

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine I
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

N° d'ordre :

N° de série :



Thèse de Doctorat
Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat en Sciences
Domaine: Biologie
Option: Entomologie

Présentée et soutenue par : Melle : Boudjahem ibtisssem

Intitulé :

Bioécologie de la processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Lepidoptera* ; *Thaumetopoeidae*) dans la région de Guelma. Effet de certaines molécules sur la formule hemocytaire des chenilles.

Membres du jury :

| | | | |
|----------------------|------------------|-------------|--|
| Président : | BAAZIZ Nacer | Professeur, | Université des frères Mentouri-Constantine |
| Directrice de thèse: | BERCHI Sélima | Professeur, | Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie |
| Examineur: | AGUIB Sihem | M.C.A. | Université des frères Mentouri-Constantine |
| Examineur: | BOUDAH Abdenacer | Professeur, | Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie |
| Examineur: | BOUDJELIDA Hamid | Professeur, | Université de Badji Mokhtar- Annaba |

Année Universitaire : 2019/2020

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens avant tout à remercier « Dieu » de m'avoir donné le courage et la volonté d'accomplir ce modeste travail malgré les déceptions et tous les obstacles rencontrés. Je tiens également à remercier ma famille pour son aide et sa patience le long de mes années d'études.

A la mémoire de mon « Père » qui aurait accompli ma joie s'il était présent.

Mes pensées de remerciement sont pour ma directrice de thèse Professeur « Sélima Berchi ». Je vous remercie pour votre soutien, votre patience et vos conseils pendant toutes les années. Travailler sous votre direction a été un honneur et un plaisir exceptionnel.

Un vive remerciement au Professeur « Maurizio F. Brivio » et son assistante Melle « Maristella mastore » de m'avoir aidé énormément à réaliser ce travail.

Un profond remerciement à mon amie et ma collègue d'études et de travail, Madame « Benkhdim Aouati amel », qui m'a énormément aidé.

Un grand merci au Professeur « Baaziz Nacer » d'avoir accepté de présider le jury

Un grand merci également à madame «Aguib Sihem », aux Professeurs « Boudah Abdenacer » et « Boudjelida Hamid »

Je suis très honorée que vous ayez accepté d'examiner mon travail.

Liste des Figures :

| Figure | Page |
|--|-------------|
| Figure 01. Processionnaire du pin | 07 |
| Figure 02. Manchon des œufs de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 09 |
| Figure 03. Chenilles de la processionnaire du pin aux différents stades larvaires | 09 |
| Figure 04. Nid d'hiver de la chenille processionnaire du pin | 10 |
| Figure 05. Forme de chrysalide | 11 |
| Figure 06. Papillon de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 11 |
| Figure 07. Procession des chenilles | 12 |
| Figure 08. Enfouissement sur terrain | 12 |
| Figure 09. Enfouissement en laboratoire | 12 |
| Figure 10. Le cycle de développement de la chenille processionnaire du pin <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 13 |
| Figure 11. Carte de la distribution de la chenille processionnaire du pin en Algérie | 14 |
| Figure 12. Défoliation causée par la chenille processionnaire du pin | 15 |
| Figure 13. Mésange bleu | 17 |
| Figure 14. Piège à phéromone | 17 |
| Figure 15. Les cellules hématocytaires et leurs rôles immunitaires | 18 |
| Figure 16. Pin d'Alep | 31 |
| Figure 17. Pin maritime | 31 |
| Figure 18. Cèdre de l'atlas | 32 |
| Figure 19. Sites d'échantillonnage (Indiqués par les flèches) des chenilles de la processionnaire du pin dans la région de Guelma | 33 |
| Figure 20. Schéma résumant les différents aspects de l'expérimentation | 34 |
| Figure 21. Technique du double eppendorf | 37 |

| | |
|--|----|
| Figure 22. Schéma résumant les différentes étapes de l'étude des cellules immunitaires de la chenille processionnaire | 39 |
| Figure 23. Schéma résumant les différentes étapes du comptage des chenilles | 47 |
| Figure 24. Enceinte close (Olfactomettre) pour l'étude du comportement alimentaire de la chenille processionnaire du pin | 50 |
| Figure 25. Les différentes cellules observées dans l'hémolymphe de <i>T. pityocampa</i> : S : Prohemocytes, G : Granulocytes, P : Plasmacytes, O : encytoïdes (Grossissement: 20x10) | 51 |
| Figure 26. Cellules brutes ; Cellules cultivées (Grossissement: (1 : 10x10), (2 : 20x10)) | 53 |
| Figure 27. Observation sous microscopique à contraste de phase montrant les différentes étapes d'encapsulation immunitaire (1) Début d'encapsulation humorale (2) Les débris cellulaires entourent les parasites formant une encapsulation humorale (Grossissement: 20x10) (3) Début d'encapsulation cellulaire (4) agrégation des cellules hémocytaires autour des débris entourant le parasite indiquant l'encapsulation cellulaire. (Grossissement: 40x10) | 54 |
| Figure 28. Bactéries et nématodes identifiés dans l'hémolymphe de <i>T. pityocampa</i> . 1 : Bactérie (Grossissement 20x10), 2 : Nématodes. (Grossissement: 4x10) | 55 |
| Figure 29. (1) Phagocytose en phase de lyse cellulaire (Grossissement: 20x10), (2) mélanisation et nodulation observées dans l'hémolymphe de <i>T. Pityocampa</i> (Grossissement:10x10) | 56 |
| Figure 30. Comparaison du nombre total des cellules hémocytaires de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> entre les différents stades larvaires | 57 |
| Figure 31. Nombre spécifique des cellules hémocytaires de <i>Thaumetopoea Pityocampa</i> au 2 ^{ème} stad larvaire | 58 |
| Figure 32. Nombre spécifique des cellules hémocytaires de <i>Thaumetopoea Pityocampa</i> au 3 ^{ème} stade larvaire | 59 |
| Figure33. Nombre spécifique des cellules hémocytaires de <i>Thaumetopoea Pityocampa</i> au 4 ^{ème} stade larvaire | 60 |

| | |
|--|----|
| Figure 34. Évolution des prohémyocytes, et comparaison de leur nombre entre les différents stades larvaires de <i>T. pityocampa</i> | 61 |
| Figure 35. Évolution des plasmocytes, et comparaison de leur nombre entre les différents stades larvaires de <i>T. pityocampa</i> | 63 |
| Figure 36. Évolution des granulocytes, et comparaison de leur nombre entre les différents stades larvaires de <i>T. pityocampa</i> | 64 |
| Figure 37. Courbe de régression après 24 heures du traitement des chenilles à l'huile de Basilic | 74 |
| Figure 38. Courbe de régression après 24 heures du traitement des chenilles à l'huile d'Eucalyptus | 74 |
| Figure 39. Courbe de régression après 24 heures du traitement des chenilles à l'huile de de bois de Gaiac | 75 |
| Figure 40. Courbe de régression après 24 heures du traitement des chenilles à l'huile de cèdre | 75 |
| Figure 41. Courbe de régression après 8 jours du traitement des chenilles à l'huile de Basilic | 77 |
| Figure 42. Courbe de régression après 8 jours du traitement des chenilles à l'huile d'Eucalyptus | 77 |
| Figure 43. Courbe de régression après 8 jours du traitement des chenilles à l'huile de bois de Gaiac | 78 |
| Figure 44. Courbe de régression après 8 jours du traitement des chenilles à l'huile de cèdre | 78 |
| Figure 45. Nombre total des cellules hémyocytaires chez les chenilles non traitées et celles traitées aux l'huiles d'Eucalyptus et de Basilic | 80 |
| Figure 46. Nombre moyen des cellules par type hémyocyttaire chez les chenilles non traitées de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 82 |
| Figure 47. Nombre moyen des cellules par type hémyocyttaire chez les larves de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> traitées à l'huile d'Eucalyptus | 83 |
| Figure 48. Nombre des cellules par type hémyocyttaire chez les larves de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> traitées par l'huile de Basilic | 84 |

| | |
|--|----|
| Figure 49. Attractivité chimique des chenilles de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> des différents stades larvaires pour les différentes espèces utilisées | 89 |
| Figure 50. Taux des chenilles du 2 ^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées | 91 |
| Figure 51. Taux des chenilles du 3 ^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées | 92 |
| Figure 52. Taux des chenilles du 4 ^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées | 93 |
| Figure 53. Taux des chenilles du 5 ^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées | 94 |

Liste des Tableaux :

| Tableau | Page |
|---|-------------|
| Tableau 01. Caractéristiques des sites d'échantillonnage de la chenille processionnaire du pin | 34 |
| Tableau 02. Les différents paramètres des huiles essentielles utilisées | 41 |
| Tableau 03. Les différents constituants biochimiques des huiles essentielles utilisées | 43 |
| Tableau 04. Concentrations utilisées durant le traitement des chenilles de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> pour chaque huile essentielle | 44 |
| Tableau 05. Comparaison du nombre total des cellules hemocytaires de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> entre les différents stades larvaires | 57 |
| Tableau 06. Comparaison du nombre spécifique entre les différents types hémocytaires de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> en L2 | 58 |
| Tableau 07. Comparaison du nombre spécifique entre les différents types hémocytaires de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> en L3 | 59 |
| Tableau 08. Comparaison du nombre spécifique entre les différents types hémocytaires de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> en L4 | 60 |
| Tableau 09. Comparaison du nombre moyen des prohemocytes entre les différents stades larvaires de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 61 |
| Tableau 10. Analyse de la variance à un critère de classification du nombre moyen des prohémosocytes entre les différents stades larvaires | 62 |
| Tableau 11. Comparaison du nombre moyen des plasmocytes entre les différents stades larvaires de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 62 |
| Tableau 12. Analyse de la variance à un critère de classification du nombre moyen des plasmocytes entre les différents stades larvaires | 63 |
| Tableau 13. Comparaison du nombre moyen des granulocytes entre les | |

| | |
|---|----|
| différents stades larvaires de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 64 |
| Tableau 14. Analyse de la variance à un critère de classification du nombre moyen des granulocytes entre les différents stades larvaires | 65 |
| Tableau 15. Taux de mortalité observée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de Basilic, au 8 ^{ème} jour du traitement | 65 |
| Tableau 16. Taux de mortalité corrigée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de basilic, au 8 ^{ème} jour du traitement | 66 |
| Tableau 17. Transformation angulaire des taux de mortalité des chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de Basilic, au 8 ^{ème} jour du traitement | 66 |
| Tableau 18. Variance des taux de mortalité des chenilles de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> traitées à l'huile de Basilic, au 8 ^{ème} jour du traitement | 67 |
| Tableau 19. Taux de Mortalité observée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile d'Eucalyptus, au 8 ^{ème} jour du traitement | 67 |
| Tableau 20. Taux de mortalité corrigée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile d'Eucalyptus, au 8 ^{ème} jour du traitement | 68 |
| Tableau 21. Transformation angulaire des taux de mortalité des chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile d'Eucalyptus, 8 ^{ème} jour du traitement | 68 |
| Tableau 22. Variance des taux de mortalité des chenilles de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> traitées à l'huile d'Eucalyptus 8 ^{ème} jour après traitement | 69 |
| Tableau 23. Taux de mortalité observée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de cèdre, au dernier jour du traitement | 69 |
| Tableau 24. Taux de mortalité corrigée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de cèdre, au 8 ^{ème} du traitement | 70 |
| Tableau 25. Transformation angulaire des taux de mortalité des chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de cèdre, au 8 ^{ème} du traitement | 70 |
| Tableau 26. Variance des taux de mortalité des chenilles de <i>Thaumetopoea</i> | |

| | |
|---|----|
| <i>pityocampa</i> traitées à l'huile de cèdre, 8 ^{ème} traitement | 71 |
| Tableau 27. Taux de mortalité observée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de bois de Gaïac, au 8 ^{ème} jour du traitement | 71 |
| Tableau 28. Taux de mortalité corrigée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de bois de Gaïac, au 8 ^{ème} jour du traitement | 72 |
| Tableau 29. Transformation angulaire des taux de mortalité des chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de bois de Gaïac, au 8 ^{ème} jour du traitement | 72 |
| Tableau 30. Variance des taux de mortalité des chenilles de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> traitées à l'huile de bois de Gaïac, au 8 ^{ème} jour du traitement | 73 |
| Tableau 31. Paramètres toxicologiques et concentrations létales après 24 heures du traitement des chenilles du 3 ^{ème} stade larvaire de <i>T. pityocampa</i> par les différentes huiles essentielles | 76 |
| Tableau 32. Paramètres toxicologiques et concentrations létales après 8 jours du traitement des chenilles du 3 ^{ème} stade larvaire de <i>T. pityocampa</i> par des différentes huiles essentielles | 79 |
| Tableau 33. Comparaison du nombre total des cellules hémocytaires entre les chenilles non traitées de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> et celles traitées | 80 |
| Tableau 34. Analyse de la variance à un critère de classification entre le nombre total des cellules chez les chenilles non traitées et celles traitées | 81 |
| Tableau 35. Nombre moyen des cellules par type hémocytaire chez les chenilles non traitées de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 81 |
| Tableau 36. Nombre moyen des cellules par type hémocytaire chez les larves de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> traitées à l'huile d'Eucalypty | 82 |
| Tableau 37. Nombre moyen des cellules par type hémocytaire chez les larves de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> traitées par l'huile de Basilic | 83 |
| Tableau 38. Comparaison du nombre moyen des granulocytes entre | |

| | |
|---|----|
| les chenilles non traitées de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> et celle traitées | 84 |
| Tableau 39. Analyse de la variance à un critère de classification du nombre moyen des Granulocytes chez les chenilles non traitées de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> et celles traitées | 85 |
| Tableau 40. Comparaison de nombre moyen des Plasmocytes entre les chenilles non traitées de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> et celles traitées | 85 |
| Tableau 41. Analyse de la variance à un critère de classification du nombre moyen des plasmocytes chez les chenilles non traitées et celles traitées | 86 |
| Tableau 42. Comparaison du nombre moyen des Oenocytoides entre les chenilles non traitées de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> et celle traitées | 86 |
| Tableau 43. Analyse de la variance à un critère de classification du nombre moyen des Oenocytoides entre les chenilles non traitées de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> et celles traitées | 87 |
| Tableau 44. Moyenne des chenilles attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées pendant les différents stades de développement larvaire de la chenille | 90 |
| Tableau 45. Pourcentage des larves du 2 ^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées | 91 |
| Tableau 46. Pourcentage des larves du 3 ^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées | 92 |
| Tableau 47. Pourcentage des chenilles du 4 ^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées | 93 |
| Tableau 48. Pourcentage des chenilles du 5 ^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées | 94 |

