

**STATUT SPECIFIQUE DE L'HYLESINE
Tomicus (Coleoptera-Scolytidae)
DE LA REGION SEMI-ARIDE DE DJELFA
(ALGERIE)**

CHAKALI G.

Département de Zoologie Agricole et Forestière
Institut National Agronomique
El-Harrach 16200 Alger (Algérie).

R E S U M E

L'analyse moléculaire par séquençage du gène de la cytochrome oxydase nous a permis d'identifier de l'hylésine, *Tomicus destruens*, confondue depuis longtemps avec l'espèce voisine *Tomicus piniperda*. L'espèce identifiée est impliquée dans les dépérissements enregistrés depuis plus d'une décennie dans les forêts naturelles de *Pinus halepensis* de la région de Djelfa. La comparaison établie entre des séquences de diverses populations méditerranéennes a mis en évidence un polymorphisme nucléotidique comparable entre plusieurs provenances de l'hylésine. La population algérienne forme un sous groupe proche des populations d'origine Grecque et Espagnole, mais reste détachée dans le dendrogramme phylogénique de l'espèce, *Tomicus destruens*. La position géographique particulière, et les conditions environnementales locales en zones semi-arides, notamment l'altitude et les facteurs climatiques pourraient expliquer cette différenciation génétique.

Mots clés : Statut, *Tomicus*, pin d'Alep, semi-aride, dépérissement, Algérie.

**SPECIFIC STATUTE OF THE PINE SHOOT BEETLE,
Tomicus (Coleoptera-scolytidae)
FROM THE SEMI-ARID AREAS
(DJELFA-ALGERIA)**

S U M M A R Y

The researches in Aleppo pine plantations to semi-arid areas have resulted in the specific position of the pine shoot beetle. The sequence of cytochrome oxydase analysis has confirmed us the specific, *Tomicus destruens*, implied in the decay recorded in the natural forests of *Pinus halepensis* in the area of Djelfa. The examination of the sequences of various Mediterranean populations has brought the comparable nucleotide polymorphism between several sources. The Algerian population forms a sub group close to the populations from Greek and Spanish origin, but remains a part in the phylogeny dendrogramme of the specie, *Tomicus destruens*. The specific geographical position, and the local environmental conditions in semi-arid areas, in particularly the altitude and the climatic conditions could the haplotype's position.

Key words : Statute, *Tomicus*, pine of Alep, semi-arid, decay, Algeria.

**التحديد النوعي لـ *Tomicus* (Coleoptera-Scolytidae)
المتواجد في غابات منطقة الشبه الجافة
(الجلفة - الجزائر)**

ملخص

التحليل الجزيئي لجين *Cytochrome oxydase* بين نوع *Tomicus destruens* التي كانت تتشابه مع *piniperda Tomicus* وضحت التباين النوعي بين هاتين الحشرتين. النوع المحدد يتسبب منذ العشرية التالية في موت أشجار الغابات الطبيعية من الصنوبر الحلبي في منطقة الجلفة. المقارنة بين مختلف سلالات بعض مناطق البحر الأبيض المتوسط أظهرت للوجود أشكال متقاربة بينهما. سلالة الجزائر تشكل مجموعة قريبة من سلالات ذات مصدر إسباني وإغريقي بينما تبقى منفصلة عن المخطط القياسي الشجري. إن الموقع الجغرافي، والأحوال البيئية للمنطقة، بالخصوص الارتفاع والعوامل المناخية قد تمكن من تفسير وضعية السلالة الجزائرية.

كلمة مفتاحية: نوع، *Tomicus*، الصنوبر الحلبي، موت لأشجار، الجزائر.

