

# EFFETS COMPARÉS DES TRAITEMENTS BIOLOGIQUES SEULS OU COMBINÉS SUR LES TENEURS EN RÉSERVES ÉNERGÉTIQUES DES CHENILLES DE LA PROCESSIONNAIRE DU PIN *THAUMETOPEA PYTIOCAMPA* SCHIFF (LEPIDOPTERA, NOTODONTIDAE).

Bouzar Essaïdi K., Allal-

Benfekih L. & Djazouli Z.E  
Laboratoire de  
Biotechnologie des  
productions végétales,  
Département des  
Biotechnologies, Faculté des  
Sciences de la nature et de  
la vie, Université de Blida 1,  
Algérie.  
khaledbouzar65@yahoo.fr,  
acrido@yahoo.fr,  
zahro2002@gmail.com

## RÉSUMÉ

Les lipides et glucides des chenilles âgées (L4 et L5) de la processionnaire du pin *Thaumetopea pytiocampa* Schiff. ont été quantifiés avant et 24 heures après l'application de produits biologiques testés sur le terrain. D'une part, les teneurs en réserves des glucides chez les L5 et les L4 avant traitement, ont régressé chez les chenilles ayant reçu un traitement biopesticide à base du Bacillaceae *Bacillus thuringiensis kurstaki* (Bt), la Verbenaceae *Lantana camara* (Lc) et le produit synergique BtLc respectivement. D'autre part, les réserves en lipides ont augmenté à des quantités très importantes chez les L4 ayant reçu les 3 traitements biopesticides respectivement. Les quantités en sucres totaux restent inchangées avant et après effet stress. Par contre, les teneurs en proline ont beaucoup augmenté sous l'effet du produit synergique, suivi du Bt et enfin de la solution aqueuse de *L. camara*. Ces résultats pourraient s'expliquer par une production d'enzymes de détoxification chez les larves au dépend d'une dépense d'énergie ce qui pourrait provoquer des conditions défavorables pour leurs performances biologiques notamment la mue.

## ABSTRACT

Lipids and carbohydrates older caterpillars (L4 and L5) of the pine processionary moth *Thaumetopea pytiocampa* Schiff. were quantified before and 24 hours after application of biological products tested on a naturally regenerated forest after fire situated in Attatba region. On the one hand, the levels of carbohydrates reserves in L5 and L4 before treatment, fell in caterpillars who received treatment based on Bacillaceae biopesticide *Bacillus thuringiensis kurstaki* (Bt), the Verbenaceae leaf extract *Lantana camara* (Lc) and BtLc synergistic product respectively. On the other hand, lipid reserves have increased to very large quantities in L4 that received the 3 biopesticides treatments respectively. The amounts of total sugars remain unchanged before and after stress effect. The contents of proline increased unlike considerably as a result of synergistic products effect, followed by Bt and finally the aqueous solution of *L. camara*. These results could be explained by production of detoxification enzymes in larvae depending on energy expenditure which might cause unfavorable conditions for their biological performance in particular moulting.

## 1. INTRODUCTION

La chenille processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* Schiff (Lepidoptera, Notodontidae) demeure le parasite le plus dévastateur touchant les peuplements résineux dans les forêts Algériennes naturelles ou reboisées. Elle provoque un ralentissement de la croissance de l'arbre, une vulnérabilité plus forte aux maladies et aux autres ravageurs des forêts, [1]. La processionnaire du pin figure parmi les insectes dits "opportunistes" qui concentrent leur distribution en groupe dense, pour mieux exploiter la nourriture et profiter de la qualité élevée de leur plante-hôte. Ils sont aussi tolérants à un changement rapide de la qualité nutritive de la plante, car ils sont bien adaptés à leur plante-hôte [2]. Chez les insectes, chaque stade biologique présente une allocation énergétique spécifique selon ses besoins et selon que l'insecte est holométabole, ou hétérométabole. Chez les lépidoptères, les réserves à l'éclosion sont suffisantes pour permettre le développement des larves. Au moment de la nymphose, les réserves de la larve suffisent à assurer la métamorphose. La biomasse structurelle de la larve est ainsi convertie en réserves d'énergie pour la nymphe [3]. Les réserves énergétiques fournissent des explications évolutives sur les traits d'histoire de vie et élucident le mécanisme d'allocation des ressources destinées à la croissance, au maintien des fonctions somatiques et à l'effort de reproduction. En termes de biomarqueurs, les réserves énergétiques ont un rôle dans la compréhension des stratégies

