs plants de genévriers *Juniperus oxycedrus*, *Juniperus phoenicea* (avec un taux de recouvrement de 30%) notant aussi la présence de quelques plants de chêne vert. On parle donc d'une gamme d'essences forestière assez diversifiée dans cette forêt mixte.

Effet biocide d'EJO et EJP

Les résultats indiquent un taux de mortalité des larves de  $56,2 \pm 0,38\%$  et jusqu'à  $54,4 \pm 0,62\%$  chez les larves traitées par l'extrait méthanolique EJO et EJP respectivement en comparaison avec celui observé chez les larves témoins  $15,6 \pm 0,41\%$ . L'analyse statistique a montré que les larves traitées avec les extraits méthanoliques de *J. oxycedrus* (EJO) et *J. phoenicea* (EJP), utilisés à différentes doses, présentaient en moyenne

des taux élevés de mortalité ( $56,2 \pm 0,38\%$  ; et  $54,4 \pm 0,62\%$  ; respectivement) avec une très grande différence significative ( $P < 0,001$ ) par rapport aux témoins positifs et négatifs [ $23,2 \pm 0,11\%$  et  $15,6 \pm 0,47\%$ ]. (Fig. 3).

L'analyse des probits a permis d'estimer la plus importante CL50 à  $13,427 \pm 3,456 \text{ mg/cm}^2$  et  $13,659 \pm 3,059 \text{ mg/cm}^2$  pour EJO et EJP respectivement. Ces doses sont proches de la plus forte dose utilisée pour les extraits à savoir  $15 \text{ mg/cm}^2$ . (Tableau 2)

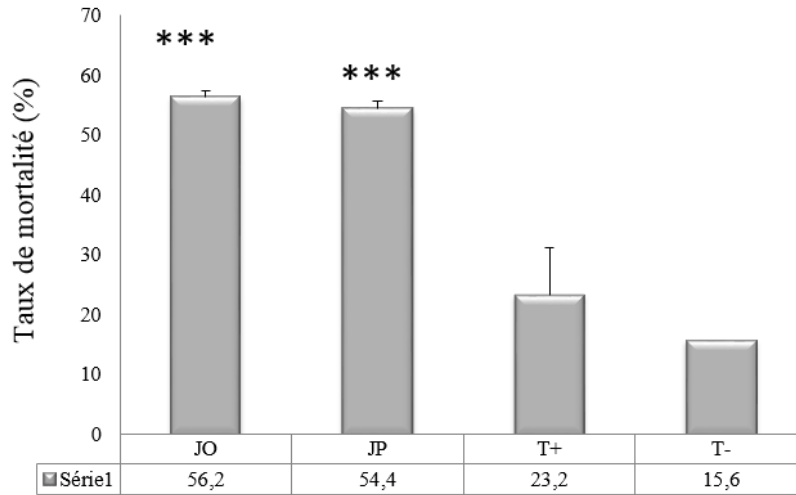


Figure 3 : Moyennes des taux de mortalité des larves de la CPP durant 15 jours d'exposition ( $p < 0,001$ ) (JO : larves traitées par *Juniperus oxycedrus*, JP : larves traitées par *Juniperus phoenicea*, T+ :Temoins traités par le méthanol, T- : Témoin non traités).

Tableau 2 : Résultats de la toxicité CL50 et CL90 des différents traitements (moyennes  $\pm$  écartypes)

| Doses Létales | EJO (mg/cm <sup>2</sup> ) | EJP (mg/cm <sup>2</sup> ) |
|---------------|---------------------------|---------------------------|
| CL50          | 13,472( $\pm 3,456$ )     | 13,659( $\pm 3,059$ )     |
| CL90          | 28,327( $\pm 10,195$ )    | 26,521( $\pm 8,216$ )     |