INTRODUCTION

Le genre *Tomicus* (Latreille, 1802) regroupe six espèces réparties dans diverses pinèdes européennes, asiatiques, nord américaine et nord africaine. Les espèces *Tomicus brevipilosus* EGGERS 1929, *Tomicus pilifer* SPESSIVTSEV 1919 et *Tomicus puellus* REITTER 1894 se localisent dans la région asiatique de l'Est et du centre et demeurent absentes en Europe (WOOD et BRIGHT, 1992 in GALLEGO et GALIAN, 2001). *Tomicus minor* HARTIG 1834 se localise en Europe et en Asie. Par ailleurs, *Tomicus piniperda* présente une plus large distribution eurasiatique (BROWNE, 1968). En Europe, l'espèce présente une vaste extension en France, en Belgique, en Allemagne, en Autriche, en Hongrie, en Grèce, en Italie et en Scandinavie (CHARARAS, 1962). La présence et l'importance de l'espèce, ont été signalées par plusieurs autres auteurs notamment par VALLET (1981), LANGSTROM (1983) en Suède par SAARENMAA (1985) en Finlande, par DEMAKOV (1989) en Russie, par ZUMR (1989) en République tchèque, par KOHNLE *et al.* (1992) en Allemagne. En Amérique du Nord, elle a été introduite en 1992 et vers 1996 elle s'est propagée dans 186 régions des états : Illinois, Indiana, Maryland, Michigan, New-York, Ohio, Pennsylvania et l'Est de Virginie. De même, elle a été retrouvée dans 17 régions de la province canadienne (HAACK *et al.*, 1997).

De sévères attaques ont été observés au sud de l'Italie au cours des années quatre-vingt (TRIGGIANI, 1984). Au Maroc et en Tunisie, *Tomicus destruens*, probablement confondu avec *Tomicus piniperda*, a été signalé dans divers peuplements de pins (CHARARAS, 1977).

La sixième espèce très peu connue, *Tomicus destruens* WOLLASTON 1865, très souvent confondue avec *Tomicus piniperda* se localise dans la région circumméditerranéenne, limitée à l'Europe méditerranéenne, à l'Espagne méridionale, au Portugal et à l'Afrique du nord (CARLE, 1973). Elle reste très répandue au nord et au centre de l'Italie (NANNI et TIBERI, 1997) et au nord de l'Espagne Nordique (GALLEGO et GALIAN, 2001) et au sud de la France dans les régions chaudes de basses altitudes (ABGRALL et SOUTRENON, 1991). La répartition géographique de l'espèce *Tomicus destruens* reste à clarifier davantage dans les divers autres pays méditerranéens.

La distinction entre *Tomicus piniperda* et *Tomicus destruens* a suscité beaucoup d'attention. LEKANDER (1971) propose une séparation entre les deux espèces considérées depuis longtemps comme étant une seule espèce, *Tomicus piniperda* décrite par plusieurs auteurs notamment par FEYTAUD (1946) ; BALACHOWSKY (1949) et CHARARAS (1962) SCHWENKE (1974) et GRÜNE (1979).

Les renseignements concernant *Tomicus destruens* sont assez limités et souvent contradictoires par contre chez *Tomicus piniperda*, ils témoignent en revanche d'études plus développées.

En dehors de toute particularité taxonomique, CARLE (1973) constate que les seuls caractères discriminants portent sur le cycle biologique. La

période de l'essaimage de *Tomicus destruens* débute en automne par contre celle de *Tomicus piniperda* s'effectue à la fin d'hiver avec un décalage temporel pour les différentes phases ; larvaire, nymphale, émergence imaginaire et période nutritionnelle des imagos.

Des essais de croisement tentés entre diverses provenances de *Tomicus piniperda* et de *Tomicus destruens* donnent des progénitures fertiles dans tous les cas et pour toutes les combinaisons réalisées.

Compte tenu des diverses similitudes relevées entre les deux espèces définies par LEKANDER (1971), notamment les possibilités de croisement et les chevauchements des aires de répartition, CARLE (1973) conclut que leurs variations morphologiques et écologiques révèlent plus de différences écotypiques que spécifiques.

Récemment, l'investigation entreprise sur l'ADN ribosomal par GALLEGO et GALIAN (2001) sur des populations de diverses provenances de *Tomicus piniperda* et de *Tomicus destruens* a permis une séparation spécifique. De plus, l'étude conduite par Kerdelhue *et al.* (2002) en France sur la structure génétique de l'ADN mitochondriale de différentes populations en France a mis en évidence la différence génétique entre les populations de *Tomicus sp.*, validant le statut d'espèce pour *Tomicus destruens*. L'auteur précité note que les deux espèces ont été retrouvées sympatriquement sur des arbres de pin.