Sommaire :

| Titre | Page |
|---|------|
| 1-INTRODUCTION | 01 |
| II-ETUDE BIBLIOGRAPHIQU | 07 |
| 1-Présentation de la chenille processionnaire du pin | 07 |
| 1-1-Systématique et caractères morphologiques de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 07 |
| 1-2-L'affiliation systématique de <i>Thaumetopoea pityocamp</i> selon Denis et schiffermüller en 1775 | 08 |
| 1-3-Description des stades de développement de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 09 |
| 1-4-Cycle de vie et différents stades de développement de la chenille processionnaire du pin | 12 |
| 1-5-La distribution géographique de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 13 |
| 1-6-Les dégâts engendrés par la chenille processionnaire du pin | 15 |
| 1-7-Les moyens de lutte contre la chenille processionnaire du pin | 15 |
| 2-Étude du système immunitaire de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 17 |
| 2-1-L'immunité cellulaire chez les insectes | 17 |
| 2-1-1-L'immunité innée | 18 |
| 2-1-2-L'immunité adaptative | 19 |
| 2-2-Les cellules hématocytaires et leurs rôles immunitaires | 19 |
| 2-3-Les principales réactions immunitaires chez les insectes | 21 |
| 2-3-1-L'encapsulation | 21 |
| 2-3-1-1-L'encapsulation humorale | 21 |
| 2-3-1-2-L'encapsulation cellulaire | 21 |
| 2-3-2-La nodulation | 22 |
| 2-3-3-La phagocytose | 22 |
| 2-3-4-La mélanisation | 23 |
| 3-Les huiles essentielles et leur utilisation contre les insectes ravageurs | 23 |

| | |
|---|----|
| 3-1-Définition d'une huile essentielle | 23 |
| 3-2-Propriétés des huiles essentielles | 24 |
| 3-3-Toxicité des huiles essentielles | 25 |
| 3-4-Caractéristiques des huiles essentielles | 25 |
| 3-4-1-Les caractéristiques organoleptiques | 25 |
| 3-5-Composition des huiles essentielles | 26 |
| 3-5-1-La Composition chimique | 26 |
| 3-6-Activités des huiles essentielles | 26 |
| 3-6-1-L'activité biologique | 26 |
| 3-6-2-L'activité pharmacologique | 27 |
| 3-6-3-Activité commerciale | 27 |
| 3-7-Extraction des huiles essentielles | 27 |
| 3-7-1-Extraction des huiles essentielles au laboratoire | 27 |
| 3-8-Composition et structure de quelques huiles essentielles | 29 |
| 3-8-1-L'huile essentielle du cèdre de l'Atlas, <i>Cedrus atlantica</i> | 29 |
| 3-8-2-L'huile essentielle de bois de Gaiac, <i>Bulnesia sarmienti</i> | 29 |
| 3-8-3-L'huile essentielle d'Eucalyptus, <i>Eucalyptus globulus</i> | 29 |
| 3-8-4-L'huile essentielle de Basilic, <i>Ocimum basilicum</i> | 29 |
| 4-Étude du comportement olfactif chez les chenilles de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 30 |
| 4-1-Le régime alimentaire de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 30 |
| 4-1-1-Le pin d'Alep : <i>Pinus halepensis</i> | 30 |
| 4-1-2-Le pin de maritime : <i>Pinus pinaster</i> | 32 |
| 4-1-3-Le cèdre de L'atlas: <i>Cedrus atlantica</i> | |
| III- MATERIEL ET METHODES | 33 |
| 1-Sites d'échantillonnage | 33 |
| 1-1-Caractéristiques géographique des sites d'échantillonnage | 34 |

| | |
|--|----|
| 1-2-Conditions d'élevage de la chenille processionnaire | 34 |
| 1-3-Protocole de l'expérimentation | 35 |
| 2-Etude immunitaire de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 35 |
| 2-1-Identification et quantification des hémocytes de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 35 |
| 2-2-Préparation des larves | 36 |
| 2-3-La centrifugation | 37 |
| 2-4-La constitution du milieu de culture | 37 |
| 2-4-1-Constitution du milieu utilisé | 37 |
| 2-5-L'incubation des cellules | 38 |
| 2-6-L'observation microscopique | 38 |
| 2-7-L'étude du comptage cellulaire chez les larves de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 38 |
| 2-8-L'observation microscopique et le comptage des cellules | 40 |
| 2-9-Le traitement statistique des données | 40 |
| 3-L'étude toxicologique par les huiles essentielles contre les chenilles de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 40 |
| 3-1-Le choix des molécules | 40 |
| 3-2-Les principaux paramètres des huiles essentielles testées | 41 |
| 3-3-Utilisation des huiles | 41 |
| 3-4-Les principaux constituants biochimiques des huiles | 42 |
| 3-5-La préparation du traitement et la dilution des concentrations | 44 |
| 3-5-1-La préparation des tests | 45 |
| 3-6-Le Traitement statistique des données | 45 |
| 4-L'effet des huiles essentielles sur la formule hémocytaire des chenilles de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 47 |
| 4-1-La préparation du traitement toxicologique | 47 |

| | |
|--|----|
| 5-L'étude du comportement olfactif des chenilles de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 48 |
| 5-1-La préparation des larves | 48 |
| 5-1-1-Le choix des espèces végétales à testées | 48 |
| 5-1-2-La préparation des aiguilles | 49 |
| 5-2-L'olfactomètre ou l'enceinte close pour les tests d'attractivité | 49 |
| 5-3-Le Traitement statistique des donnés | 50 |
| IV- RESULTATS | 51 |
| 1-Étude immunitaire de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 51 |
| 1-1-Identification des cellules hémocytaires | 51 |
| 1-2-Les différentes formes de réponses immunitaires observées | 52 |
| 1-2-1-L'encapsulation | 52 |
| 1-2-1-1-L'encapsulation humorale | 52 |
| 1-2-1-2-L'encapsulation cellulaire | 53 |
| 1-2-2-La phagocytose | 54 |
| 1-2-3-La mélanisation et la nodulation | 55 |
| 1-3-Comptage des cellules hémocytaires de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 55 |
| 1-4-Nombre total et spécifique des différentes cellules hémocytaires de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 56 |
| 1-4-1-Comparaison du nombre total des cellules hémocytaires entre les différents stades larvaires | 56 |
| 1-4-2-Comparaison de la moyenne du nombre spécifique des cellules hémocytaires entre les différents stades larvaires | 57 |
| 1-4-3-Comparaison du nombre des cellules hémocytaires par type cellulaire | 60 |
| 2-Étude toxicologique des chenilles de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 65 |
| 2-1-Essai insecticide des huiles essentielles sur les larves de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 65 |

| | |
|--|----|
| 2-1-1-Traitement des chenilles à l'huile du Basilic, <i>Ocimum basilicum</i> | 65 |
| 2-1-2- Traitement des chenilles à l'huile d'Eucalyptus, <i>Eucalyptus globulus</i> | 67 |
| 2-1-3- Traitement des chenilles à l'huile de cèdre, <i>Cedrus atlantica</i> | 69 |
| 2-1-4- Traitement des chenilles à l'huile de bois de Gaiac, <i>Bulnesia sarmienti</i> | 71 |
| 2-2- Paramètres toxicologiques des taux de mortalités | 73 |
| 2-2-1- Valeurs des droites de régression et des concentrations létales pour chaque molécule au 3 ^{ème} stade larvaire après 24 heures du traitement | 73 |
| 2-2-2-Valeurs des droites de régression et des concentrations létales pour chaque molécule au 3 ^{ème} stade larvaire, après 8 jours du traitement | 76 |
| 3-Effet des huiles essentielles sur la formule hémoctaire de la chenille processionnaire du pin. | 79 |
| 3-1-Etude de la variance entre le nombre total des cellules hémoctaires des chenilles non traitées et celui des chenilles traitées | 81 |
| 3-2-Etude et Comparaison du nombre moyen des cellules par type hémoctaire entre les chenilles non traitées et celles traitées | 81 |
| 3-2-1-Chez les larves non traitées | 81 |
| 3-2-2-Chez les larves traitées | 82 |
| 3-3-Etude de la variance du Nombre des cellules par type hémoctaire entre les chenilles non traitées et celles traitées | 84 |
| 3-4-Comparaison entre les différentes formes de réactions immunitaires entre les chenilles traitées et celles non traitées | 87 |
| 4-Comportement alimentaire de la chenille processionnaire | 88 |
| 4-1-Attractivité chimique des chenilles de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> vis-à-vis des différentes espèces testées | 88 |
| 4-2-Étude de l'attractivité des chenilles de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> par les différentes espèces utilisées durant les différents stades larvaires | 90 |
| 4-2-1-Attractivité par stade larvaire | 90 |
| V- DISCUSSION | 95 |
| 1- Identification et nombre des cellules hémoctaires de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 95 |

| | |
|--|-----|
| 2- Étude toxicologique des chenilles de <i>Thaumetopoea pityocampa</i> | 101 |
| 3-Effet des huiles essentielles sur la formule hémoctaire de la chenille processionnaire du pin. | 106 |
| 4-Comportement alimentaire de la chenille processionnaire | 110 |
| CONCLUSION ET PERSPECTIVES | 114 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | |
| RESUMES | |
| PUBLICATION SCIENTIFIQUE | |

Liste des abréviations :

THC : Nombre moyen des cellules hématocytaires dans l'hémolymphe

Cov : Composés organiques volatiles des huiles essentielles.

GSN: Neurones récepteurs sensoriels

ORN : Neurones récepteurs olfactifs

EO : Huiles essentielles.

UV : Ultraviolet.

CL : Concentration létale.

TL : Temps létale.

TG : Temps global

R^2 : Coefficient de détermination

TP : Temps de parcours

1-INTRODUCTION

Les insectes représentent les trois-quarts des espèces animales décrites sur la planète. Les végétaux quand à eux, représentent le groupe le plus abondant des êtres vivants (Stam *et al.*, 2014). Les plantes et les insectes coexistent dans la nature depuis environ 100 millions d'années et ont développé une importante variété d'interactions bénéfiques et délétères (Stotz *et al.*, 1999). Les insectes défoliateurs causent des épidémies à grande échelle. Qu'ils soient permanents ou cycliques, ils peuvent endommager la productivité des forêts sur plusieurs saisons, ce qui peut engendrer la mort systématique de l'arbre hôte. Les processus éco-physiologiques issus de ces défoliations chez certains insectes sont interprétés par une simple réduction de la photosynthèse, un affaiblissement de l'arbre observé après plusieurs années d'attaque et une disparition totale des forêts à long terme (Lieutier 2004 in Jactel *et al.*, 2011).

La capacité d'un insecte ravageur à infecter les forêts, et ses possibilités à prendre plus de surface chaque année, est due principalement à la résistance de ce dernier, acquise grâce à son système immunitaire qui participe par ses différents éléments à le protéger des maladies et des pathogènes infectieux (Vogelweith 2013).

L'étude immunitaire des insectes est un paramètre important dans l'interprétation de leurs comportements écologiques dans l'environnement, ainsi que dans la compréhension de leurs mécanismes de résistance aux conditions naturelles défavorables d'une part, et des différents processus de lutte toxicologique d'autre part.

L'immunité chez de nombreux insectes consiste en des réactions humorales et cellulaires pendant lesquelles, des éléments du système immunitaire tels que les hémocytes ou les antigènes, participent à des réactions inflammatoires ou parasitaires (Blandin et Levashina 2004). Les réactions humorales incluent la production des peptides antimicrobiens en présence des bactéries, ou la fabrication des complexes enzymatiques de coagulation et de mélanisation lors d'une infection immunitaire dans l'hémolymphe (Meister *et al.*, 2000). En revanche, les réactions cellulaires sont des réponses immunitaires réalisées par les hémocytes.

En effet, une réaction secondaire vis-à-vis des corps étrangers nécessite la participation des différentes cellules circulaires qui jouent un rôle important dans la formation des nodules et des capsules immunitaires. Elles peuvent également réagir par phagocytose, afin d'éliminer l'intrus (Dunn 1986 in Strand et Pech 1995).

Le système immunitaire des insectes lépidoptères est caractérisé par la présence de plusieurs cellules hémyocytaires, responsables des différents phénomènes immunitaires de l'insecte (Herbiniere 2006., Ribeiro et Brehelin 2006., Strand 2008., Hillyer 2016). Lors d'une attaque d'un insecte par un élément étranger de petite taille, comme les bactéries ou les protozoaires, la phagocytose est le processus immunitaire utilisé pour l'éliminer (Herbiniere 2006). Dans le cas d'une infection multi-bactérienne, la réaction immunitaire se traduit par une agrégation des hémyocytes autour du corps étranger, en forme d'encapsulation ou de nodulation cellulaire (Herbiniere 2006).

Le danger des insectes ravageurs devient un sujet de plus en plus préoccupant ces derniers temps. D'où la nécessité de mettre en place des méthodes de contrôle et de lutte vis-à-vis des populations impliquées.

L'utilisation des pesticides chimiques de synthèse est l'une des méthodes les plus efficaces dans la lutte contre les ravageurs. Ces molécules ont malheureusement l'inconvénient d'infecter l'environnement par des substances toxiques et polluantes, de diminuer la biodiversité naturelle ou d'attaquer la santé des consommateurs des produits alimentaires.

De plus l'apparition de nouvelles espèces résistantes aux molécules toxiques et la capacité de certaines à cumuler les résidus dans leurs organismes, a mené à l'élaboration de nouvelles molécules biologiques (khan et *al.*, 2008 in Belhamra 2011). Il est donc nécessaire de penser à d'autres moyens de lutte d'origine naturel comme l'utilisation des molécules biologiques contre ces insectes ravageurs (Ngamo et *al.*, 2016).

Ces insecticides issus des plantes sont appelés biopesticides et sont constitués de nouvelles molécules efficaces sur le point toxicologique et à faible risque écotoxicologique (Kostyukovsky *et al.*, 2000., Habbachi 2013).

Parmi ces composés naturels, on peut citer les huiles essentielles qui représentent un mélange complexe de composés volatils, issus par extraction d'une plante entière, ou d'une partie dont l'origine taxonomique doit être connue (Franz et Novak 2010). Chimiquement, les huiles essentielles sont dérivées des terpènes des plantes et de leurs composés oxygénés. Il a été démontré que chacun des constituants de ces molécules possède des propriétés antibactériennes (Burt 2004), antifongiques (Kalemba et

Kunicka 2003), antivirales (Mayer 2012), insecticides et larvicides (Zhang *et al.*, 2003).

L'utilisation des huiles essentielles est connue depuis plusieurs siècles (Elkoli 2016). En effet, une large gamme d'huile essentielle issue de différentes espèces végétales ou d'une combinaison de plusieurs huiles, a fait l'objet de plusieurs études toxicologiques (kim *et al.*, 2003., Kaya *et al.*, 2008., Cakir *et al.*, 2016., Alghamdi 2018., Bahr *et al.*, 2019) vis-à-vis de différentes souches de bactéries, de champignons ou d'autres insectes ravageurs.