comportementales ou physiologiques qui permettent à l'insecte de contourner partiellement ou totalement les effets toxiques des xénobiotiques [4], dans le cas de notre étude il s'agit des matières actives biologiques testées sur les chenilles. Nous avons analysé dans ce travail les variations des teneurs en lipides et glucides chez les chenilles âgées de la processionnaire quand elles sont exposées à des pulvérisations de traitements biologiques à base d'extraits aqueux de la Verbenaceae *Lantana camara* L., de solutions de poudre de la Bacillaceae formulée *Bacillus thuringiensis kurstaki* Berlin. et du mélange des deux bioproduits.

## 2. MATERIEL ET METHODES

### 2.1. Milieu d'étude

L'étude est réalisée au nord ouest algérien au niveau de la région de Tipaza qui se situe dans la limite de l'étage semi-aride supérieur à hiver doux (synthèse climatique 1990 à 2009). Les forêts y sont réparties inégalement dont 68% sont concentrées dans la région ouest (Cherchell, Sidi-Amar, Gouraya, Damous). L'occupation du sol par essence forestière indique que le Pin d'Alep est le plus répandu avec 55.69%. En 2010/2011, les précipitations moyennes enregistrées par la station du Barrage Boukerdane (Wilaya de Tipaza) font ressortir une pluviométrie moyenne annuelle de 738.94 mm. Les températures extrêmes varient entre 0°C pour le mois le plus froid (janvier) à 39°C pour le mois chaud de l'été (Juillet).

Les bioessais ont été réalisés dans une forêt naturelle de pin d'Alep (36°35'36.72"N, 2°41'26.42"E, à

170 m d'altitude) située à Attatba, 25 kms au Sud-Est du chef lieu de la wilaya de Tipaza.

### 2.2. Préparation des solutions et des doses de traitements biologiques

La plante *Lantana camara* a été récoltée en Janvier 2011 au niveau de la commune de Koléa. Les feuilles ont été triées, lavées et mises à sécher à l'étuve à 35°C pendant 24h. Après le séchage, les feuilles sont broyées jusqu'à l'obtention d'une fine poudre stockée à 4°C dans des sacs de cellophane jusqu'à son utilisation. Ensuite, nous avons mis 100 grammes de poudre en solution avec 1 litre d'eau distillée. A la température ambiante du laboratoire, la solution obtenue a été mise sous agitation horizontale magnétique dans des flacons hermétiques couverts entièrement par du papier aluminium afin d'éviter toute dégradation des molécules par la lumière. Après 72 heures, le mélange est decanté, les surnageants sont filtrés successivement deux fois en utilisant du papier Wattman puis conservés.

L'insecticide microbien homologué (I.A.B-BT, société agrichem de Ain-Benian-Alger) a été utilisé. Le dosage recommandé est de 0,5 à 1 kg/ha et varie selon la sensibilité de l'espèce visée. Nous avons utilisé 10 g de poudre de la Bactérie de *Bacillus thuringiensis* dans 2 litres d'eau distillée, 2 litres de solution aqueuse de *L. camara* et un mélange de 5 g de Bt additionné à 500ml de solution aqueuse brute de *L. camara* auxquels nous avons rajouté 1.5 l d'eau distillée, concernant le traitement combiné.

### 2.3. Traitements réalisés

Nous avons considéré au total 16 sujets infestés de Pin d'Alep, ayant une hauteur moyenne d'environ 2 à 3 m et caractérisés par un houppier plus moins dense. Pour chaque traitement biologique ainsi que pour les sujets non traités, quatre arbres, que nous avons considéré comme répétitions et comportant chacun un nid, ont été choisis. Chaque nid compte 100 à 200 larves pour les nids les moins et les plus volumineux respectivement. Les arbres sélectionnés ont été pulvérisés sur les cimes des arbres à l'aide de pulvérisateurs manuels d'une contenance de 2 litres. Les différents traitements ont été réalisés le 24 février 2011 sur les nids comprenant des larves âgées de la processionnaire (stades L4 et L5) à une température variant de 3°C comme valeur minimale à 20°C pour la valeur maximale. Les sujets témoins ont reçu des pulvérisations d'eau distillée à raison de 2 litres pour les 4 arbres sélectionnés.