L'analyse de l'ADN mitochondrial de diverses populations de *Tomicus*, portant sur l'étude du gène de la cytochrome oxydase présenté par KOHLMAYR *et al.* (2002), confirme davantage la séparation des espèces *Tomicus piniperda* et *Tomicus destruens*. La position des nucléotides a permis de distinguer deux haplotypes chez les populations de *Tomicus piniperda* et trois haplotypes chez les populations de *Tomicus destruens*.

L'étude rapporte les premières informations sur la structure génétique, validant le statut taxonomique de l'espèce *Tomicus* présente dans les peuplements de pin d'Alep en zone semi-aride d'Algérie (Djelfa).

MATERIEL ET METHODES

Discrimination par marquage moléculaire

Une vingtaine d'adultes mâles et femelles de l'hylésine fraîchement récoltés en fin d'évolution nutritionnelle au début de septembre de l'année 2003 ont été conservés dans de l'alcool 95° en vue d'un marquage moléculaire de l'ADN de l'espèce. L'étude a concerné l'extraction de l'ADN mitochondrial et a porté sur le gène de la cytochrome oxydase (déduction de la séquence). La méthodologie adoptée est celle proposée par KOHLMAYR *et al.* (2002).

En plus de la population des zones semi-arides, l'étude a concerné 8 autres populations méditerranéennes d'origines différentes afin de comparer la structure phylogénique et de l'espèce de *Tomicus* issue de différentes zones géographiques.

Extraction de l'ADN moléculaire

L'extraction de l'ADN a concerné la tête et le thorax de 2 à 4 individus séparément pour les deux espèces *Tomicus piniperda* et *Tomicus destruens*. Les antennes, les élytres et l'abdomen n'ont pas été pris en considération car ils renferment souvent des champignons et des nématodes dont l'ADN peut interférer avec l'ADN de *Tomicus*. Les parties isolées ont été broyées dans de l'azote liquide. Afin de garantir une pureté maximale de l'ADN, les protéines dans l'extrait ont été détruites à l'aide d'une protéase.

Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

La PCR est une technique très puissante de l'amplification de l'ADN, qui nécessite l'emploi d'une polymérase particulière, la Taq-polymérase. Elle permet de reproduire à volonté des fragments d'ADN d'une séquence donnée.

Après dénaturation en deux brins monocaténaire à une température de 94°C l'hybridation se fait par les amorces sur la cible à une température de 56°C et la synthèse d'un nouveau brin s'établit à partir des amorces par la Taq-polymérase à une température de 72°C. Il en résulte par la suite deux ADN bicaténaire (n cycles permettent d'obtenir 2ⁿ copies d'ADN).

Deux amorces (sens et anti-sens) spécifiques s'hybrident à l'ADN mitochondrial cible en présence d'un excès de désoxynucléotides (dNTP) et une Taq-polymérase (ADN Polymérase thermostable) synthétise le brin complémentaire. Les amorces utilisées sont ; ATATTGGAATCACTCAAT TGAG pour l'espèce *Tomicus piniperda* et TTCTTGGAAT CATTCAATAGA AGTC pour l'espèce *Tomicus destruens*.

Après récupération de la bande correspondant au gène de la cytochrome oxydase, un séquençage automatique s'en est suivi.

RESULTATS

Les résultats obtenus sont regroupés avec ceux de Kohlmayr et al. (2002) dans le tableau 1 afin de les comparer avec les haplotypes mis en évidence pour les deux espèces *Tomicus piniperda* et *Tomicus destruens*.