Ces mêmes plantes décrites plus haut comme de potentiels insecticides, renferment des composés intervenant parfois dans des réactions de résistance et de protection de la plante contre les parasites et les insectes ravageurs, en effet les végétaux sont caractérisés par leur contenu riche en métabolites secondaires variables selon la structure de leurs tissus (Benslama 2016).

Ces métabolites peuvent être primaires tels que les acides aminés ou les acides nucléiques responsables de la croissance des cellules (Benslama 2016), ou secondaires, représentés essentiellement par des composés phénoliques, de terpènes, et d'alcaloïdes, utilisées dans plusieurs domaines comme la pharmacologie ou l'agroalimentation (Rhodes *et al.*, 1994., Elkoli 2016).

Les métabolites secondaires sont responsables en outre de la transmission des signaux cellulaires dans les tissus végétaux, afin d'activer des réactions de résistance et de protection de la plante vis-à-vis des parasites et des insectes ravageurs (Malamy *et al.*, 1990., Djebali 2008)

D'une autre part, les insectes ont développés quant à eux plusieurs comportements éco-physiologiques pendant leur cycle de vie, en utilisant des signaux chimiques dans la plupart des activités, pouvant être transmis même à longue distance, afin d'attirer l'insecte vers son lieu de ponte ou vers sa nourriture (Whiteman et Perce, 2008 in Dippel *et al.*, 2016)

Les insectes phytophages peuvent être monophage ou polyphages. Ils peuvent se nourrir sur un ensemble d'espèces végétales appartenant au même genre ou à la même famille, comme ils peuvent aussi se nourrir d'espèces végétales issues de familles différentes (Bernays et Chapman 1994).

Ces insectes utilisent leur sens de vision, d'olfaction et de goût pour localiser leur source de nourriture préférée. Une fois le site déterminé, et en cas de réponse positive à un stimulus olfactif, l'insecte se déplace et s'oriente vers la source odorante pour s'en nourrir (Nicole 2000), ils sont généralement attirés, à l'odeur transmise par la plante grâce aux nombreux récepteurs olfactifs localisés sur les neurones de leurs antennes (Picimbon 2002., Niimura 2009).

La chenille processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa* Dennis et Schiff., Lepidoptera: Notodontidae) est un insecte important dans la dynamique forestière dans de nombreuses régions (Rivière 2011., Boutte 2012). C'est aussi un insecte ravageur des forêts du pin et du cèdre dans le monde (Martin et Bonnet 2008). En s'attaquant à plusieurs feuilles d'arbres, les chenilles commencent à affaiblir les conifères, en causant des défoliations à grande échelle (Hodar *et al.*, 2004). Elle est considérée comme l'insecte le plus destructeur des pinèdes dans la région méditerranéenne (Hodar *et al.*, 2003).

L'affaiblissement des forêts peut réduire leur résistance contre d'autres ennemis des forêts telles que les incendies, les conditions de sécheresse (Carle 1975., Dupuy *et al.*, 2015). Et en raison de la diminution de la croissance et de capacité de reproduction, l'arbre se trouve affaibli et est donc plus vulnérable aux attaques d'autres ravageurs (Martin et Bonnet 2008). Ces défoliations peuvent à terme causer la mortalité totale des arbres comme effet à grande échelle en raison des défoliations successives (Hodar *et al.*, 2003., Jalbert 2015).

L'invasion des populations de la chenille processionnaire du pin augmente continuellement à des niveaux importants dans les forêts de pin et de cèdre de quelques régions, et ont un impact nocif sur les écosystèmes végétaux, car en plus des pertes économiques considérables, les dégâts forestiers peuvent aller jusqu'à la modification totale des paysages (Rivière 2011).

En Algérie, et depuis son apparition, l'accroissement remarquable du taux d'infestation par la chenille processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff) dans plusieurs pinèdes du Nord du pays, a dépassé nettement le seuil tolérable en mettant en danger les jeunes reboisements de pin d'Alep, (*Pinushalepensis*) (Kerris 2002). Des relevés de la campagne de lutte contre la chenille processionnaire du pin ont indiqué que plus de 200 miles hectares des pinèdes algériennes sont infestées chaque année.

C'est aussi un problème de santé public, car à partir du 3^{ème} stade larvaire et en cas de contact avec l'insecte ; les poils fins des chenilles qui contiennent des toxines peuvent engendrer des réactions allergiques telles qu'une irritation cutanée ou des problèmes respiratoires pouvant constituer une menace pour la santé humaine et animale (Rivière 2011., Martin et Jambois 2016).

Jusqu'aux années 90, L'utilisation des produits chimiques dans la lutte contre la chenille processionnaire du pin était la méthode la plus répandue (Brinquin 2015). Beaucoup de travaux ont eu comme objectif l'effet des insecticides chimiques à savoir l'Endosulfan, le Dimilin ou le Malathion sur les larves et les adultes de la chenille processionnaire (Martin 2007). Cela a changé ces dernières années pour la procédure de piégeage, et la lutte biologique (Brinquin 2015). En effet, l'utilisation de *Bacillus thuringiensis*, a fait l'objet de plusieurs études toxicologiques contre l'insecte lépidoptère (Martin 2007).

Malgré les nombreuses méthodes de lutte contre la chenille processionnaire du pin, aucune méthode alternative n'a aboutie à la disparition totale des populations de la chenille processionnaire, à la maîtrise de sa densité, ou à la limitation de sa propagation à un seuil tolérable (Mortureux 2012).

Au vu des dégâts occasionnés par la chenille processionnaire du pin dans nos forêts et le problème de santé publique dont elle est responsable chez l'être humain et les animaux, nous avons orienté notre travail sur la connaissance de ses différents mécanismes et réactions immunitaires, ainsi que sa façon de se protéger et de se défendre contre ses ennemis naturels dans son environnement.

Notre étude de la chenille processionnaire *Thaumetopoea pityocampa* du pin s'est donc articulée sur plusieurs axes principaux :

Dans un premier temps, nous avons procédé à l'étude de la formule hémoctaire de l'insecte qui a été réalisé grâce à l'identification des cellules hémoctaires présentes dans son hémolymphe pendant le stade larvaire, ensuite par une quantification de ces cellules à chaque stade de développement. L'évolution du nombre total et spécifique des cellules hémoctaires est également comparée entre les différents stades larvaires.

Nous avons également étudié les fonctions de ces cellules hémoctaires dans l'hémolymphe de l'insecte, en évaluant leur participation dans les différentes réactions immunitaires et leur capacité à protéger l'insecte au cours des réactions

d'encapsulation humorale et cellulaire, ainsi que l'évolution de ces processus immunitaires le long du développement larvaire de l'insecte en présence des bactéries et des protozoaires.

En deuxième lieu, nous avons abordé l'effet de certaines huiles essentielles sur la mortalité des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* à différents stades larvaires. Le traitement toxicologique à différentes concentrations issues des molécules extraites nous a permis d'évaluer des concentrations létales par stade larvaire.

Ensuite l'effet de ces huiles sur la formule hémoctaire de l'insecte est développé, en comparant le nombre total et spécifique des hémocytes des chenilles non traitées à celles issues des chenilles traitées aux huiles essentielles.

Pour finir, nous avons expérimenté le comportement alimentaire de la chenille processionnaire du pin, qui est réalisé grâce à des tests comportementaux de l'insecte en « enceinte close ». Des essais d'attractivité chimique des larves vis-à-vis des aiguilles de plusieurs espèces de pin et de cèdre, nous ont aidé à estimer le temps que mettent les chenilles pour détecter l'odeur des aiguilles et pour les atteindre. La comparaison des temps de la détection de la nourriture permet d'évaluer la préférence nutritionnelle de l'insecte, en présence d'une certaine variété de nourriture.

II-ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1-Présentation de la chenille processionnaire du pin :

1-1-Systématique et caractères morphologiques de *Thaumetopoea pityocampa*:

Thaumetopoea Pityocampa est un lépidoptère de la famille des Notontidea. L'insecte est un papillon nocturne à vie très brève, dont les larves sont appelées chenilles processionnaires du pin (Soltani et al., 1988). Le cycle de vie de l'espèce est annuel, il commence par la ponte et se termine par le stade adulte, en passant par cinq stades larvaires et la nymphose.

La chenille processionnaire du pin, *Thaumetopoea pityocampa* est l'un des principaux ravageurs des forêts de pin et de cèdre sur tous les pays du pourtour de la méditerranée (Martin et Bonnet 2008). Se nourrissant d'aiguilles et de feuilles, la chenille au stade larvaire provoque un ralentissement de la croissance, et donc une vulnérabilité de ces arbres face aux attaques d'autres ravageurs, aboutissant dans certains cas à une mort totale de l'arbre après plusieurs années (Elie 2009).

La chenille processionnaire du pin (**Fig.01**), est décrite pour la première fois par Schiffer Muller en 1776, connue par le genre Bombyx (Rivière 2011). En Algérie, elle est signalée dans plusieurs régions du nord du pays à savoir la wilaya de Batna, Guelma, Biskra, Djelfa, Blida..... (Dgf 2004). Sa présence est également confirmée à la suite d'investigations dans plusieurs autres pinèdes et cédraies du pays (Kerris 2002).



Figure 01. Processionnaire du pin (Photo originale)

La processionnaire du pin s'attaque à toutes les espèces de pin et de cèdre. Son comportement alimentaire lui permet de développer des préférences alimentaires pour une espèce au dépend d'une autre (Elie 2009).

Depuis son apparence dans le monde, l'insecte a enregistré des préférences pour le Pin laricio (*Pinus nigra.*), et surtout la sous espèce du pin noir d'Autriche, ensuite le pin maritime (*Pinus pinaster*), le pin sylvestre (*Pinus sylvestris*), le pin d'Alep (*Pinus halepensis*), et enfin les espèces de cèdre : le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) et le cèdre du Liban (*Cedrus libani*) (Huchon et Demolin 1970).

Le genre *Thaumetopoea* renferme plusieurs espèces. Donc on peut citer : *Thaumetopoea bonjeani*, *Thaumetopoea pinivora*, *Thaumetopoea processionea*, *Thaumetopoea pityocampa* et *Thaumetopoea wilkinsoni*. Ces espèces peuvent partager la même niche écologique et se nourrir sur la même espèce le long des stades larvaires. Elles ne sont distinguables que par certains paramètres morphologiques, telles que l'intensité de la couleur des ailes, et biologiques telles que le cycle de vie et la date d'éclosion des œufs (Rivière 2011).

La biologie de *Thaumetopoea pityocampa* SCHIFF est bien connue et citée dans de multiples travaux menés par de nombreux chercheurs, que ce soit en Afrique du Nord ou en Europe. L'insecte a fait l'objet de plusieurs études biologiques et écologiques concernant son cycle de vie, son comportement alimentaire, son éthologie et sa distribution dans les grandes forêts mondiales. Parmi ces études, on peut citer les travaux d'Huchon et Demolin, (1970), Dajoz (1980), Zamoum, (1986), Bertella (1987), Graf et M'Zibri, (1994), Sbabdji, (1997) et Morsli, (2005).

1-2-L'affiliation systématique de *Thaumetopoea pityocampa* selon Denis et schiffermüller en 1775 :

Règne : *Animalia*.

Embranchement : *Arthropoda*.

Classe : *Insecta*.

Super-ordre : *Endopterygota*.

Ordre: *Lepidoptera*.

Famille: *Notodontidae*.

Sous-famille: *Thaumetopoeinae*.

Genre: *Thaumetopoea*.

Nom binominal : *Thaumetopoea pityocampa*.

Synonymes : *Traumatocampa*

Espèce : *pityocampa*.

1-3-Description des stades de développement de *Thaumetopoea pityocampa* :

- La ponte

La femelle chenille processionnaire du pin détecte son site de ponte et rassemble deux aiguilles à l'extrémité d'un rameau pour déposer ses œufs. La forme des œufs ressemble à un manchon de quelque centimètre de longueur. Les œufs sont recouverts d'écaillés protectrices de couleur beige-clair (Demolin 1969), leur nombre varie entre 100 et 300 œufs sur un seul manchon (Demolin 1969) (**Fig.02**).



Figure 02. Manchon des œufs de *Thaumetopoea pityocampa* (Photo originale)

- Les chenilles

La période d'éclosion va de fin juillet à la fin septembre, selon des conditions climatiques de température et de pression atmosphérique précises (Martin 2007). Le développement de la chenille processionnaire dure entre quatre et huit mois, et s'effectue en cinq stades larvaires de L1 en L5, pendant lesquels les chenilles vont rester groupées (Martin et Bonnet 2008) (**Fig. 03**).



Figure 03. Chenilles de la processionnaire du pin aux différents stades larvaires
(Photos originale)

Les chenilles de la processionnaire du pin se développent tout au long des stades larvaires, leurs tailles augmentent et leurs couleurs changent d'un stade à l'autre (Rivière 2011). Les cinq stades larvaires sont différenciables par la quantité de soies,

la taille de la chenille (en longueur et diamètre), et le volume de la capsule céphalique (Demolin 1967).

Pendant le premier stade larvaire, les chenilles de couleur jaune mesurant environ trois millimètres et sont caractérisées par la présence d'une capsule céphalique noire et volumineuse. Au cours du deuxième stade larvaire, les chenilles deviennent rousses avec plus de soies latérales. La taille de la chenille et son appareil urticant continue ensuite à se développer pendant les stades larvaires évolués jusqu'à atteindre environ 5 cm de longueur en dernier stade larvaire (Rivière 2011).



Figure 04. Nid d'hiver de la chenille processionnaire du pin (Photos originale)

Dès l'émergence des chenilles en L1, les larves commencent à se nourrir sur les aiguilles du pin et tissent un support en soie constituant le nid d'hiver (**Fig.04**) qui accompagne les chenilles durant tout leur stade larvaire (Elie 2009). Le nid d'hiver est un abri protégeant les chenilles du froid et des rayons infrarouges (Martin et Bonnet 2008).

- **La chrysalide**

À la fin de leur cycle, les chenilles quittent l'arbre en procession et cherchent un endroit chaud et meuble pour s'enfouir à quelques centimètres de profondeur de la surface du sol. Elles tissent un cocon qui se transforme en chrysalide et rentre en nymphose. Selon les régions et les conditions climatiques (Denis et Schiffer müller 1775). Cette phase souterraine peut durer de quelques jours à plusieurs mois, et se déroule généralement entre avril et Août. Quand les conditions climatiques ou édaphiques sont défavorables, la nymphose peut être prolongée jusqu'à cinq ans (Martin et Bonnet 2008) (**Fig.05**).