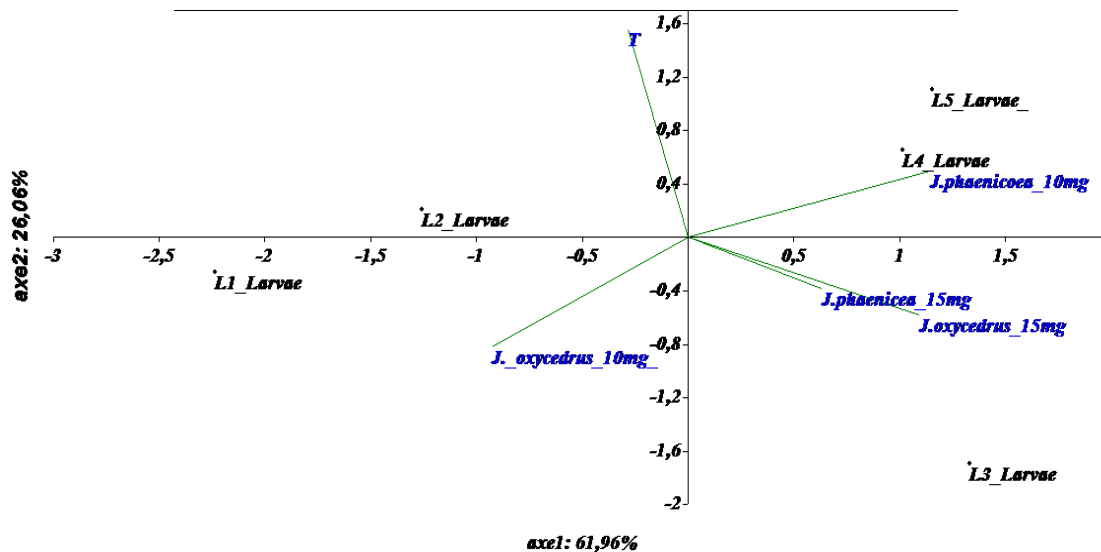


Figure 4 : Analyse en composantes principales de l'effet des différents extraits méthanoliques de EJO et EJP sur les mortalités larvaires

L'analyse des composantes principales (Fig. 4) a permis de distinguer deux groupes

- Le premier groupe concerne les mortalités de larves aux stades avancés L3, L4 et L5 corrélées aux effets des doses de, 15mg des deux espèces *J. oxycedrus* et *J. phoenicea* L. et de 10mg de *J. phoenicea* L qui ont tous donné les meilleurs résultats avec des taux de mortalité qui s'élèvent en moyenne jusqu'à  $56,2 \pm 0,38$  %
- Le second groupe est attribué, à l'effet des extraits de *Juniperus oxycedrus* ayant présenté une faible efficacité (voir comparable aux témoins non traités ou traités par du méthanol pur) uniquement contre les jeunes larves L1 et L2.

## 2. Effet anti-appétant des extraits EJO et EJP

Les larves témoins (Témoins positifs et négatifs) s'alimentent mieux à partir des aiguilles,

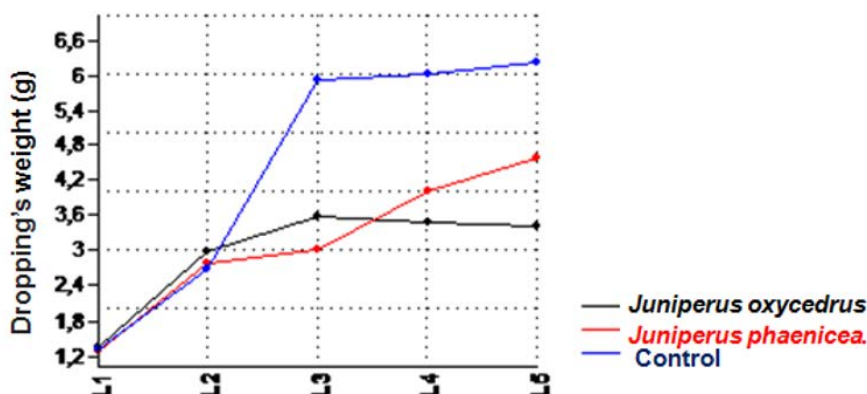


Figure 5. Poids des crottes des différents stades larvaires sous l'effet des traitements