Tableau 1 : Position de l'haplotype algérien par rapport aux haplotypes méditerranéens analysés

Espèces et haplotypes	Position du nucléotide					Références	
	72	219	231	240	336		345
<i>Tomicus piniperda</i>							
Haplotype I	T					KOHLMAYR et al. (2002)	
Haplotype II	C						
<i>Tomicus destruens</i>							
Haplotype I	C	A	C	G	A		
Haplotype II	C	A	C	G	G		
Haplotype III	T	G	T	A	A		
Haplotype Algérien	C	A	T	G	A	Présente étude	

Par déduction, il apparaît clair que la position de l'espèce algérienne en provenance des zones semi-arides est plus proche à l'haplotype I de *Tomicus destruens*. Seul à la 240^{ème} position, l'haplotype I contient un C par contre l'haplotype algérien renferme un T. Ce qui nous permet de dire qu'il s'agirait d'un quatrième haplotype chez l'espèce *Tomicus destruens*

La comparaison des séquences de diverses populations méditerranéennes de *Tomicus destruens* avec la population algérienne a révélé un polymorphisme nucléotidique ayant conduit à un classement selon le diagramme présenté à la figure 1.

La population algérienne semble former un sous groupe à part proche des populations, 4, 3 et 6 correspondant aux populations d'origines Grecque et Espagnole. En outre la population en provenance de la zone semi-aride (Algérie) a tendance à se détacher des populations Italienne et Espagnole (1, 2, 8 et 9). Ceci pourrait être expliqué par les caractéristiques environnementales notamment les conditions d'adaptation difficiles et particulières en zones semi-arides qui se caractérisent par une altitude moyenne de 1200 mètres, par des étés chauds et des hivers rudes avec des écarts climatiques très importants au cours du temps.