### 2.4. Etude des réserves énergétiques chez les larves en relation avec les principes actifs des aiguilles et la proline.

L'extraction des lipides a été réalisée selon la méthode de Van Brummelen & Suijzand [5]. Pour, l'extraction et la quantification des réserves glucidiques nous avons eu

recours à la méthode de WINDECOEN, in Mostefaoui [6]. Les sucres solubles totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode de Dubois et al. [7]. Les aiguilles de pin, en tant que substrat alimentaire des chenilles, ont été analysés pour quantifier leurs teneurs en proline et en sucres totaux dans les mêmes conditions expérimentales réalisées précédemment et pour expliquer leur relation avec les variations des quantités lipido-glucidiques chez les chenilles. La méthode suivie pour l'extraction et la quantification de la proline est celle de Troll et Lindsley, simplifiée et mise au point par Dreier et Goring [8].

## 3. RESULTATS

### 3.1 Variation quantitative des réserves énergétiques et des principes actifs

Prenant en considération leurs propriétés énergétiques et leur caractéristique de biomarqueur, les lipides et glucides des chenilles âgées (L4 et L5) de la processionnaire du pin ont été quantifiés avant et 24 heures après l'application des produits biologiques testés sur le terrain. Les quantités de lipides et de glucides restent comparables entre les stades

mais les lipides sont relativement plus élevés que les glucides au sein d'un même stade.

Les teneurs glucidiques importantes chez les chenilles non stressées ont nettement diminué au bout d'un jour d'exposition aux effets des matières actives biologiques utilisées. Les teneurs en réserves des glucides de l'ordre de 2.754 µg/g MF chez les L5 et de l'ordre de 2.352 µg/g MF chez les L4 avant traitement, ont régressé à des teneurs très infimes de 0.274, 0.290 et 0.282 µg/g MF chez les L5 et de 2,224, 2,295 et 2,538 µg/g MF chez les L4 ayant reçu un traitement biopesticide à base de Bt, Lc et le produit synergique BtLc respectivement (figure 1). Les réserves en lipides négligeables 1 jour avant traitement ont augmenté à des quantités très importantes de 107,77 (Bt), 106,125 (Lc) et 117,52 (BtLc) µg/g MF chez les L5 traitées et de 103,04, 105,70 et 85,89 µg/g MF chez les L4 ayant reçu les 3 traitements biopesticides respectivement (figure 2). L'analyse de variance à un seul facteur a montré des différences très hautement significatives (P < 1%) entre les différentes teneurs en réserves énergétiques des 2 stades larvaires avant et 24h après traitement (Tableaux 1 et 2).

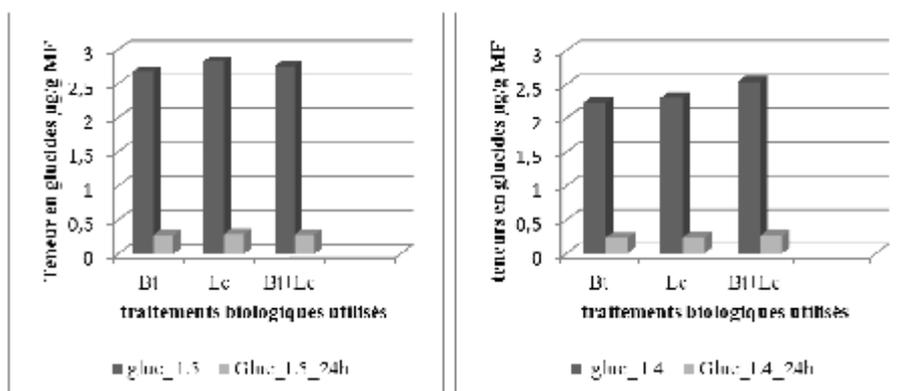


Figure 1. Variabilité des teneurs en réserves énergétiques glucidiques des chenilles âgées de *T. pityocampa* en relation ou non à l'effet des bioproduits seuls ou combinés (Bt : *Bacillus thuringiensis kurstaki*, Lc : *Lantana camara*, BtLc : produit mixte).