## 3. Histologie des larves sous l'effet des différents traitements

Les coupes histologiques réalisées au niveau du tube digestif des larves traitées montrent que l'extrait méthanolique d'EJP et EJO provoquent des anomalies histologiques présentant un élargissement des cellules épithéliales, une vacuolisation du cytoplasme et l'apparition de vésicules

rejetant des crottes vertes ayant des diamètres plus importants et pesant jusqu'à  $5,901 \pm 0,062$  g/boîte de 10 larves.

Contrairement aux larves L4 traitées par les deux espèces de *Juniperus* EJO et EJP, qui rejettent très peu de crottes (diminution du poids des crottes jusqu'à  $0,797 \pm 0,051$  g /boîte de 10 larves en L4), de couleur jaunâtre, et à des masses très faibles comparativement aux témoins durant les 15 jours de traitement. La Figure 5 illustre les variations du Poids des crottes des larves durant la période du traitement. Nous remarquons que les témoins s'alimentent bien à partir du L3 quand les larves sont dotées d'un appareil buccal développé, rejettent plus de 6g de crottes. Parallèlement, les larves traitées par les deux extraits EJP et EJO consomment moins d'aiguilles, et rejettent entre 3 et 4,8g de crottes.

dans la partie apicale du lumen des cellules intestinales avec une destruction de la membrane (Fig. 6). Par ailleurs, la section intestinale des larves non traitées ne présente pas d'anomalies. La structure est normale, régulière, et organisée avec un bon développement des bordures. Le cytoplasme entouré d'une membrane adhésive basale normale.

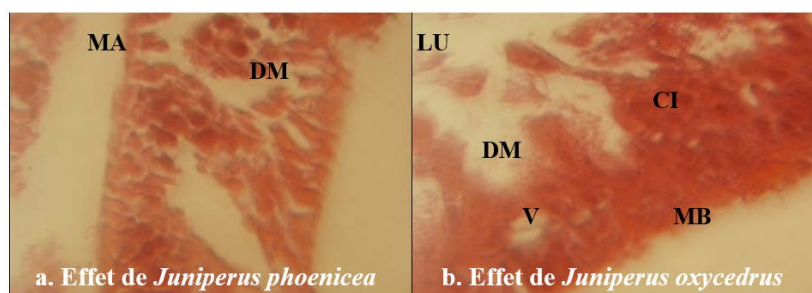


Figure 6 : L'effet histologique des extraits méthanoliques EJP (a) et EJO (b) sur les larves (LU :Lumen. MA : Membrane apicale. MB : Membrane basale. CI : Cellules intestinales. V:Vacuolisation du cytoplasme. DM : Destruction de la membrane).

#### 4. Résultats du screening chimique

Les résultats indiquent des similitudes de composition phytochimique qualitative entre les deux plantes (tableau III). On peut distinguer la présence des tanins, des leuco-anthocyanes, des flavonoïdes, des quinones, des terpènes et stéroïdes. Seul *Juniperus oxycedrus* contient des alcaloïdes non retrouvés dans le genévrier rouge qui, en revanche, présente des saponosides (Tableau 3).

Tableau 3 : Screening chimique des deux espèces *J. oxycedrus* et *J. phoenicea*

| Composés               | <i>J. oxycedrus</i> | <i>J. phoenicea</i> |
|------------------------|---------------------|---------------------|
| Tannins                | +                   | +                   |
| Anthocyanes            | -                   | -                   |
| Leuco-anthocyanane     | +                   | +                   |
| Saponosides            | -                   | +                   |
| Alcaloïdes             | +                   | -                   |
| Flavonoïdes            | +                   | +                   |
| Cardinolides           | -                   | -                   |
| Terpènes and Stéroïdes | +                   | +                   |
| Quinones               | +                   | +                   |
| Amidon                 | -                   | -                   |
| Coumarines             | -                   | -                   |

+ Présence - Absence

## DISCUSSION

L'existence d'une barrière physique à l'insecte CPP ou à la reconnaissance de son hôte peut être supposée vu l'écart enregistré entre les taux d'infestation des arbres hôtes dans les deux forêts étudiées. Cette hypothèse peut être retenue vu la différence des niveaux d'infestation détectée entre les pins situés à proximité ou loin des plantes non hôtes.