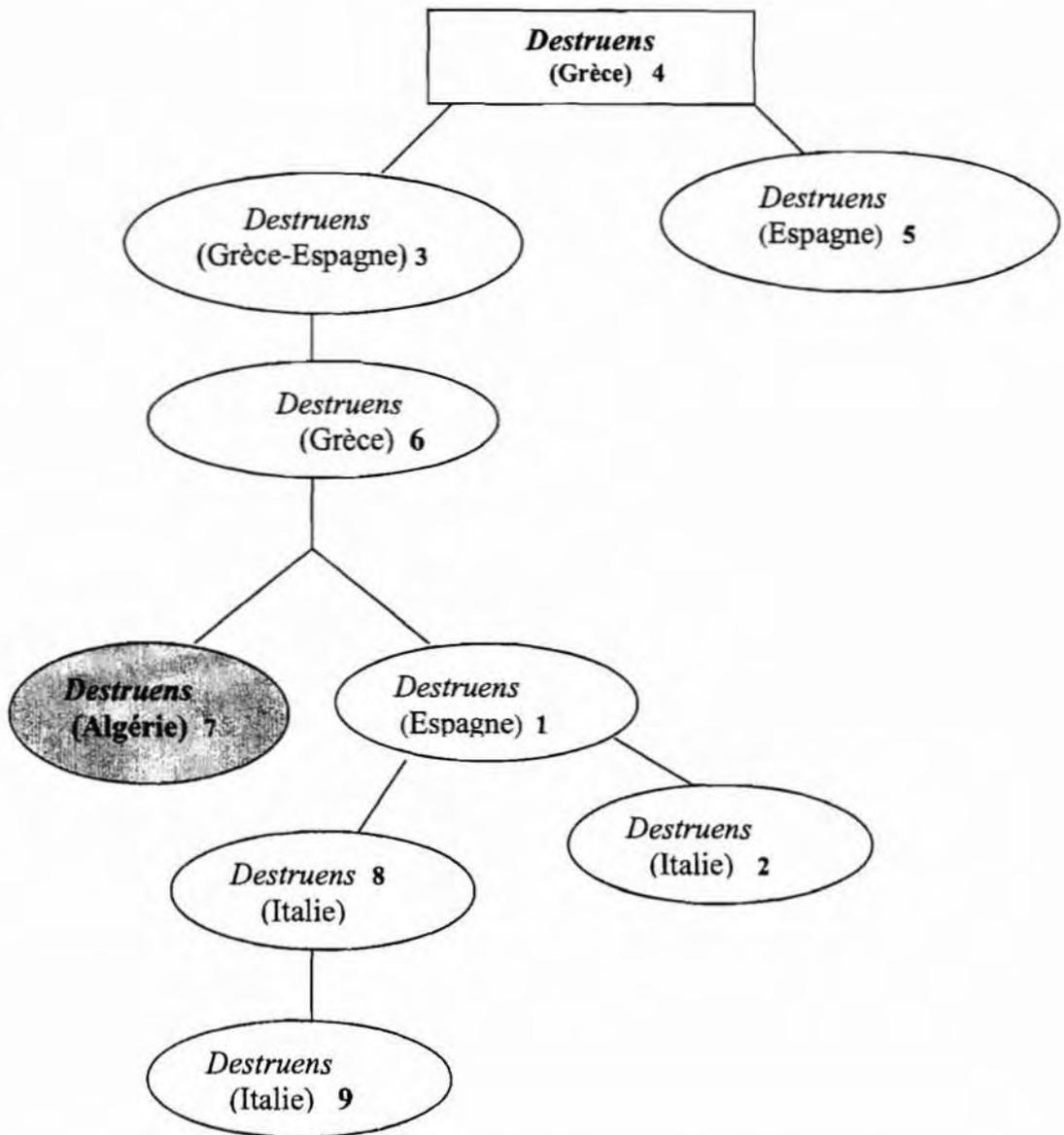


Figure 1 : Place de d'hylésine *Tomiscus* sp algérien dans le dendrogramme phylogénétique d'autres origines méditerranéennes de *Tomiscus*

DISCUSSION ET CONCLUSION

Au cours des deux dernières décennies, les peuplements méditerranéens de pins se trouvent confrontés à l'hylésine *Tomicus destruens*, ennemi redoutable, confondu depuis longtemps avec l'espèce voisine *Tomicus piniperda*. La séparation des deux espèces a été confirmée récemment par l'analyse génétique mais leur statut géographique reste encore à délimiter pour tout le pourtour méditerranéen. Les zones sympatriques regroupant les deux espèces doivent aussi être mieux connues géographiquement. La possibilité d'interfécondité entre les deux espèces a été notée par CARLE (1973), mais leurs progénitures restent à discuter. Les générations issues de ces croisements sont-elles fertiles ou pas ?

Les recherches entreprises dans les peuplements de pin d'Alep en zone semi-aride, ont conduit dans une première étape à statuer sur la position spécifique de l'hylésine. La présente étude portant sur l'analyse de la structure génétique de l'espèce nous confirme l'appellation spécifique, *Tomicus destruens* pour l'hylésine impliqué dans les dépérissements enregistrés dans les forêts naturelles de *Pinus halepensis* dans la région de Djelfa.

En Afrique du nord, le statut taxonomique des deux écotypes devrait être déterminé avec précision, d'une part, par des prélèvements dans des peuplements et des régions différentes, et d'autre part par des études écologiques plus approfondies.