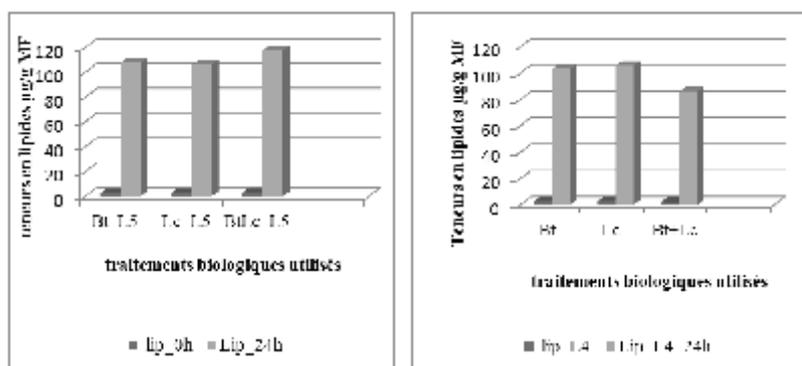


Figure 2. Variabilité des teneurs en réserves énergétiques lipidiques des chenilles âgées de *T. pityocampa* en relation ou non à l'effet des bioproduits seuls ou combinés.

Tableau 1. Comparaison des moyennes des teneurs en réserves glucido-lipidiques chez les chenilles âgées 24h après traitement (Test one way Anova, past) (gluc : glucides, lip : lipides, L5 et L4 larves de 4<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> stade de la processionnaire).

	gluc_L5	Gluc_L5_24h	gluc_L4	Gluc_L4_24h
gluc_L5	-	<b>0,002306***</b>	0,002995	0,0002306
Gluc_L5_24h	47,07	-	0,0002306	0,941
gluc_L4	7,643	39,42	-	<b>0,0002306***</b>
Gluc_L4_24h	47,86	0,793	40,22	-

	lip_L5	Lip_L5_24h	lip_L4	Lip_L4_24h
lip_L5	-	<b>0,0002306***</b>	0,9999	0,0002306
Lip_L5_24h	30,12	-	0,0002306	0,1498
lip_L4	0,08221	30,2	-	<b>0,0002306***</b>
Lip_L4_24h	26,69	3,426	26,77	-

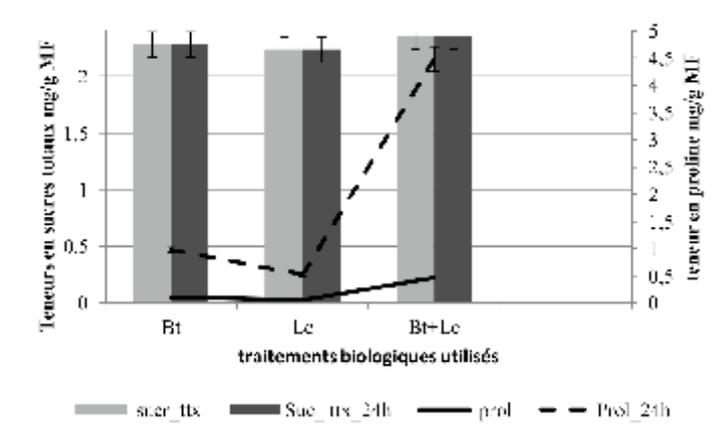


Figure 3. Variabilité des teneurs en sucres totaux (Sucr\_ttx) et en proline (Prol) dans les aiguilles de pin avant et après application des produits biologiques testés.

Tableau 2. Comparaison des moyennes des quantités en sucres totaux et en proline dans les aiguilles de pin (Test de Kruskal Wallis, Past).

	prol	sucr_ttx	Prol_24h	Sucr_ttx_24h
prol	-	0,08086	<b>0,08086*</b>	0,08086
sucr_ttx	0,4851	-	0,6625	0,8273ns
Prol_24h	0,4851	1	-	0,6625
Sucr_ttx_24h	0,4851	1	1	-

## Discussion

Les réserves énergétiques glucidiques sont sollicitées pour les fonctions somatiques et de mobilité. Alors que, la disponibilité des lipides et du glycogène semble être le résultat d'une balance entre la prise de nourriture et les demandes de réserves pour la croissance et la reproduction. Mais, ces réserves d'énergie sont aussi mobilisées à la suite d'un stress. Les faibles teneurs en réserves glucidiques quantifiées chez les chenilles laissent supposer une détoxification des toxiques des produits biologiques testés auxquels elles ont été exposées, mécanisme biochimique dont le rôle est de rendre hydrosolubles ces produits et les excréter. D'évidentes interactions ont été observées entre la présence de substances allélochimiques de plantes et l'induction de l'activité des enzymes intervenant dans la détoxification de substances xénobiotiques (XME) chez les insectes [9].