Figure 05. Forme de chrysalide (photo originale).

- L'émergence des adultes

L'émergence des adultes débute par la sortie des papillons de leurs chrysalides dans la période qui s'étale habituellement de la mi-juin à la fin août suivant les régions et les conditions climatiques (Sbabdji et *al.*, 2015). Les papillons mâles se distinguent des femelles par leur petite taille (Martin et Bonnet 2008) (**Fig.06**).

Une fois accouplés, les mâles meurent et les femelles cherchent un rameau d'aiguilles de pin, pour la ponte. Les œufs sont déposés sur un manchon d'écailles, et leur nombre varie entre 100 et 400 œufs par ponte (Cochard et *al.*, 2014).



Figure 06. Papillon de *Thaumetopoea pityocampa* (Denis et Schiffermüller 1775)

-La procession

Une fois que les chenilles terminent leur développement larvaire, et que les conditions climatiques sont favorables, elles quittent leurs nid d'hiver formant une procession et vont s'enfouir dans le sol (**Fig.07**). Le phénomène de la procession est la manifestation la plus spectaculaire du caractère social de la chenille processionnaire. La procession avec à sa tête, une unique chenille servant de guide, cherche l'endroit le plus éclairé et le plus chaud pour réaliser sa nymphose. La longueur des processions peut atteindre parfois jusqu'à 12 mètres (Demolin 1969).



Figure 07. Procession des chenilles (Photo originale)

- L'enfouissement

Sbabdji (1997) indique que la descente des processions commence de la fin janvier jusqu'au mois de juin. D'après Huchon et Demolin (1970) : A une température inférieure à 10° C, les chenilles se regroupent à la surface de la terre, s'enfouissent et s'enterrent plus profondément dans le sol (**Fig. 08 et 09**). Quand le climat est particulièrement chaud, les chenilles peuvent rentrer en nymphose dans les clairières et même en sous-bois (Huchon et Demolin 1970).



Figure 08. Enfouissement sur terrain (Photo originale)



Figure 09. Enfouissement en laboratoire (Photo originale)

1-4-Cycle de vie et différents stades de développement de la chenille processionnaire du pin :

Il commence généralement par la ponte en mois d'août et se termine par la nymphose en mois d'Avril. La femelle met ses œufs sur des manchons de pin en été, l'éclosion se déroule en automne, donnant naissance à des chenilles dont le stade larvaire s'étale de 6 à 9 mois en fonction des conditions écologiques (Zamoum et *al.*, 2007). En fin de la saison froide, les chenilles quittent l'arbre hôte et le nid d'hiver, pour atteindre des sites diversifiés de nymphose (Montoya et Robredo 1972 in Demolin et *al.*, 1994). La procession et l'enfouissement aident la population de la

chenille processionnaire à localiser des endroits favorables pour s'enterrer (Rivière 2011). Dans les conditions naturelles, le cycle de la processionnaire s'achève en une année, mais il peut s'étaler sur 2 à 4 ans suivant la région et la durée de la diapause (Huchon et Demolin 1970)(Fig.10).

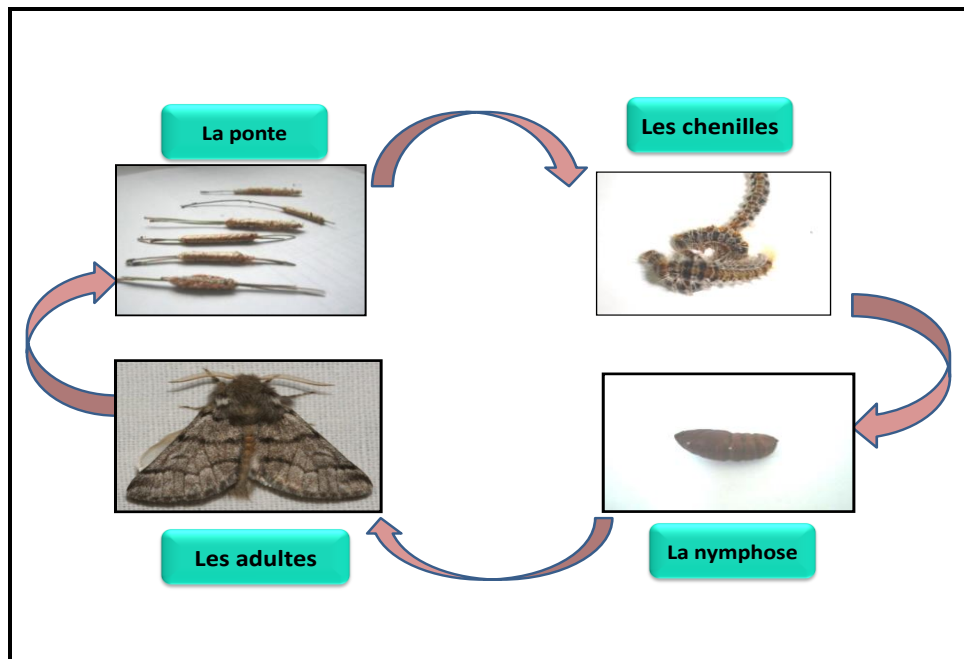


Figure 10. Le cycle de développement de la chenille processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* (Photo originale)

1-5-La distribution géographique de *Thaumetopoea pityocampa* :

La répartition géographique de la chenille processionnaire du pin dépend de plusieurs facteurs écologiques, tels que l'ensoleillement, la photopériode, la température, l'altitude et la latitude. Grâce à l'effet du réchauffement climatique, l'expansion de la chenille processionnaire du pin en Europe a remarquablement progressée en 2003, pour atteindre les alpes italiennes (Battisti et *al.*, 2005).

Certaines zones géographiques sont plus favorables que d'autres au développement des chenilles processionnaires du pin. Les facteurs climatiques (gel, chaleur...), la présence des prédateurs et des parasites, ainsi que la quantité et la qualité des ressources alimentaires jouent un rôle important dans la distribution géographique de l'insecte.

La chenille processionnaire du pin peut s'adapter aux conditions climatiques défavorables dans certaines régions et peut même améliorer la phénologie de son cycle de vie afin de survivre (Robinet et *al.*, 2013).

La processionnaire du pin est originaire du sud d'Europe et des pays méditerranéens. Elle est présente dans toute l'Europe et dans certaines régions d'Asie. Le papillon de nuit a récemment été introduit en Grande-Bretagne en 2005 (Groene et Meurisse 2012).

Sa première découverte en Algérie est enregistrée dans des forêts du Nord du pays. Après, son aire de répartition s'est remarquablement étendue sur des jeunes plantations dans tout le territoire national (Demolin 1988). La chenille processionnaire du pin semble avoir plus de préférence pour le climat aride et semi aride que le climat humide (DGF 2004). Des examens d'enquêtes et des suivis de l'insecte dans le territoire national montrent clairement que l'ampleur de l'infestation par la processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff) présente un vrai danger pour l'environnement (Zamoum et *al.*, 2007) (**Fig.11**).

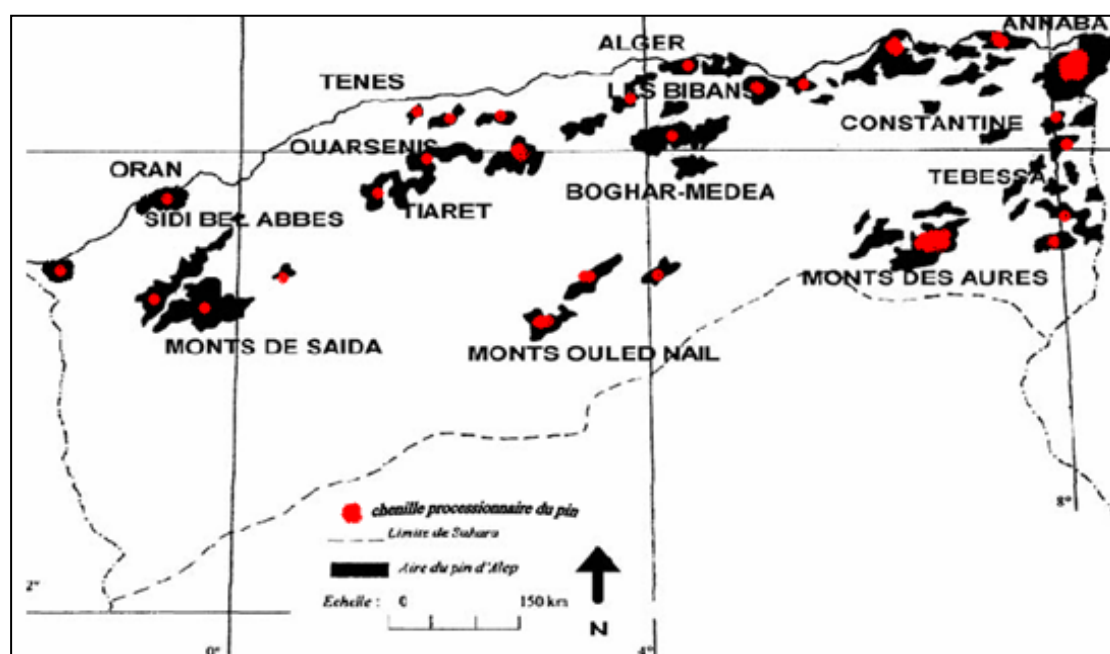


Figure 11. Carte de la distribution de la chenille processionnaire du pin en Algérie. (Zamoum 1986).

1-6-Les dégâts engendrés par la chenille processionnaire du pin :

Les dégâts de la chenille processionnaire du pin sont à la fois économiques, écologiques et sanitaires. Ses défoliations sont de plus en plus remarquables dans les grandes forêts et les jeunes reboisements de pin et de cèdre (Battisti 1988., Carus 2004., Raymond 2009., Jactel et *al.*, 2012.,). La présence des nids dans les plantations des forêts de production, des parcs et des jardins publics, est de plus en plus gênante et aurait même causé la migration d'autres espèces cohabitantes (Rivière 2011). C'est également un problème de santé publique qui peut développer des réactions allergiques chez l'être humain et les animaux (Martin et Jambois 2016) (**Fig.12**). A cause de ses poils urticants, la chenille processionnaire du pin occasionne des allergies pouvant causer des lésions cutanées et oculaires, et plus rarement, des détresses ou insuffisances respiratoires et des réactions anaphylactiques, ainsi que des atteintes buccales marquées chez les animaux (Rivière 2011).



Figure 12. Défoliation causée par la chenille processionnaire du pin (Photo originale)

1-7-Les moyens de lutte contre la chenille processionnaire du pin :

La lutte contre la chenille processionnaire du pin a pour principal objectif de maintenir les populations à des niveaux tolérables, afin de protéger la santé humaine et animale ainsi que les peuplements forestiers (Martin et Jambois 2016). Il existe plusieurs types de mesures de lutte contre ce ravageur :

- **La lutte mécanique** :

C'est une méthode qui se réalise sur terrain, et qui consiste à enlever et détruire manuellement les nids de la chenille processionnaire du pin dès leur apparition (Martin

et Brinquin 2017). Cette méthode est réalisée sur les jeunes plantations du pin, et sur les petites surfaces dans les parcs et les jardins publics (Martin et Bonnet 2008). Les nids enlevés doivent être détruits par incinération, afin d'éviter la dispersion des poils urticants et d'être contaminé (Rivière 2011).

- **La lutte biologique :**

Après une longue utilisation des pesticides chimiques dans la lutte contre les insectes ravageurs, représentée généralement par des inhibiteurs de mue et des perturbateurs du développement larvaire des insectes, comme le « Diflubenzuron » la « Bifenthrine » et la « Deltaméthrine » (Rivière 2011), et à cause des effets néfastes de ces molécules sur la nature, les entomologistes ont commencé ces dernières années à s'intéresser à l'utilisation de nouvelles molécules biologiques protectrices de l'environnement et fiables dans les processus toxicologiques contre ces ravageurs. Le *Bacillus thuringiensis kurstaki* (BtK) est l'insecticide biologique le plus utilisé contre les chenilles processionnaires du pin.

Le traitement aérien se réalise dès les premiers stades larvaires de l'insecte (Martin et Bonnet 2008). Cette méthode a l'avantage d'être spécifique aux lépidoptères, et de respecter la nature et préserver la santé des êtres vivants (Martin et Brinquin 2017).

- **La lutte sylvicole et la gestion des paysages :**

Cette méthode consiste à améliorer la biodiversité des peuplements et de suivre et contrôler l'infestation par la chenille processionnaire dans la nature ainsi qu'introduire de nouvelles espèces végétales pouvant réduire l'attaque de l'insecte. (Martin et Brinquin 2017). Il est aussi important de savoir que l'implantation de quelques espèces végétales autour des arbres de pin, peut perturber et réduire la colonisation par la chenille processionnaire (Martin et Bonnet 2008).

- **La lutte par les ennemis naturels :**

Malgré son efficacité, c'est la méthode la moins utilisée dans la nature. A cause de son comportement défensif, peu d'espèces peuvent résister au caractère urticant de la chenille processionnaire, à quelque exception, comme celle de la mésange bleue (**Fig.13**) qui est un oiseau prédateur des chenilles processionnaires non influencés par ces poils urticants (Martin et Bonnet 2008). L'implantation des nichoirs des mésanges dans les milieux infestés par la chenille au début des stades larvaires peut réduire sa présence d'une façon très efficace (Martin et Brinquin 2017).



Figure 13. Mésange bleu (Webographie 01)

- **La lutte par phéromones sexuelles**

La phéromone sexuelle est une substance émise par la femelle lors de la saison de l'accouplement, et le piégeage consiste dans ce cas à placer une surface sensible contenant une phéromone de synthèse dans un espace naturel, afin de capturer un maximum de papillons mâles (Martin et Bonnet 2008) (**Fig.14**). La méthode de piégeage à l'avantage d'être également spécifique à la chenille processionnaire du pin, et d'être utilisée au stade adulte (Rivière 2011). Ensuite une destruction des papillons capturés dans les pièges placés, est nécessaire à la fin de chaque procédure (Martin et Brinquin2017).



Figure 14.Piège à phéromone (Martin 2006)

2-Étude du système immunitaire de *Thaumetopoea pityocampa* :

2-1-L'immunité cellulaire chez les insectes :

L'immunité chez les insectes est assurée par des cellules appelées hémocytes. Comme indiqué dans la littérature, ces dernières sont réparties en plusieurs types de cellules, les populations les plus communes sont les pro-hémocytes, les granulocytes, les plasmocytes, les sphérulocytes et les oenocytoides (Lavigne et Strand 2002). Lors d'une infection, les hémocytes effectuent la majeure partie de la réponse immunitaire sur les particules étrangères par différentes réactions telles que l'encapsulation, la phagocytose, ou la mélanisation (Noël *et al.*, 1994) (**Fig.15**).