Plusieurs études se sont penchées sur l'effet de la végétation environnante sur les niveaux d'infestation de jeunes plants d'arbre. Les niveaux d'infestation de *Rhyacionia frustrana* sur des jeunes plants de pin Taeda (*Pinus taeda*) sont notamment limités par la présence de végétation haute et dense [27], de même que les infestations de *Pissodes strobi* sur pin gris (*Pinus banksiana*) [28]. Ainsi, le papillon femelle de la processionnaire *Ochrogaster lunifer* oriente son vol de ponte vers des silhouettes d'arbres se détachant sur fond clair. Aussi, la distance entre les arbres, leur âge, la gamme d'essences forestières composant la forêt mixte, la diversité ou encore la variation du volume d'arbres dans cette dernière peuvent impacter les taux d'infestation par l'insecte.

En effet, une étude de Jactel *et al.* [25] a démontré l'existence et l'efficacité de ce type de mécanisme (biocénotique) pour limiter les niveaux d'infestation de la processionnaire. Selon Floater [26], la présence de relations biocénotiques au sein d'une végétation massive autour de l'arbre hôte se traduit par une réduction de ses niveaux d'infestation.

Par ailleurs, l'influence des conditions climatiques ne peut pas être impliquée dans la variation des infestations entre les deux forêts car ce sont deux pinèdes rapprochées dans l'espace et exposées aux mêmes conditions climatiques, situé selon le climatogramme d'Emberger dans l'étage bioclimatique semi-aride [43]. Cependant, il serait intéressant de connaître la qualité du sol et son impact sur la pullulation de l'insecte dans les deux stations. Certains composés émis par des essences feuillues non hôtes sont connus pour avoir des effets répulsifs sur différentes espèces de coléoptères saproxyliques [29]. Une réduction des infestations de rondins de pin par *Ips sexdentatus* notamment été démontrée quand ces piles étaient entourées de branches de bouleau [25].

Les extraits méthanoliques des deux espèces de genévrier, EJO et EJP utilisés contre la processionnaire du pin, ont révélé un effet biocide sur l'insecte comparativement aux témoins. La mortalité observé chez les témoins négatifs (aucun traitement), c'est une mortalité naturelle de 15,6% qui selon [01] est négligeable quand elle ne dépasse pas 19%. Quant aux témoins positifs, le méthanol a augmenté le taux de mortalité dans ces derniers jusqu'à 23,2%. Le méthanol présente donc une faible toxicité maintenant un écart important avec les préparations à base de plantes qui ont permis d'enregistrer des taux de mortalité beaucoup plus élevés. L'effet des substances extraites par le méthanol à partir des deux espèces était important même après le développement des larves devenues matures en L4. La CL50 s'est révélée élevée en fonction du développement des larves, la plus importante était enregistrée à l'avant dernier stade de leur cycle à savoir les L4.

Les insecticides à base de *Bacillus* sont les seuls utilisés et les plus efficaces contre ce type de lépidoptères agissant en particulier sur les jeunes larves [30, 1, 31]. Nos deux traitements EJO et EJP ont présenté une efficacité comparable au *Bacillus t.* utilisé par [32], durant les stades avancés où l'insecte devient plus robuste.



*Bacillus thuringiensis* à Gram-positive est une bactérie capable de produire des toxines insecticides au cours de son développement, et sa sporulation. L'ingestion de toxines à la surface du feuillage de pin d'Alep a conduit à la mort des chenilles, ce qui s'applique uniquement sur les premiers stades larvaires, par un traitement aérien de décembre à février [33]. Selon Cabral [32], les DL50 du *Bacillus thuringiensis* sont plus élevées à la fin des phases larvaires quand le poids des larves devient plus important.