L'importance des teneurs en lipides par rapport à celles des glucides aussi bien chez les L4 que chez les L5 de la processionnaire du pin. Il semblerait que les chenilles investissent cette accumulation des lipides au profit du rétablissement de l'homéostasie. Les produits biologiques pulvérisés au niveau des nids d'hiver de la processionnaire entrent en contact avec les aiguilles de pin, substrat nourricier des chenilles et sont transportés à l'intérieur des cellules via les stomates. Nous pouvons émettre l'hypothèse que ces produits pourraient perturber

la synthèse des glucides et des acides aminés au niveau de la plante, d'où augmentation de la teneur en proline constatée dans notre expérimentation. La proline est un acide aminé indispensable chez les végétaux, elle est considérée comme un indicateur des stress. Elle fournit une réserve d'azote pouvant être utilisée en condition de stress comme un moyen de réduction de l'acidité ou l'élimination de résidus [10]. Les teneurs en sucres totaux quantifiés dans les aiguilles de pin avant et 24 h après application des traitements sont très comparables. Les sucres solubles s'accumulent dans les tissus des plantes cultivées sous stress afin de résister aux contraintes du milieu [11].

Ces contraintes pourraient correspondre dans les conditions de notre expérimentation au stress biotique engendré par l'action alimentaire direct des chenilles aussi bien avant qu'après l'application des traitements biopesticides. Or, cet état de stress induit l'accumulation d'osmolytes chez les plantes mais aussi une hydrolyse des protéines et à une augmentation de la concentration des acides aminés notamment la proline, signe d'une perturbation métabolique. Nous avons en effet remarqué que sous l'effet du traitement combiné à base de Bt et de l'extrait aqueux foliaire du lantier, la teneur en proline dans le feuillage avait considérablement augmenté par rapport à celle quantifiée sous les effets de Bt et de la solution aqueuse seuls. Outre la surconsommation énergétique, les toxiques réduisent le taux d'assimilation de la nourriture.

D'une part, les quantités élevées en réserves des lipides chez les chenilles âgées pourraient donc être attribuées à l'effet des crytoxines qui agissent sur l'épithélium intestinal inhibant l'ingestion de la nourriture et qui induiraient une surconsommation des lipides pour la survie des larves, à travers les mécanismes de détoxification. Nous avons déjà observé que les mortalités dues à l'effet du Bt sont faibles dès 24h [12].

On peut expliquer l'augmentation des teneurs lipidiques chez les chenilles de la processionnaire sous l'effet du traitement à base de l'extrait aqueux foliaire de *L. camara*, de deux façons : Dans le premier cas, les larves ne consomment en aucun cas leur nourriture avec le produit biologique en raison de son effet phagorépusif, dans ce cas, leurs réserves en glucides sont transformées en lipides stockés pour la survie des L5 dont la durée du stade pourrait être prolongé ou le passage des L4 au stade L5, donc cette énergie stockée serait allouée à la croissance. Dans le second cas, les larves peuvent ingérer de la nourriture traitée ce qui induirait une induction de la production de métabolites secondaires de défense pour la plante hôte défavorables sur les performances des larves et en même temps déclencherait une production d'enzymes de détoxification chez les larves. Les effets des molécules bioactives des feuilles du lantier peuvent varier en fonction des molécules elles-mêmes obtenues à travers la méthode d'extraction utilisée, ou de la dose utilisée.

En effet, les composés secondaires des plantes en relation avec des zones présentant de fortes probabilités d'attaque peuvent se manifester par des effets phagorépresseurs, les insectes peuvent y survivre en modifiant leur comportement alimentaire ou en métabolisant les composés toxiques ingérés. Les larves peuvent avoir une capacité de discrimination envers les ressources trophiques en termes de valeur nutritionnelle, avec une préférence pour celles permettant la meilleure performance. Nous avons par ailleurs observé que les lipides des L5 sont plus importants que ceux des L4. La plus grande taille des L5, peut d'un point de vue énergétique, constituer un désavantage lorsque la nourriture est limitée [13] d'où une utilisation plus efficace de l'énergie, car le taux métabolique spécifique à la masse décroît lorsque la taille corporelle croît [14, 15].