La réponse phagocytaire qui est l'une des plus importantes réactions immunitaires varie selon la nature des particules étrangères, ce qui pourrait être relié à une différence dans les antigènes de surface et les différents mécanismes de détection des cellules. D'autres réactions immunitaires telles que la coagulation et la mélanisation se déroulent dans l'hémolymphe de l'insecte afin d'éliminer certaines particules (Bayne *et al.*, 1979). Selon le mécanisme de ces réactions, l'immunité chez les insectes peut être de deux types :

2-1-1-L'immunité innée :

L'immunité innée représente la première réaction immunitaire contre les infections, elle englobe la reconnaissance des molécules étrangères et agit de manière indépendante de la nature précise de l'antigène, ce qui lui confère une certaine polyvalence (Gaignier 2014).

Le système immunitaire inné des insectes est composé d'une grande variété de réponses spécifiques et non spécifiques activées en réponse à la présence des parasites (Santoyo et Aguilar 2011). L'ensemble de ces mécanismes permet de mieux reconnaître et neutraliser ces organismes étrangers (Gaignier 2014) (**Fig.15**).

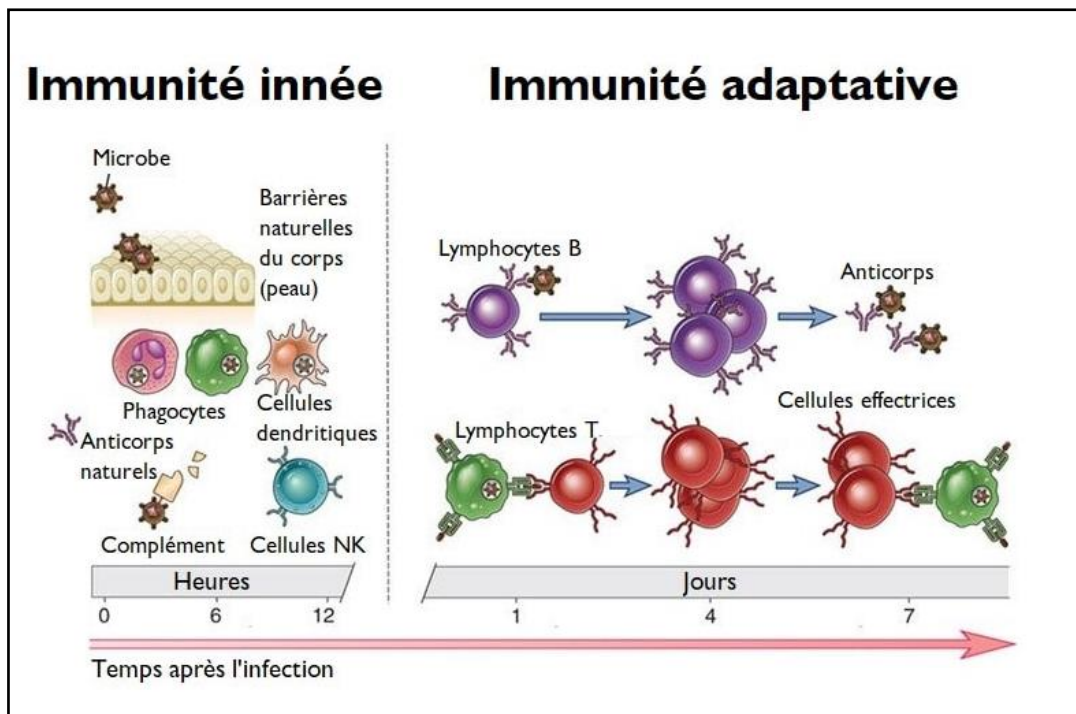


Figure 15. Les cellules hémocytaires et leurs rôles immunitaires (Abul et Lichtman 2002)

2-1-2-L'immunité adaptative :

La réponse immunitaire innée n'est pas toujours efficace, lorsque par exemple les microorganismes sont très nombreux, ou très virulents, ou qu'ils échappent à l'immunité innée, c'est alors l'immunité adaptative qui va intervenir, en faisant appel à des cellules hématocytaires particulières : les lymphocytes T et B, en plus des différentes cellules hématocytaires telles que les plasmocytes et les granulocytes capables de développer des réactions plus adaptées à la nature du pathogène (Gaignier 2014).

L'immunité adaptative nécessite une reconnaissance préalable de celui-ci, ce qui induit une phase de latence lors de la réponse "primaire", c'est-à-dire de la première rencontre avec l'antigène (Bergereau 2010). De plus, l'immunité adaptative va permettre de conserver cet antigène en mémoire grâce à la persistance de lymphocytes spécifiques de celui-ci après son élimination. Une infection ultérieure entraînera alors une réponse plus rapide et plus intense, appelée réponse "secondaire" (Gaignier 2014) **(Fig.15)**.

Comme indiqué dans la littérature, les populations d'hématocytes les plus fréquentes chez les insectes, sont les prohématocytes, les granulocytes, les plasmocytes, les sphérulocytes et les œnocytoïdes (Lavine and Strand 2002).

Bien que les hématocytes possèdent des fonctions physiologiques similaires sur les différentes espèces animales, leur classification varie selon leur rôle immunitaire chez les insectes (Zhou *et al.*, 2014).

2-2-Les cellules hématocytaires et leurs rôles immunitaires:

- Les prohématocytes

Les prohématocytes sont plus observés dans l'hémolymphe des jeunes stades larvaires des insectes. Elles représentent l'origine de tous les autres types hématocytaires. En effet pendant le développement du système immunitaire des insectes, les prohématocytes se transforment en plasmocytes et granulocytes chez la plupart des insectes. Leur cytoplasme montre un développement remarquable du réticulum endoplasmique rugueux, de petites vésicules denses et du cytosquelette de microtubules développés (Giulianin *et al.*, 2003).

- **Les granulocytes**

Ce sont des cellules qui possèdent de nombreuses granulations. Selon ces granules, ces cellules peuvent être soit des neutrophiles, des Éosinophiles ou des Basophiles. Elles participent à la phagocytose et aux différentes réactions immunitaires lors d'une infection ou d'une inflammation. Leur forme circulaire est dotée d'une membrane plasmique à activité exocytotique ou endocytotique, avec quelques petites vésicules irrégulières claires et la formation des pseudopodes à sa surface (Giulianin *et al.*, 2003).

- **Les plasmocytes**

Les plasmocytes sont des hémocytes de grande taille, qui possèdent souvent des pseudopodes, leur permettant de participer à tous les phénomènes de réactions immunitaires. La membrane plasmique possède une forme irrégulière. Au niveau du noyau, la chromatine est finement distribuée en plus de la présence de mitochondries rondes, un Réticulum endoplasmique Rugueux, un Golgi et des vacuoles bien développés (Brayner *et al.*, 2007).

- **Les sphérulocytes**

Ce sont des cellules reconnues comme acteurs importants des réponses immunitaires. Ils participent aux différentes réactions par la sécrétion des facteurs antibactériens comme les agglutinines et les lysines. Ils peuvent aussi phagocyter ou encapsuler des particules étrangères (Chia et Xing 1996).

- **Les Oenocytoïdes**

Les Oenocytoïdes sont des cellules sécrétrices. Ces cellules sont importantes pour la croissance et le développement, leur cytoplasme est d'un aspect granulaire finement homogène avec une densité électronique moyenne, leur cytoplasme ne contient pas beaucoup d'organites à l'exception de : petits mitochondries ovales, quelques granules, vésicules claires, et de nombreux ribosomes libres (Giulianin *et al* 2003).

- **Les débris cellulaires**

Ils présentent la fraction cellulaire dans l'hémolymphe, formée essentiellement par des restes de cellules détruites lors d'un phénomène immunitaire. Lorsque des cellules hémocytaires meurent, elles se transforment en débris cellulaires et peuvent participer

à d'autres phénomènes tel que l'encapsulation humorale, et finit souvent par être éliminés par phagocytose (Bergereau 2010).

2-3-Les principales réactions immunitaires chez les insectes :

2-3-1-L'encapsulation :

L'encapsulation est une réaction immunitaire permettant l'élimination des corps étrangers de taille supérieure que celle des hémocytes comme les métazoaires (Debnath 2017). Elle nécessite la participation des cellules hémocytaires et principalement les plasmocytes, qui entourent le corps étranger et forment des capsules circulaires afin de le neutraliser.

L'encapsulation est un processus bien décrit chez les insectes et ressemble dans ses réactions immunitaires à la mélanisation, elle commence par la fixation de la phénoloxdase à la surface des granulocytes et des plasmocytes, ce qui entraîne la mélanisation des hémocytes, puis celle des capsules hémocytaires (Söderhäll et Cerenius 1998., Ling et Yu 2005). Le mécanisme de l'encapsulation se déroule en deux phases principales :

2-3-1-1-L'encapsulation humorale :

L'encapsulation humorale est une réaction efficace de résistance envers les nématodes et les parasites, son déroulement in vitro dans l'hémolymphe isolée, permet son observation sous microscope et la manipulation des différentes conditions expérimentales (Goetz et al., 1977). L'encapsulation humoral se déroule non seulement envers les parasites, mais aussi envers d'autres pathogènes comme les bactéries (*Bacillus thuringiensis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*), les champignons (*Beauveria bassiana*, *Mucor hiema lis*, *Aspergillus niger*) (Goetz et al., 1977). Ces réactions entraînent une agrégation des débris des cellules autour de l'élément à éliminer, afin de pouvoir faciliter l'encapsulation cellulaire.

2-3-1-2-L'encapsulation cellulaire :

La présence des particules étrangères de taille plus importante qu'une bactérie, mène à la formation d'une capsule hémocytaire composée de plusieurs cellules immunitaires, et formée de plusieurs vésicules enzymatiques dans les granules des cellules libérées au niveau des zones de la surface des particules exogènes encapsulées (Kobayashi et al., 1990). Chez certains insectes, les molécules libérées par les deux types d'hémocytes granulaires, peuvent induire le processus d'encapsulation cellulaire (Kobayashi et al., 1990).

2-3-2-La nodulation :

Les nodules sont des agrégats pluricellulaires d'hémocytes, capables de renfermer, malgré leur petite taille, un nombre important de bactéries. Ces nodules peuvent adhérer aux tissus et aux différentes cellules hématocytaires. Chez les crustacés, la première description de la formation des nodules, est détecté chez les crabes (Smith et Ratcliffe 1980., White et Ratcliffe 1982) pour lesquels les nodules sont principalement localisés dans les branchies et les sinus de l'hépatopancréas. Chez le crabe (*Carcinus maenas*), ce sont les hémocytes granulaires qui s'agrègent pour former le nodule, leur dégranulation peut également être observée lors du processus de nodulation (Smith et Ratcliffe 1980).

2-3-3-La phagocytose :

La phagocytose est un processus qui contribue à l'élimination des particules étrangères lors d'une réponse immunitaire défensive, ou des éléments de taille importante comme les bactéries pour s'en nourrir (Boulais 2010). Le phagosome entoure et cerne ces particules suivant plusieurs étapes successives commençant principalement par la reconnaissance de l'élément à éliminer, l'attachement du phagosome à ces particules à l'aide des pseudopodes, l'ingestion cellulaire, l'assemblage des phagosomes et sa fusion avec les lysosomes contenant des enzymes de digestion, et enfin la lyse des organismes phagocytés et leur élimination (Bayne 1990).

Plusieurs types hématocytaires circulaires comme les plasmocytes et les granulocytes peuvent participer au mécanisme de phagocytose (Giulianini *et al.*, 2003., Ling *et al.*, 2005., Ottaviani, 2005, 2006). Chez certaines espèces telles que le crabe (*Carcinus maenas*) et l'écrevisse (*Pacifastacus leniusculus*), ce sont plutôt les hémocytes hyalins qui sont les principales cellules phagocytaires (Person *et al.*, 1986). La phagocytose peut également être réalisée par les macrophages comme c'est le cas pour l'abeille ouvrière (Belaid et Duvic 2013), ou par les monocytes et les neutrophiles chez certains mammifères (Lamprou *et al.*, 2007).

2-3-4-La mélanisation :

C'est une réaction immunitaire spécifique aux insectes (Bataillé 2006), qui consiste principalement à la production de mélanine, un pigment noir détecté chez

certains types cellulaires responsables de la mélanisation (De Gregorio *et al.*, 2002). Elle correspond à une réaction enzymatique ou une protéase impliquée dans les cascades protéolytiques responsables de la fabrication des mélanines lors d'une infection ou d'une coagulation (Lemaitre 1999).

La mélanisation est considérée comme l'une des principales réactions du système immunitaire inné. Lors d'une infection parasitaire, une réponse se manifeste sur les sites d'infection par les différentes réactions de phagocytose et d'encapsulation (Nappi *et al.*, 2005). La mélanisation est plus observée chez les insectes lors des blessures (Bataillé 2006).

3-Les huiles essentielles et leur utilisation contre les insectes ravageurs :

3-1-Définition d'une huile essentielle :

C'est un produit naturel extrait de plante, d'aspect fluide et de couleurs variables, généralement odorant et de composition variée. L'huile essentielle est obtenue par extraction à vapeur d'eau de plusieurs parties de la plante telle que la feuille, la fleur, ou la tige (Calvet, 2012). C'est un ensemble de molécules complexes, comprenant des terpènes, des alcools, des aldéhydes, ou des cétones (Benouali 2016). Toutes les huiles essentielles sont contenues dans des parties végétales mais certaines ne sont actives qu'une fois mises au contact de l'eau (Durville 1930).

Selon la technique de l'extraction, les huiles essentielles sont composées de trois principales catégories: des huiles essentielles brutes ou naturelles, non raffinées, obtenues par distillation des différentes parties végétales. Des huiles rectifiées ou purifiées, et des huiles fractionnées issues par ébullition et séparation des composés volatils (Turgeon 2001).

Beaucoup d'études ont indiqué l'efficacité des huiles essentielles dans la lutte biologique contre plusieurs espèces d'insectes nuisibles, on peut citer l'effet de l'huile obtenue à partir de *Clausena anisata* (Willd. 1849) et de *Coleus aromaticus* (Lour. 1925) sur différentes espèces de moustiques (Govindarajan 2010, 2013). L'effet de l'huile de *Lippia sidoides* (Cham. 1753) sur le palmier dattier (*Theilaviopsis paradoxa*) (Lima *et al.*, 2013). L'effet de l'huile de *Plectranthus barbatus* (Andrews. 1810) contre des insectes vecteurs de maladies transmissibles à savoir le malaria et l'encéphalite japonaise (Govindarajan *et al.*, 2016).