En méditerranée, notamment en région littorale (sur terrain ou au laboratoire); de nombreuses recherches sont menées impliquant le contrôle des larves de la CPP [1, 2, 4, 5, 19, 30, 39]. Ces travaux s'orientent vers d'autres alternatives biologiques au *BtK* à qui on dénote une résistance des larves [36, 37, 38, 39]. Les solutions s'ouvrent actuellement sur les ennemis naturels à la CPP, les micro-organismes entomophages ou les extraits de plantes aromatiques et médicinales [1, 22, 19]. Dans cette approche, peu de plantes ont été testées sur ce type de lépidoptères. Depuis 1992, Breuer et Devkota [19] travaillent en Grèce sur les extraits de *Melia azedarach* (Méliacées) testés sur la CPP. Cependant, aucune plante de la famille des Cupressacées n'a jamais fait l'objet d'un test biocide contre ce ravageur. Selon Breuer et Devkota [19], les métabolites secondaires issus des plantes et dissous dans le méthanol peuvent être à l'origine d'une anti-appétence ayant dissuadé les larves de la CPP et décliner sa consommation durant les 15 jours du traitement; cette période est selon Aribi *et al.* [34], la durée nécessaire pour canaliser son énergie et tisser son nid d'hiver pour une meilleure protection grégaire, et se développer d'un stade à un autre.

Cette hypothèse est vérifiée par les résultats sur le poids des crottes des différentes larves traitées, où l'anti-appétence est perçue chez les larves, pour lesquelles la consommation s'accélérait chez les témoins mais déclinait pour les larves traitées.

Dans la même optique, l'étude histologique au niveau du tube digestif a permis de détecter des anomalies sur le tissu épithélial des larves traitées. Selon Vago [40], l'histologie d'une CPP saine ne doit présenter aucun changement dans l'aspect du tube digestif, elle ne présente donc pas d'hypertrophie du cytoplasme de l'épithélium, pas de vacuolisation ou de lyse des parois cellulaires.

Dans notre travail, les anomalies observées se résument en une vacuolisation importante du cytoplasme des cellules intestinales accompagnée de destruction membranaire de quelques cellules, avec une importante ressemblance entre l'effet de l'extrait méthanolique des deux plantes comparativement aux témoins. Ce qui explique la baisse progressive de consommation des aiguilles de pin par les chenilles, évaluée durant les 15 jours de l'essai. Nos résultats sont conformes à ceux de Benkhedher *et al.* [22] qui ont observé le même effet sur les cellules intestinales des larves de *Spodoptera littoralis*.

D'après Chaouche *et al.* [18], l'analyse par HPLC-MS des extraits méthanoliques des plantes a montré que le genre *Juniperus* contient essentiellement dans l'écorce des racines 76.1±2,8mg GAE/gDW de composés phénoliques, 39,1±2,5mg CE/gDW de flavonoïdes et 31.3±2,1mg CE/gDW de tannins, avec une légère différence phytochimique intra-spécifique qui, selon les résultats du screening, réside dans la teneur en alcaloïdes chez le genévrier oxycèdre, et dans la teneur en saponosides chez le genévrier rouge *Juniperus phoenicea*. Bouzouita *et al.* [17] mentionnent que les mono terpènes issus de *Juniperus phoenicea*. Sont à l'origine de l'effet létal enregistré contre l'insecte *Tribolium confusum*.

Ces résultats, particulièrement l'effet biocide et anti-appétant de ces deux espèces, peuvent déboucher sur un contrôle sylvicole contre CPP par des plantations mixtes de ces deux espèces dans les reboisements artificiels. Les peuplements forestiers de ce type subissent généralement moins de dommages d'herbivores que dans les peuplements purs. Cette diversification réduit généralement la colonisation par la chenille processionnaire du pin et par son cortège parasitaire [35].