On peut par ailleurs émettre l'hypothèse que les matières actives des biopesticides utilisés en l'occurrence l'extrait aqueux foliaire du lantanie probablement neurotoxiques, peuvent altérer directement le système endocrinien chez les chenilles en altérant indirectement l'attribution d'énergie [16, 17] ou pourraient provoquer vraisemblablement un effet de choc sur les populations après 24h d'exposition aux traitements, pouvant résulter de l'inhibition de l'acétyl cholinesterase chargée de réguler la transmission nerveuse.

## REFERENCES

[1] Zamoum M., (1998). Données sur la bioécologie, 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, Université des Sciences de Rennes I, France, 247 p.

[2] Hanski, I., & Otronen, M. (1985). Food quality induced variance in larval performance: comparison between rare and common pine-feeding sawflies (Diprionidae). *Oikos* 44:165-174.

[3] Kooijman, S. A. L. M. (2000). *Dynamic Energy and Mass Budgets in Biological Systems*, Cambridge University Press. Cambridge, seconde édition.

[4] Roff D.A., (1992). *The evolution of life histories: theory and analysis*. Chapman & Hall, London.

[5] Van Brummelen T.C., & Suijzand S.C., (1993). Effects of benzofalpyrene on survival, growth and energy reserves in the terrestrial isopods *Oniscus asellus* and *Porcellio scaber*. *The science of the total environment supplement*, pp. 921-929.

[6] Mostefaoui H., Allal-Benfekih L., Z-E Djazouli, Petit D., & Saladin G., (2013). Why the aphid *Aphis spiraecola* is more abundant on clementine tree than *Aphis gossypii*? *C. R. Biologies* 337 (2014) 123-133.

[7] Dubois M.K.A., Gilles Y.K., & Hamilton P.A., (1956). Colometric method for determination of sugars and related substance. *Anal and Chem. Jour*: 28. P: 350-356.

[8] Dreier W. & Goring M., (1974). Der einfluss boher. Salzkonzentrationen auf physiologische parameter von aishwurzeln. *Wiss. Der H. V. Berlin, Nath. Naturwiss*, 23, 641 - 646.

[9] Yu S.J., (1984). Interactions of allelochemicals with detoxification enzymes of insect-susceptible and resistant armyworm. *Pest. Biochem. Physiol.* 22, 60-68.

[10] Gul, A., Kidoglu, Anac, D., (2007). Effet of nutrient sources on cucumber production in different substrates, *Scientia Horticulturae*

113, 216-220.

[11] BenKhaled A., Morte Gomez A., Honrubia M., Oihabi A. (2003) : Effet du stress salin en milieu hydroponique sur le trèfle inoculé par le Rhizobium. *Agronomie*. Vol.23, pp.553-560.

[12] Bouzar Essaidi K. (2012). Modulation de la fitness de la processionnaire du pin, *Thaumetopoea pityocampa* schiff (insecte : Lépidoptères) et effets de l'anthropisation sur des stations à pinèdes littorales. Approche d'une méthode de lutte alternative contre ce ravageur. Thèse de Magister, Université Saad Dahleb, 190p.

[13] Reim, C., Teuschl, Y. & Blanckenhorn, W. U. (2006). Size-dependent effects of larval and adult food availability on reproductive energy allocation in the Yellow Dung Fly. *Functional Ecology*, 20 (6), 1012-1021.

[14] Cangussu, J. A. & Zucoloto, F. S. (1992). Nutritional-Value and selection of different diets by adults *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). *Journal of Insect Physiology*, 38 (7), 485-491.

[15] Blanckenhorn, W. U., Fanti, J. & Reim, C. (2007). Size-dependent energy reserves, energy utilization and longevity in the yellow dung fly. *Physiological Entomology*, 32 (4), 373-381.

[16] Mayer, F.L., Verteeg, D.J., Mackee, M.J., Folmar, L.C., Graney, R.L., Mac Cume, D.C. & Rattner, B.A. (1992). Physiological and nonspecific biomarkers. In Hugget R.J., Kimerle R.A., Mehrle P.M et Bergman H.L., eds, *Biomarkers: biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress*, Lewis Publishers, Chelsea, pp: 5-86.

[17] Lagadic, L., Caquet, T. & Amiard, J.C. (1997). Biomarqueurs en écotoxicologie : principes et définitions. In Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C. et Ramade F., eds, *Biomarqueurs en écotoxicologie, aspects fondamentaux*, Masson, Paris, pp 1-9.