L'effet de l'huile de *Pulegium vulgare* (Miller. 1768) contre les larves de *Culex quinquefasciatus* (Say. 1823) (Pavela *et al.*, 2014). L'huile de *Rosmarinus officinalis* (L.,1753) qui a enregistré son efficacité contre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Prajapati *et al.*, 2005). L'extrait de l'huile de *Thymus vulgaris* (L.1753) et de *Thymus satureioidis* Coss. (Labiatae) dont la composition chimique a marqué des taux de toxicité élevée (El ouali *et al.*, 2013), et beaucoup d'autres molécules à base d'huile essentielle qui ont indiqué un bon effet larvicide contre les insectes ravageurs. Des huiles essentielles obtenues à partir de sources commerciales sont également utilisées pour la lutte contre les insectes nuisibles (Barton 2000). Des composés spécifiques isolés à partir des extraits de plantes ou des huiles essentielles sont testés sur des insectes ravageurs aux stades larvaires, soit par voie digestive ou par fumigation (Rajendran et Sriranjini 2008).

Les composants des huiles essentielles varient non seulement en fonction des espèces végétales, mais également en fonction du climat, de la composition du sol, de la partie de plante extraite, et de l'âge de la plante utilisée (de Paula *et al.*, 2004). Il existe également une corrélation entre l'âge des plantes, leur rendement en huile essentielle et leur composition (Okoh *et al.*, 2007).

3-2-Propriétés des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont connues pour leur propriété thérapeutique, résultante de leur composition chimique. La composition majeure de l'huile détermine souvent l'action principale de la plante origine. Or certaines huiles ont plusieurs composantes en quantité importante ce qui offre à la molécule plus de propriétés (Raymond 2005).

Ces essences sont employées en aromathérapie pour préserver ou améliorer la santé et la beauté des êtres humains (Turgeon 2001). Elles peuvent aussi avoir des effets antibactériens, antifongiques, antiviraux, antiseptiques ou antiparasitaires (Raymond 2005). Parmi les propriétés les plus connues, on citera la propriété antiseptique de certaines huiles essentielles qui ont la capacité de détruire le germe infectieux et arrêter sa prolifération (Pierron 1989).

Les huiles essentielles ont également envahit de nombreux produits de la vie courante. On les retrouve de plus en plus en tant qu'arômes alimentaires comme exhausteur de goûts (cafés, thés, tabacs, vins, yaourts et plats cuisinés) (Benouali 2016).

3-3-Toxicité des huiles essentielles

L'aspect toxique d'une huile essentielle est fonction de la plante utilisée, de la concentration de l'huile extraite pour la lutte, ainsi que de l'insecte hôte (Guba 2001). Ces huiles peuvent être allergènes riches en cinnamaldéhyde (Smith et *al.*, 2000 in Piochon 2008). D'autres phototoxiques, contenant des substances qui, en contact avec le soleil s'activent et deviennent irritantes (Jaussaud 2015).

Chez l'être humain, l'excès de la consommation des huiles essentielles peut causer des troubles neurotoxiques (Gayda 2013), ou même perturber le système digestif, hépatique, et reproducteur des êtres humains (Poirot 2016., webographie 2).

3-4-Caractéristiques des huiles essentielles :

3-4-1-Les caractéristiques organoleptiques :

Chaque essence est caractérisée par des propriétés organoleptiques telles que l'odeur, l'aspect et la couleur.

- L'odeur :

L'odorat est un sens chimique très sensible et l'habileté des parfumeurs à classer et caractériser les essences par la présence des substances chimiques parviennent au dosage des produits naturels. Leur perception est très importante, chaque huile peut avoir l'odeur de la plante source de son extraction (Bazizi 2016).

- La couleur :

La coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent. Certains solvants ont le pouvoir d'extraire beaucoup de pigments, ce qui intensifie la couleur d'une huile donnée (Bazizi 2016).

- L'aspect :

L'aspect d'un extrait dépend des produits qui la composent, qui peuvent nous apparaître sous forme solide, liquide ou bien un mélange solide- liquide (Bazizi 2016).

3-5-Composition des huiles essentielles :

3-5-1-La Composition chimique :

Les huiles essentielles sont issues du métabolisme secondaire des plantes stockées dans différentes cellules végétales, ce qui lui confère plusieurs propriétés thérapeutiques (Lardry et Haberkorn 2007., Salhi et *al.*, 2010., Benkhniq et *al.*, 2011., Feknous et *al.*, 2014).

Ces essences huileuses sont constituées d'un composé d'une structure complexe de molécules chimiques volatiles pouvant contenir entre 20 à 60 composés (Averbeck et Idaomar 2008 in Mnayer 2014). La masse moléculaire de ces composés relativement

faible est responsable du caractère volatil et des propriétés olfactives des huiles essentielles (Pibiri 2005). Parmi ces substances, on peut citer :

- **Les terpènes**

Les terpènes sont constitués d'un assemblage de plusieurs unités isopréniques C₅H₈ (2-méthylbuta-1,3-diène), et sont nommées selon le nombre de motifs isoprènes (Dehak 2013). Ceux dont la masse moléculaire est faible sont rencontrés dans les huiles essentielles (Vila et *al.*, 2002 in Piochon 2008) et leur odeur est due à la libération des molécules volatiles contenant du carbone (Seghiri 2008).

- **Les monoterpènes**

Les monoterpènes sont des composés issus des couplages de deux unités isopréniques et peuvent contenir jusqu'à 10 atomes de carbone (Seghiri 2008). Ils peuvent être d'une structure acyclique, monocyclique ou bicyclique associés à d'autres radicaux chimiques (Bazizi 2016).

- **Les sesquiterpènes**

On les trouve dans la nature sous forme d'hydrocarbures composés des molécules d'alcools, de cétones, des acides ou des lactones (Bazizi 2016). Les sesquiterpènes des huiles essentielles ont des activités bactéricides, anti inflammatoires, hypotenseurs ou calmantes (Joualt2012), certains peuvent avoir un effet anticancéreux (Piochon 2008).

3-6-Activités des huiles essentielles :

3-6-1-L'activité biologique :

Les plantes aromatiques sont utilisées depuis des siècles dans la santé et la thérapie contre plusieurs maladies (Piochon 2008). A cause de leur richesse en composés phénoliques, les huiles essentielles ont la capacité de détruire de nombreuses bactéries pathogènes (Pauli 2001). Certaines huiles essentielles ont également un grand effet antimicrobien (Fabian *et al.*, 2006).

3-6-2-L'activité pharmacologique :

De nombreuses huiles essentielles possèdent de puissants composés antioxydants (Edris 2007) pouvant influencer le stress oxydatif observé pendant plusieurs maladies dans le corps humain comme l'alzheimer ou le cancer. Ces huiles peuvent équilibrer la sécrétion des enzymes oxydatifs et protéger les cellules cervicales (Gardner 1997., Butterfield et Lauderback 2002). Elles représentent donc une nouvelle option dans le traitement des maladies inflammatoires (Edris 2007).

3-6-3-Activité commerciale :

Selon l'institut national des recherches (NRDC), les huiles essentielles représentent 60 % de la demande totale en substances naturelles utilisées principalement dans la fabrication des parfums et d'autres produits cosmétiques (Muyima *et al.*, 2002). Les huiles essentielles sont également utilisées dans l'industrie et la conservation des produits alimentaires (Shan *et al.*, 2005).

3-7-Extraction des huiles essentielles :

Les huiles essentielles peuvent être fabriquées dans des conditions de laboratoire à travers une procédure bien déterminée, ou par utilisation des molécules fabriquées dans un laboratoire privé dans des conditions purement naturelles.

3-7-1-Extraction des huiles essentielles au laboratoire:

- L'extraction par distillation

Il existe plusieurs procédures pour l'extraction des huiles essentielles : l'hydro distillation, l'entraînement à la vapeur d'eau et l'extraction par micro-ondes et par solvant volatile (Piochon 2008).

- L'hydro distillation

Le principe de l'hydro-distillation consiste à immerger à un moment déterminé, la matière végétale dans un bain d'eau et la porter à ébullition sous pression atmosphérique (Baser et Buchbauer 2010). En ce moment, les cellules végétales s'éclatent et libèrent leurs contenus (Elkoli 2016). L'appareil utilisé est en forme de distillation circulatoire, constitué d'un fond chauffé et d'un réfrigérant (Piochon 2008), le refroidissement par condensation conduit ensuite à la séparation du mélange eau-huile essentielle par décantation (Dehak 2013). C'est la méthode la plus utilisée pour l'extraction des huiles essentielles de menthe et de lavande. Une prolongation de l'opération de l'extraction peut mener à la dégradation des molécules aromatiques (Lucchesi 2005).

- La distillation par vapeur d'eau

Dans cette méthode, le matériel végétal n'est pas mis en contact avec l'eau, une grille perforée laisse diffuser la vapeur d'eau à travers le matériel végétal (Piochon 2008).

La distillation des huiles essentielles par vapeur d'eau à l'avantage d'éliminer les altérations hydrolytiques lors de l'extraction ce qui améliore la qualité des produits et protège les molécules aromatiques (Nixon et McCaw 2001., Dehak 2013).

- **L'extraction à froid**

Elle est souvent utilisée pour l'extraction des essences de zeste (Dugo et Di Giacomo 2002). Une machine est utilisée pour presser les écorces des zestes afin de recueillir des huiles essentielles (Dehak 2013).

- **L'extraction assistée par micro-onde**

La méthode de l'extraction par micro-ondes se déroule en enceinte close, c'est une combinaison de chauffage par micro-ondes et de distillation à sec, et les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau de la plante et récupérés par refroidissement (Piochon 2008).

Il fournit des huiles essentielles plus précieuses et d'importance économique et énergétique. L'extraction par micro-onde à l'avantage de minimiser la durée de distillation et d'améliorer le rendement de l'extrait et offre beaucoup de bénéfices comparés avec les autres procédures (Lucchesi *et al.*, 2004., Benouali 2016).

- **L'extraction par solvants volatils**

L'extraction par solvants volatils réalisée avec un appareil de Soxhlet (Dehak 2013), il s'agit d'extraits aqueux de plantes obtenus et non pas des huiles essentielles de qualité (Piochon 2008). Les solvants les plus utilisés pendant cette technique sont l'hexane, l'éthanol, le méthanol, et l'acétone (Kim et Lee 2002).

3-8-Composition et structure de quelques huiles essentielles :

3-8-1-L'huile essentielle du cèdre de l'Atlas, *Cedrus atlantica* :

Le cèdre de l'Atlas, *Cedrus atlantica*, est une espèce résineuse pinacée endémique de l'Afrique du Nord, son aire naturelle est répartie en plusieurs étages biogéographiques dans les montagnes d'Afrique du Nord (Boudy, 1950 in Arbez *et al.*, 1978., M'hirit 1999). Le Maroc en détient la plus grande surface, estimée à environ 140 000 ha et représente la principale source du bois du pays (Hceflcd 2015)

L'Huile essentielle de *C. atlantica* est riche en monoterpènes oléfiniques et contient en fonction de sa provenance: l' α -pinène, le β -pinène, le myrcène, l' α -himachalène la β -himachalène, la σ -himachalène et la cis α -atlantone (Derwich *et al.*, 2010).

3-8-2-L'huile essentielle de bois de Gaiac, *Bulnesia sarmienti* :

Originare d'Amérique Centrale et d'Amérique du Sud, l'huile de bois de Gaiac est aussi appelé bois de vie, Cette huile tonifiante de la famille des Zygophyllacées est connue pour faciliter la circulation sanguine. Son odeur boisée est très utilisée dans les soins et la parfumerie. C'est une huile non décolorée, non déterpénée, non rectifiée (Webographie 02)

3-8-3-L'huile essentielle d'Eucalyptus, *Eucalyptus globulus* :

Les Eucalyptus appartiennent à la famille des Myrtacées qui comporte 72 genres et 300 espèces (genres Eucalyptus, Eugenia, Melaleuca, Myrta), ils sont originaires de l'Australie, l'Eucalyptus compose plus de 90% des forêts naturelles et sont également rencontrés en Malaisie et en îles indonésiennes (Warot 2006). Avec une variété de 600 à 700 espèces, l'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus* est connue pour son efficacité contre les affections respiratoires et pour le maintien de la santé quotidienne (Haddouche et kirad 2017). Avec une teneur comprise entre 0.5 et 3.5% (Bruneton 1993 in Sassoui 2016). L'huile d'eucalyptus a des propriétés expectorantes, fluidifiantes, antimicrobiennes, antifongiques et antivirales (Bruneton 1993 in Sassoui 2016).

3-8-4-L'huile essentielle de Basilic, *Ocimum basilicum* :

Le basilic est un nom commun pour l'herbe culinaire *Ocimum basilicum* L, qui est une plante aromatique annuelle, originare de l'Asie (Mahajan *et al.*, 2012). La composition et le contenu de l'huile de basilic varie selon les régions géographiques, les tissus, les stades de croissance, la fertilisation et les conditions de récolte. Le rendement en huile de basilic est d'environ 0,1-0,7% (Li et Chang 2016) et ses principaux composants comprennent le linalol, l'estragole (méthyl chavicol), l'anéthole, l'eugénol et le méthylegénol (Li et Chang 2016).

L'huile de basilic est utilisée dans la médecine à cause de son aspect calmant, de stress ou des troubles intestinaux (Webographie 2).

4-Étude du comportement olfactif chez les chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* :

L'olfaction, ou odorat, correspond à la capacité d'un être vivant d'analyser et de ressentir les différentes odeurs qui l'entourent (Picimbo *et al.*, 2001). Les insectes phytophages ont développé beaucoup de comportements permettant de faciliter l'acquisition de leur nourriture et le processus de la sélection de cette dernière en cas

de variabilité (Dethier1954), et les chenilles représentent un bon modèle pour des études sur le comportement alimentaire (Dethier 1988).

Dans certaines études du comportement alimentaires des insectes, il a été montré qu'en présence de plusieurs variétés nutritives, les chenilles présentent des préférences sur certaines qualités de feuillage chez les plantes hôtes (Drouin 2007).

La majorité des expériences des études comportementales des insectes phytophages se déroulent dans des espaces limités, offrant à l'animal, la possibilité à choisir sa ressource alimentaire depuis une variété. Il se déplace donc librement dans cet espace, selon sa préférence, son choix et sa réponse comportementale vis-à-vis des échantillons présentés (Raffa et *al.*, 2002).

Ces olfactomètres peuvent avoir plusieurs formes, chacun est utilisé dans des tests comportementaux précis pour une espèce précise (Barth 1970), et pour les chenilles, les tests d'attractivités chimiques se déroulent généralement en « enceinte close ».

4-1-Le régime alimentaire de *Thaumetopoea pityocampa* :

Le régime alimentaire des insectes ravageurs peut être composé de plusieurs espèces de plantes selon leur préférence et selon la disponibilité.