## CONCLUSION

Le mélange des espèces sylvoles peut contribuer à l'orientation de ce ravageur vers les monocultures reboisées. Les substances naturelles synthétisées par certains résineux des forêts naturelles peuvent impacter le développement de l'insecte, le cas du genévrier oxycèdre EJO et du genévrier rouge EJP à partir desquels les extraits méthanoliques présentés à différentes doses comme source nutritive à l'insecte ont révélé un effet biocide sur ce dernier après 15 jours de traitements.

Nous suggérons donc de poursuivre cette étude *in vivo* voir dans d'autres stations afin de pouvoir se prononcer sur ces espèces de genévrier en terme de lutte biologique via une proposition de reboisement dans les zones les plus dévastées par la CPP.

L'efficacité de ces deux traitements s'est avérée importantes même sur les chenilles matures du stade L4, ce qui converge avec un effet anti-appétant déclinant la consommation des aiguilles de pin par l'insecte, effet traduit par une diminution du poids des crottes par rapport aux témoins.

Il serait donc intéressant de tester les molécules présentes dans les extraits de ces deux espèces ligneuse voir effectuer un fractionnement bio-guidé sur les composés des familles chimiques contenus dans les deux traitements EJO et EJP, composés phénoliques, flavonoïdes, alcaloïdes et saponosides, afin de vérifier leur contribution à cette réponse à la fois anti-appétante et biocide.

## REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier ceux qui nous ont aidés dans la réalisation de ce travail à savoir le laboratoire d'entomologie forestière de l'institut national de recherches forestières d'Alger « Algérie », et le laboratoire de bio-pesticides du centre de biotechnologie de Sfax « Tunisie ».

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. **Sebti, S. (2015)**. Recherche écologique et répartition spatio-temporelle de la processionnaire *Thaumetopoea pityocampa* Denis et Schiffermüller dans la région de l'Atlas blidéen. Thèse de doctorat en sciences Agronomiques, l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique, 108p
- [2]. **Zamoum M., (1998)**. Données sur la bio-écologie, les facteurs de mortalité et la dynamique des populations de *Thaumetopoea pityocampa* Denis et Schiffermüller (Lep., Thaumetopoeidae) dans les pineraies subsahariennes de la région de Djelfa (Algérie). Thèse de Doctorat, Univ des sciences de Rennes I, France, 247 p.
- [3]. **Guit B., (2016)**. Croissance et état sanitaire des peuplements de pin d'Alep (*Pinus halepensis* mill.) Dans le massif forestier de Senalba (région de Djelfa), Thèse de doctorat en sciences agronomiques, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, Alger, 107p.
- [4]. **Jactel, H. & Brockerhoff, E. G. (2007)**. Tree diversity reduces herbivory by forest insects. *Ecology Letters*, 10: 835-848.
- [5]. **Duleaurant A.M., (2010)**. Effet de la diversité des essences forestières sur les niveaux de population de la processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa*), à différentes échelles spatiales, dans la forêt des Landes de Gascogne. Thèse de Doctorat, Université Bordeaux 1, 151p.
- [6]. **Watt A., (1992)**. Insect pest population dynamics: Effects of tree species diversity. *The ecology of mixed-species stands of trees* (ed. by Cannell, M.G.R., Malcolm, D.C. & Robertson, P.A.), Blackwell, Oxford, p. 267-275.
- [7]. **Moore R., Francis B.J., (1991)**. Herbivory by insects on oak trees in pure stands compared with paired mixtures. *Journal of Applied Ecology*, (28): 290-304.
- [8]. **Prokopy R.J., Owens E.D., (1983)**. Visual detection of plants by herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, (28): 337-364.
- [9]. **Visser J. H., (1986)**. Host odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*, (31): 121-144.
- [10]. **Zhang Q., 2001**. Olfactory recognition and behavioural avoidance of angiosperm non-host volatiles by conifer bark beetles. Ph.D. thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp. Jactel, H.
- [11]. **Zhang Q.-H. & Schlyter F., (2004)**. Olfactory recognition and behavioural avoidance of angiosperm non host volatiles by conifer-inhabiting bark beetles. *Agricultural and Forest Entomology*, (6): 1-20.
- [12]. **Risch S. J., (1981)**. Insect herbivore abundance in tropical monocultures and polycultures: and experimental test of two hypotheses. *Ecology* (62): 1325-1340.
- [13]. **Kadik B., (1983)**. Contribution à l'étude du Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) en Algérie. Ecologie, dendrométrie, morphologie. Thèse de doctorat d'état en sciences Naturelles. Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, 261p.
- [15]. **Chakali G., (1985)**. Etude de la bio-écologie de la tordeuse du Pin, *Rhyacionia buoliana* Schiff. *Lepidoptera, Tortricidae* dans la région de Djelfa Moudjbara. Thèse de Magistère en sciences agronomique. Institut National d'agronomie., El Harrach. Alger 95p.