Afin de ne pas revenir sur l'appellation spécifique et de séparer ces deux espèces en fonction de leur biotope, d'autres prélèvements régionaux plus significatifs sont indispensables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABGRALL J.F. et SOUTRENON A., 1991.-** La forêt et ses ennemis. CEMAGREF. 399p.
- BALACHOWSKY A.S., 1949.-** Faune de France : 50 Coléoptères Scolytides. Ed. Le chevalier, Paris, 320 p.
- BROWNE G., 1968.-** Pests and diseases of forest plantatio trees. Clarendon presse Oxford, printed in great Britain, by spottiswoode, Ballantyne Co, LTD., London and Colchester, 1330p.
- CARLE P., 1973.-** Le dépérissement du pin mésogéen en Provence. Rôle des insectes dans les modifications d'équilibre biologique des forets envahis par *Matsucoccus feytaudi* Duc. (*Coccioidea*, *Margarodidae*). Thèse de Dr. Es Science Naturelles, Uni. Bordeaux I, 174p.
- CHARARAS C., 1962.-** Scolytes des conifères. Ed Lechevalier, Encyclopédie entomologique XXXVIII, Paris, 556p.
- CHARARAS C., 1977.-** Problèmes posés dans différents pays méditerranéens par les insectes parasites des forêts. Aperçu général sur les insectes forestiers au Maroc. Comptes-rendus des Séances de l'Académie d'Agriculture de France. 63:10, 611 – 618.
- DEMAKOV Y. P., 1989.-** Optimization of the recording of wood-destroying insect number on model trees. Lesnoe-Khozyaistrov, N° 10, 41-44.
- FEYTAUD J., 1946.-** Les scolytes (vulgo. bostryches) dans la forêt Landaise. Rev. Ec. Nat. Eaux et Forêt. 84, (7), 373-407.
- GALLEGO D. et GALLIAN J., 2001.-** The internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) of the Rdna differentiates the bark beetle forest pests *Tomicus destruens* and *T. piniperda*. Insect Molecular Biology, 10(5), 415-420.
- GRÜNE V.S., 1979.-** Handbuch zur Bestimmung der europäischen Borkenkäfer. Forstzoologisches Institut des Universität Freiburg, Mit 275 Abbildungen. Ed. Verlag M. &H. Schaper Hannover. 164-165.
- HAACK R.A., LAWRENCE R.K., MCCULLOUGH D.G. et SADOFF C.S., 1997.-** *Tomicus piniperda* in North America : An integrated response to a new exotic scolytid. Proceedings integrating cultural tactics into the management of bark beetle and reforestation pests USDA, Forest Service General Technical Report NE-236, 62-72.

- KERDELHUE C., ROUX-MORABITO G., FORICHON J., CHAMBON J.M., ROBERT, A., et LIEUTIER F., 2002.-** Population genetic structure of *Tomicus piniperda* L. (*Curculionidae: Scolytinae*) on different pine species and validation of *T. destruens* (Woll). *Molecular Ecology*, 483-494.
- KOHNLE U., DENSBORN S., DUHME D. et VITÉ J.P., 1992.-** Bark beetle attack on host logs reduced by spraying with repellents. *J. Appl. Ent.* 114, 83-90.
- KOHLMAYR, B., RIEGLER, M., WEGENSTEINER, R. et STAUFFER C., 2002.-** Morphological and genetic identification of the three pine pests of the genus *Tomicus* (*Cleoptera, Scolytidae*)
- LANGSTRÖM B., 1983.-** Life cycle and shoot feeding of the pine shoot beetles. *Studia Forestalis Suecica*, n° 163, 29p.
- LEKANDER B., 1971.-** On *Blastophagus destruens* Woll and description of its larva (*Coleoptera, Scolytidae*). *Entom Ts Agr* 92: 271-276.
- NANNI C., et TIBERI R., 1997.-** *Tomicus destruens* (Wollaston): biology and behaviour in Central Italy . Proceeding Interating Cultural Tactics into the Management of Bark Beetle and Reforestation Pests. USDA Forest Service General Technical Report NE-236, 131-134.
- SAARENMAA H., 1985.-** Within-tree population dynamics models for integrated management of *Tomicus piniperda* (*Coleoptera, Scolytidae*). *Communicationes instituti forestalis fenniae*, 128, Helsinki, 55p.
- SCHWENKE W., 1974.-** Die Forestschadlinge Europas, 2: 337, Paul Parey, Hamburg, Berlin, 500p
- TRIGGIANI O., 1984.-** *Tomicus (Blastophagus) piniperda* (*Coleoptera, Scolytidae Hylesininae*) : biology, damage and control on the Ionic coast. *Entomologica*. 19, 5-21.
- VALLET E., 1981.-** Etude du dépérissement du pin sylvestre en région centre et des principaux ravageurs scolytides associés : *Tomicus piniperda*, *Ips sexdentatus* et *Ips acuminatus* (*Col. Scolytidae*). Dr 3^{ème} cycle, Uni. Orleans-la-Source U.E.R. Sci. Fondamentales et appliquées, 143p.
- ZUMR V., 1989.-** Attractiveness of terpene alpha-pinene to the large pine shoot beetle, *Blastophagus piniperda* (L.) (*Col., Scolytidae*). *J. Appl. Ent.* 107, 141-144.