4-1-1-Le pin d'Alep :*Pinus halepensis* :

Le pin d'Alep (**Fig.16**) représente l'espèce la plus répandue sur le pourtour méditerranéen, et celle fréquente sur plusieurs régions du bassin méditerranéen oriental (Quézel et Barbero 1992). Il est présent au nord d'Afrique, principalement au Maroc, en Algérie, et en Tunisie. Il est aussi abondant en Europe, surtout en France et en Italie (Sghaier et Khouja 2009). Bien que l'espèce représente son développement maximal dans les régions connues par une précipitation élevée, elle peut résister les conditions écologiques défavorables (Quezel 1980 in Sghaier et Ammari2012).

En plus de son intérêt écologique important pour la biodiversité et la dynamique des espèces qui l'abritent, le pin d'Alep est également connu par sa grande valeur économique (Pardé 1957).



Figure 16. Pin d'Alep (photo originale).

En Algérie, le pin d'Alep est présent en forme de vastes massifs forestiers couvrant environ 35% de la surface boisée du pays. Il est abondant dans l'étage bioclimatique semi-aride (Bentouati 2006) sur une surface qui s'étale de l'Est en Ouest allant du niveau de la mer aux grands massifs montagneux, représentés principalement par les pinèdes de Tébessa jusqu'à ceux des Aurès (Kadik 1987). Au centre du pays, on peut signaler les forêts de Médéa, de Theniet El Had et les Monts des Ouled Nail (Boudy 1950). A l'Ouest on peut trouver de vastes massifs concentrés dans les régions de Bel Abbés, de Saida et d'Oran (Mezali 2003).

4-1-2-Le pin de maritime : *Pinus pinaster* :

Le Pin maritime est un conifère de la famille des Pinacées, il est très répandu dans le pourtour méditerranéen et en Europe du Sud-Ouest (Rigolot et Fernandes 2005) (**Fig.17**).

Les forêts du pin maritime sont fréquentes en Espagne et en Portugal avec un taux de reboisement qui couvre les 20 000 ha par an (Jambois et *al.*, 2013). La structure de la feuille de pin maritime assure sa résistance au feu, et maintient sa reproduction et permet sa reconstitution après les incendies (Rigolot et Fernandes 2005., Keely 2012).



Figure 17. Pin maritime (Photo originale)

En Algérie, le pin maritime occupe le littoral constantinois avec environ 12 000 ha de superficie. Il est également présent à faible étendues dans le littoral kabyle (Louni 1994).

4-1-3-Le cèdre de L'atlas: *Cedrus atlantica* :

C'est une espèce montagnarde, présente en Afrique du Nord sur les hauteurs de L'atlas algérien et marocain, en Asie, sur les montagnes de la Syrie et la Turquie, et au niveau des montagnes d'Himalaya en Inde et en Afghanistan (MHirit 1999).

Le cèdre peut s'adapter aux conditions climatiques méditerranéennes, et notamment au stress hydrique lié à la sécheresse atmosphérique ou édaphique (Fabre 1976) (**Fig.18**). C'est l'espèce végétale la plus importante dans les montagnes méditerranéennes, à cause de l'utilisation de son bois dans plusieurs activités économiques (MHirit 1999).



Figure18. Cèdre de l'atlas (Photo originale)

En Algérie, le cèdre de l'Atlas représente environ 1% du couvert végétal, il est abondant à l'étage humide et froid au niveau des Aurès, du Djurdjura, de l'Atlas blidéen ainsi qu'à Teniet El Haad (Louni 1994).

III- MATERIEL ET METHODES

1-Sites d'échantillonnage :

L'échantillonnage s'est déroulé dans la région de Guelma. Les chenilles processionnaires du pin sont récupérées depuis plusieurs stations de différentes communes de la région. Des sites d'échantillonnages nous ont été indiqués par la direction des forêts (DGF) de la région. Ces stations sont caractérisées par l'abondance élevée des nids de la chenille processionnaire le long de l'année. Les grandes communes de la région de Guelma depuis lesquelles, notre échantillonnage s'est déroulé sont : la commune de (Ain-Makhlouf), la commune de (Bouhachana), et la commune de (khezara) (RN: Route Nationale. W : Chemin Wilaya) (**Fig.19**).

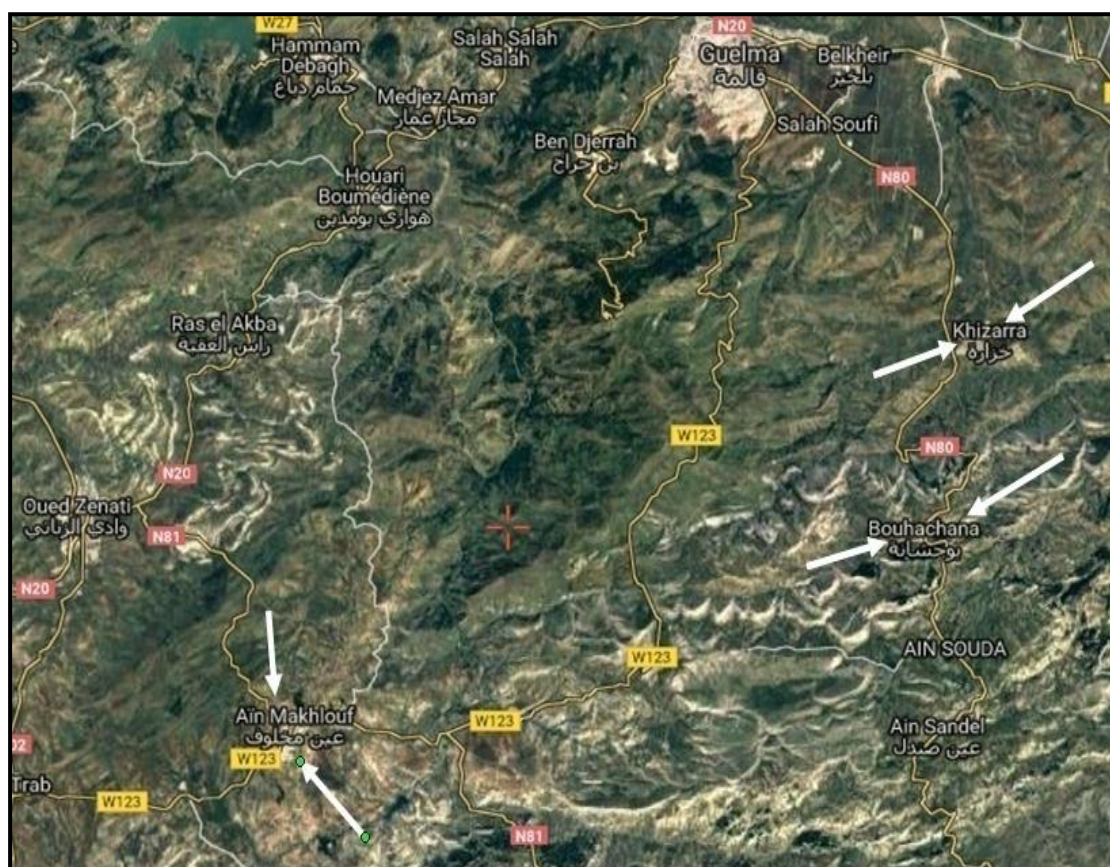


Figure 19. Sites d'échantillonnage (Indiqués par les flèches)des chenilles de la processionnaire du pin dans la région de Guelma (Webographie 03).

1-1-Caractéristiques géographique des sites d'échantillonnage :

Le tableau (01) indique la localisation géographique, l'altitude et la superficie des trois sites d'échantillonnage des nids de la chenille processionnaire du pin. En effet, toutes les communes de la région de Guelma (Ain makhlouf, Bouhachana et Lekhzara) sont constituées de plusieurs pinèdes formée d'une plantation de pin d'Alep et de pin Maritime, le cèdre de la région n'est pas parasité par les nids de la chenille processionnaire jusqu'à ce jour.

Tableau 01.Caractéristiques des sites d'échantillonnage de la chenille processionnaire du pin (Webographie 04)

| Caractéristiques Sites d'échantillonnage | Localisation et coordonnées | Altitude (m) | Superficie (Km ²) |
|--|-----------------------------------|--------------|-------------------------------|
| Ain Makhlouf | N 36° 14. 30,02" E 7°18. 38, 57 " | 596.9 | 190,08 |
| Bouhachana | N36° 18' 23" E 7° 30' 30" | 548 | 63,62 |
| Lekhzara | N 36° 22' 10" E7° 31' 45" | 432 | 71,22 |

N : Nord E : Est

Les nids de la chenille processionnaire du pin sont facilement récupérés depuis ces communes. Les chenilles ont fait ensuite l'objet d'un élevage suivi dans des conditions contrôlées de température et d'humidité nécessaires pour la survie de l'insecte durant son cycle de développement. Les aiguilles du pin sont changées chaque jour pendant l'élevage.

1-2-Conditions d'élevage de la chenille processionnaire :

L'élevage des insectes lépidoptères dans le laboratoire doit se réaliser dans des conditions qui se rapprochent le plus possibles des conditions naturelles de l'insecte, dans la nature. Il faut éviter une chaleur et une humidité très basses ou excessives.

L'élevage des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* utilisées pour l'expérimentation est réalisé dans une température d'environ 20 à 25°C et dans des conditions d'hygrométrie d'environ 70%.

1-3-Protocole de l'expérimentation :

Le protocole de notre expérimentation est divisé en quatre aspects principaux, à savoir l'étude des cellules immunitaires de la chenille processionnaire du pin, l'étude toxicologique par des huiles essentielles contre les chenilles processionnaires du pin, l'effet de certaines huiles essentielles sur la formule hémocytaire des chenilles et enfin l'étude du comportement alimentaire des chenilles en olfactomètre (**Fig. 20**).

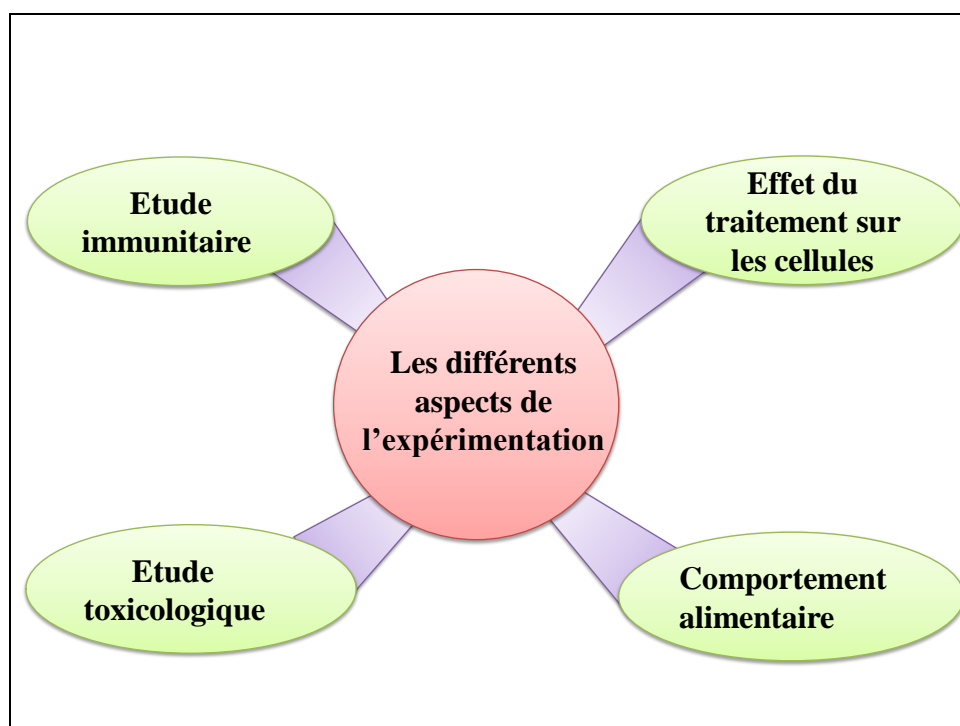


Figure 20. Schéma résumant les différents aspects de l'expérimentation

2-Etude immunitaire de *Thaumetopoea pityocampa*:

2-1-Identification et quantification des hémocytes de *Thaumetopoea pityocampa*:

Le protocole de notre expérimentation sur les cellules immunitaires ainsi que toutes les étapes suivies pour la préparation de l'observation microscopique nous ont été indiqués par le professeur « Maurizio Francesco Brivio », le directeur du laboratoire d'immunologie et de parasitologie à l'université d'Insubria dans la région de Varese à Milan en Italie.

Selon ses indications nous avons étudié la formule hémocytaire de la chenille processionnaire du pin, ainsi qu'une identification des cellules de l'hémolymphe pour

chaque stade larvaire. Un dénombrement des cellules de chaque stade a été réalisé par observation microscopique. Le nombre total des cellules hémocytaires est comparé entre les différents stades larvaires de la chenille.

Nous avons également étudié les réponses immunitaires des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* en présence des particules étrangères (Il s'agit du nématode entomopathogène « *Steinernema feltiae* », capable de parasiter plusieurs insectes, et de la bactérie intestinale « *Escherichia coli* ») pendant les stades larvaires avancés.

Le nombre, la morphologie et la fonction des cellules hémocytaires le long de ses réactions sont également développées, en se concentrant sur la capacité des parasites à affecter le processus de reconnaissance et d'élimination de l'intrus chez les hémocytes.

2-2-Préparation des larves :

Les larves de *Thaumetopoea pityocampa* du 2^{ème}, du 3^{ème} et du 4^{ème} stade sont sélectionnées en choisissant les chenilles de grande taille afin de récupérer une grande quantité d'hémolymphe. Les échantillons sont ensuite nettoyés avec de l'éthanol pour les stériliser et diminuer le taux d'infection pendant l'expérimentation.

Pour les stades avancés (L4), l'extraction de l'hémolymphe se fait en perçant la face ventrale de la chenille, les gouttes de l'hémolymphe sont ensuite placées dans un double Eppendorf (**Fig.21**). Les deux tubes eppendorfs sont également nettoyés, l'un étant plus petit que l'autre ; le petit est percé, et placé de façon à faire déplacer l'hémolymphe. La quantité récupérée est ensuite utilisée pour l'expérimentation.

Dans le cas des petites larves (L2, L3) l'extraction de l'hémolymphe se fait par centrifugation, en coupant la tête et la région inférieure de l'abdomen de l'insecte et en utilisant la partie centrale de l'abdomen contenant de l'hémolymphe pour la centrifugation.

Le mécanisme de la centrifugation a pour but de rassembler et cerner les différentes particules dans l'hémolymphe et les classer selon leur poids dans le processus du double eppendorfs.