- [16]. **Derouèche H., (2015).** Télédétection et analyse des dépérissements des forêts Naturelles en zone semi-aride (Djelfa), Thèse de Doctorat en sciences agronomiques, Ecole National Supérieur d'Agronomie, El Harrach. Alger 183p
- [17]. **Bouzouita N., Kachouri F., Benhalima M. & Chabouni M. (2008).** Chemical composition and antioxidizing, antimicrobial and insecticide activity of *Juniperus phoenicea* essential oil. *The Journal of the Chemical Society of Tunisia*, 10: 119-125.
- [18]. **Chaouche T.M., Hadouchi F., Atik-Bekara F., Ksourri R., Azzi R., Boucherit Z., Choukri T. & Larbat R. (2014).** Antioxidant, haemolytic activities and HPLC-DAD-ESI-MS characterization of phenolic compounds from root bark of *Juniperus oxycedrus subspoxycedrus*. *Industrial Crops and Products*, (64): 182-187.
- [19]. **Breuer M., Devkota B., (1990).** Control of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. And Schiff.) By extracts of *Melia azedarach* L. (Meliaceae). *Journal of Applied Entomology* 110: 128-135.
- [20]. **Robert P., Blaisinger P., Bouchery Y, Simonis M., Kienlen J., Muckensturm B., Riss B., Pieger D., (1987).** Influence of bisabolangelone, an antifeedant sesquiterpenoid, on the development of *Mythimna (Pseudaletia) unipuncta* Haw. (Lepidoptera, Noctuidae) *Agronomie* 3:167-174.
- [21]. **Ruiz L.M., Segura C., Trujillo J., Orduz S., (2004).** In vivo binding of the Cry11Bb toxin of *Bacillus thuringiensis* subsp. medellin to the midgut of mosquito larvae (Diptera: Culicidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 99, 73-79.
- [22]. **Ben Khedher S., Boukedi H., Dammak M., Kilani-Feki O., Sellami-Boudawara T., Abdelkefi-Mesrati L., Tounsi S., (2017).** Combinatorial effect of *Bacillus amyloliquefaciens* AG1 biosurfactant and *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa16 toxin on *Spodoptera littoralis* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, (144):11-17.
- [23]. **Solfo R.R., (1973).** Etude d'une Plante Médicinale Malgache *Buxus madagascariensis* Bail et ses variétés. Edition: O.R.S.T.O.M.
- [24]. **Harborne J. B., (1998).** Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis, *Chapman and Hall Thomson Science* (U K), Third edition, p. 203-234.
- [25]. **Jactel H., Birgersson G., Andersson S., Schlyter F., (2011).** Non-host volatiles mediate associational resistance to the pine processionary moth. *Oecologia*, 166:703-711.
- [26]. **Floater G. J., Zalucki M. P., (2000).** Habitat structure and egg distributions in the processionary caterpillar *Ochrogaster lunifer*: lessons for conservation and pest management. *Journal of Applied Ecology* 37: 87-99.
- [27]. **Sun J., Kulhavy D. L., Yan S.-C., (1998).** Prediction models of Nantucket pine tip moth, *Rhyacionia frustrana* (Comstock) (Lep., Tortricidae) infestation using soil and tree factors. *Journal of Applied Entomology* 122: 1-3.
- [28]. **Belloq M. I., Smith S. M., (1995).** Influence of reforestation technique, slash, competing vegetation, and duff depth on the overwintering mortality of *Pissodes strobe* (Coleoptera: Curculionidae), the white pine weevil. *Forest Ecology and Management* 78: 1-10.
- [29]. **Schlyter F., Zhang Q., Anderson P., Byers J. A., Wadhams L. J., Lofqvist J., Birgersson G., (2000).** Electrophysiological and behavioural responses of *Tomicus piniperda* and *Tomicus minor* (Coleoptera: Scolytidae) to non-host leaf and bark volatiles. *Canadian Entomologist* 132: 965-981.
- [30]. **Demolin G., (1987).** la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. Au Mont Ventoux. *Etude Vauclusiennes*, n° special(3):157-173.
- [31]. **Zamoum M., Demolin G., Martin J.C., (1997).** Efficiency of a microbiological insecticide (Foray 48B) tests on the stages L3 and L4 of the pine processionary *Thaumetopoea pityocampa* (Den. And Schiff.) In the reforestations of Moudjebara (Djelfa, Algeria). *Annals of the Forest Research in Algeria*, 1: 3-41.
- [33]. **Martin J.C. & Mazet R., (2001).** Winter control of pine processionary *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Phytoma*, (540): 32-35.
- [34]. **Aribi N., Rizk G., Soltani N., (1988).** Etude de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera Notodontidae) et effets de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Annales Société Entomologique de France*, 4: 476-477.

- [35]. **Martin J.C., (2005).** La processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. Biologie et protection des forêts. Institut national de recherches agronomiques INRA, France. 61p.
- [36]. **Dutton, A., Romeis, J. and Bigler, F. (2005).** Effects of Bt maize expressing Cry1Ab and Bt spray on *Spodoptera littoralis*. *Entomol. Exp. Appl.*, 114: 161-69.
- [37]. **Bergamasco, V., Mendes, D., Fernandes, O., Desidério, J. and Lemos, M. (2013).** *Bacillus thuringiensis* CryIIa10 and Vip3Aa protein interactions and their toxicity in *Spodoptera* spp. (Lepidoptera). *J. Invertebr. Pathol.*, 112: 152-58.
- [38]. **Carisse, O. and Boyetchk, S. (2016).** L'applicabilité de la lutte biologique dans un contexte d'agriculture intensive en Amérique du Nord, la lutte biologique: regards transatlantiques académie d'Agriculture de France, 1-9.
- [39]. **Zamoum, M., Martin, J., Bensidi, A. and Bahmane, R. (2016).** Immediate and delayed mortality of the pine processionary moth treated by *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki 3a, 3b in the sub-Saharan pine reforestation. *Turkish J. Forest.* 17: 76-79.
- [40]. **Hammer, O., Harper, R. & R Yan, P .D. (2001).** Past palaeontological statistics software package for education and data analysis Palaeont Electr on 9)2001()1(4, [http://palaeoelectronica.org-](http://palaeoelectronica.org/) /1 2001/ Past issue - .01 htm.
- [41]. **Venables, W.N., Smith, D.M., (2004).** The R. development core team. An introduction to R. version 1.9.1. <<http://www.r-project.org/>>.
- [42]. **Vago C., (2006).** Virose intestinale chez la processionnaire du Pin *Thaumetopoea pityocampa*, *Entomophaga* 3:35-37.
- [43]. **Sbaa B. et Benrima A., (2017).** Biodiversité acridienne et floristique en milieux stéppiques naturels et reboisés dans la région de Moudjbaradjeffa (Algérie) *Revue Agrobiologia* 7(1): 321-333