2-3-La centrifugation :

L'extraction des larves de *Thaumetopoea pityocampa* des stades primaires est réalisée à l'aide d'une centrifugeuse spécifique, d'une vitesse de 1200 tr/min dans un modèle Eppendorf réfrigéré (centrifugeuse 5804R, pendant 10 minutes à 10 ° C).

Il est dans quelques cas nécessaire de répéter la centrifugation plusieurs fois pour les mêmes chenilles, afin d'atteindre la quantité suffisante d'hémolymphe pour l'expérimentation.

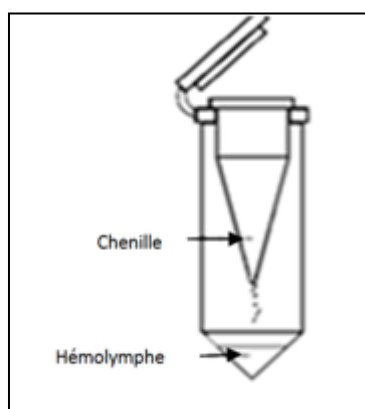


Figure 21. Technique du double eppendorf

2-4-La constitution du milieu de culture :

La quantité des cellules détruites augmente également après centrifugation, la fraction humorale doit donc être recueillie et jetée; les cellules hémocytaires du 2^{ème}, du 3^{ème} et du 4^{ème} stade larvaire sont récupérés de façon à éviter la contamination des tissus ou des débris cellulaires. Les hémocytes sont mis en suspension dans un milieu de culture complet (10% de sérum de veau fœtal, 1% d'antibiotique antimycotique, 1% de glutamine dans Grace Medium). L'opération se déroule dans un espace désinfecté afin d'éviter la contamination des cellules cultivées.

2-4-1-Constitution du milieu utilisé

Après centrifugation, les cellules granulees sont lavées ; la procédure est répétée deux fois pour éviter la contamination des tissus ou des débris cellulaires. Les hémocytes placés en suspension dans le milieu de culture complet sont cultivées dans 96 plaques de micro-puits (culture des cellules en grappe, fond plat, Iwaki).

2-5-L'incubation des cellules

L'incubation est réalisée dans une chambre thermostatée, réglée selon des conditions de température et de pression, d'une teneur atmosphérique, et d'un taux d'humidité bien précis. L'incubateur est muni de divers boutons de réglage. D'autres paramètres, tels que l'hygrométrie (La quantité d'humidité relative dans l'atmosphère), la composition gazeuse de la chambre, peuvent également être réglés. Les cellules issues des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* sont maintenues à une température qui varie entre 25 et 26 ° C, dans un incubateur humidifié (Cellstar) sans CO₂. Les antibiotiques ajoutés sous forme de pénicilline et streptomycine, mais aussi les antifongiques sous forme d'amphotéricine évitent l'apparition des champignons lors de l'incubation.

2-6-L'observation microscopique :

Le microscope à contraste de phase (ou en contraste de phase) est un microscope optique qui transforme en niveaux de contraste, les différences d'indices de réfraction entre deux structures. Ces structures se traduisent en différences de phases pour les ondes qui les traversent. L'observation des cellules de *Thaumetopoea pityocampa* sous microscope à fluorescence aux grossissements (Gx10), (Gx 20) et (Gx 40x), nous permet de détecter toute les formes de communications immunitaires à savoir l'encapsulation, la nodulation et l'agrégation des hémocytes.

L'observation est réalisée après 2 heures d'incubation, puis après 24 heures et ensuite chaque jour de l'expérimentation afin de, cerner la formule hémocytaire complète de l'insecte, depuis l'âge primaire jusqu'à l'âge de maturation cellulaire. On réalise un lessivage pour enlever les débris et les cellules mortes avant chaque observation. Les observations microscopiques sont réalisées en utilisant plusieurs objectifs. Des formes d'encapsulation et de phagocytose sont repérées et suivies depuis l'incubation jusqu'à la fin de l'expérimentation.

2-7-L'étude du comptage cellulaire chez les larves de *Thaumetopoea pityocampa*:

Cette étude consiste à réaliser une quantification ou un dénombrement des cellules existantes dans l'hémolymphe des chenilles du 2^{ème}, du 3^{ème} et du 4^{ème} stade larvaire à l'aide d'une cellule de « Malassez » (**Fig.22**). C'est une lame qui possède deux surfaces quadrillées en formes de plusieurs lignes, où chaque cadre peut contenir

1mm³ d'hémolymphe (1μL). Le nombre moyen des cellules dans chaque cadre de la lame détermine l'abondance totale des cellules, en 1μL, ensuite une estimation de ces taux est indiquée en millilitre d'hémolymphe (THC). Le dénombrement des cellules permet d'avoir une idée globale sur la formule et le nombre moyen des hémocytes, pendant les différents stades. L'évolution du nombre total et spécifique des cellules hémocytaires et le processus de leur différenciation, et leur transformation d'un stade à l'autre, jusqu'à arriver au stade de maturation immunitaire (L4), sont également développés. Les valeurs de THC (Total hemocytes count ou le nombre total des cellules hémocytaires en 1 millilitre d'hémolymphe) sont également estimées pour chaque stade de développement. L'intervention des différents types cellulaires aux différents phénomènes d'encapsulation et de réactions immunitaires et leur participation à détecter et éliminer les particules étrangères chez les larves de *Thaumetopoea pityocampa* sont étudiés le long de l'expérimentation.

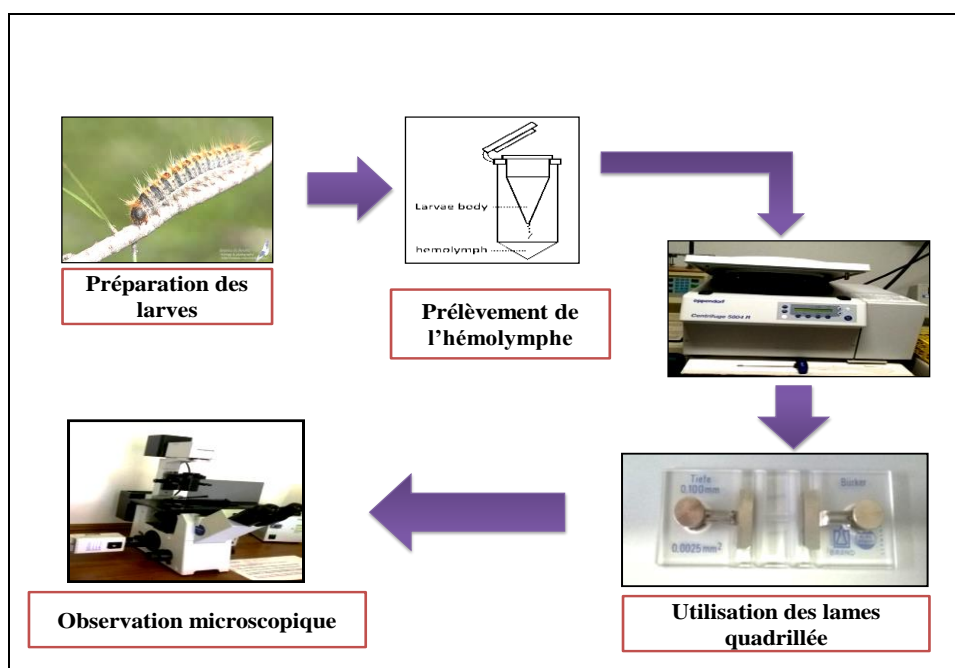


Figure 22. Schéma résumant les différentes étapes de l'étude des cellules immunitaires de la chenille processionnaire.

2-8-L'observation microscopique et le comptage des cellules :

La quantité d'hémolymphe extraite des chenilles et placée sur la lame de comptage, a fait l'objet d'une étude d'identification et de quantification des cellules hémocytaires de *Thaumetopoea Pityocampa* du 2^{ème}, du 3^{ème} et du 4^{ème} stade larvaire.

Après avoir identifié les cellules hémocytaires de *Thaumetopoea pityocampa* suivant plusieurs références depuis plusieurs documents (Gardiner et Strand 1999.,Giulianini et al., 2003., Ling et Yu 2006., Hartenstein2006., Araujo et al., 2007., Mastore et Brivio 2008., Mangalika et al., 2010., Amaral et al.,2010., Xie et al., 2011., Wang et al., 2011). Une lecture de la lame sous microscope optique au grossissement (Gx 40) est réalisée attentivement où un dénombrement des cellules identifiées est réalisé pour chaque cadre de la lame, l'opération est répétée sur 20 échantillons. Une moyenne du nombre des cellules du 2^{ème}, du 3^{ème} et du 4^{ème} stade, est estimée pour chaque observation et ensuite pour chaque stade. On nettoie la lame après chaque utilisation par rinçage à l'aide de l'eau de robinet.

2-9-Le traitement statistique des donnés :

Le THC (Nombre total des cellules) est estimé pour chaque type hémocytaire identifiée et pour chaque stade larvaire en 1mlitre d'hémolymphe. Une analyse de la variance à un critère de classification est également estimée pour chaque type cellulaire entre les différents stades larvaires. Des valeurs de F (Variance observée), P (Niveau de signification), R² (Coefficient de détermination) sont également calculées. Tous les traitements statistiques sont réalisés sur un logiciel (Minitab 2017)

3-L'étude toxicologique par les huiles essentielles contre les chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* :

Le but de cette étude est d'évaluer l'effet toxique de quelques huiles essentielles sur les chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* à différents stades larvaires.

3-1-Le choix des molécules :

Après une large étude bibliographique sur les huiles essentielles, ayant un effet toxique élevé sur les insectes ravageurs (Prabuseenivasan et al., 2006., Grattapaglia 2012., Lucia et al.,2012., Mahilrajan et al., 2014., Bonifacio et al., 2014., Alfatemi et al., 2015., Gaddaguti et al., 2016., Fang et al.,2016 et Kimutai et al., 2017) et dans le cadre de la lutte contre les chenilles processionnaires du pin, Notre choix des molécules utilisées pour le traitement biologique s'est porté sur quatre huiles essentielles caractérisées par la présence du taux élevé des toxines dans leurs tissus et connues pour leur effet bénéfique contre les insectes ravageurs. Les molécules utilisées contre les chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* sont : L'huile de cèdre de

l'Atlas, (*Cedrus atlantica*), l'huile de bois de Gaiac, (*Bulnesia sarmienti*), l'huile d'Eucalyptus, (*Eucalyptus globulus*), et l'huile de basilic (*Ocimum basilicum*).

3-2-Les principaux paramètres des huiles essentielles testées :

Chaque huile essentielle utilisée est caractérisée par un nom commun, une odeur et une densité spécifique. La saison de la récolte ainsi que la partie extraite de la plante jouent un rôle important dans son efficacité. L'aspect de l'huile extraite indique la manière de son utilisation et la procédure de la préparation des déluitions (**Tab.02**)

Tableau 02. Les différents paramètres des huiles essentielles utilisées (Webographie 02)

| Molécules | Nom Scientifique | Nom Commun | Partie Extraite | Aspect | Odeur | Densité |
|-------------------------------|----------------------------|------------------|--------------------|------------------|------------------|---------|
| Huile de D'eucalyptus | <i>Eucalyptus Globulus</i> | Arbre a Fièvre | Feuilles | Solution | Fraiche | 0,921 |
| Huile de Basilic | <i>Oximum Basilicum</i> | Basilic Exotique | Feuilles et fleurs | Huileux Limpide | Fraiche Herbacée | 0,97 |
| Huile de bois de Gaiac | <i>Bulnesia Sarmienti</i> | Bois De vie | Bois | Solution Appâtée | Boisée | 0,98 |
| Huile de Cèdre | <i>Cedrus Atlantica</i> | Cèdre de L'atlas | Bois | Solution | Fraiche | 0,95 |

3-3-Utilisation des huiles :

Les huiles essentielles sont récupérées depuis le laboratoire commercial d'Aroma, en France, les huiles botaniques pures sont préparées dans des conditions naturelles, sans ajout de produits commerciaux, chimiques, aromatiques ou esthétiques et sont conservées dans un réfrigérant le long de l'expérimentation (Webographie 02). Les huiles essentielles sont sensibles aux rayonnements UV ainsi qu'à l'évaporation progressive de leurs constituants.

Il est donc impératif de les conserver dans un flacon en verre coloré ou en aluminium à fermeture étanche, à une température comprise entre 5°C et 40° (Webographie 02)

Selon les recommandations de la pharmacie européenne, et les laboratoires internationaux spécialisés en vente des huiles essentielles, les molécules sont conditionnées dans des flacons avec compte gouttes incorporé.

De plus, les huiles essentielles ont une densité proche de 0,9. Cette situation nous donne les résultats suivants pour les huiles essentielles : 1 ml = 0,9 g = 35 à 40 gouttes et une goutte pèse approximativement 25 à 30 mg (Webographie 02).

3-4-Les principaux constituants biochimiques des huiles : (Webographie 02).

La composition et la structure biochimiques de chaque huile est présenté sur le tableau **(03)**, la constitution des molécules chimiques volatiles est exprimé par pourcentage pour chaque composé.

Tableau 03. Les différents constituants biochimiques des huiles essentielles utilisées
(Webographie 02)

| Huiles essentielles | Principaux constituants biochimiques des huiles |
|--|--|
| Eucalyptus <i>(Eucalyptus globulus)</i> | <p><u>Monoterpènes</u> : Alpha-pinène (7.48%), limonène (5.53%), para-cymène (1.69%)-Alpha-pinène (8.90%), limonène (4.14%), para-cymène (1.53%)- Alpha-pinène (1.08%), limonène (9.95%),para-cymène (3.44%)- Alpha-pinène (4.96%) limonène (7.00%), para-cymène (0.86%)</p> <p><u>Oxyde terpéniques</u> : 1,8-cinéole (83.49%)- 1,8-cinéole (80.93%)- 1,8-cinéole (77.20%)- 1,8-cinéole (82.97%)</p> |
| Basilic <i>(Ocimum basilicum)</i> | <p><u>Minoterpenes</u> : (E)-béta-ocimène (0.07%)- (E)-béta-ocimène (0.04%)- (E)-béta-ocimène (0.04%)- (E)-béta-ocimène (0.20%)- : (E)-béta-ocimène (0.07%).</p> <p><u>Phénols méthyl éthers</u> : Méthyl-chavicol (84.10%)- méthyl-chavicol (73.63%)- méthyl-chavicol (76.47%)- : méthyl-chavicol (84.10%).</p> <p><u>Monoterpénols</u> : linalol (15.27%)- linalol (19.39%)- linalol (18.95%).</p> <p><u>Oxydes terpéniques</u> : 1,8-cinéole (0.17%)-,8-cinéole (traces)- 1,8-cinéole (0.24%).</p> <p><u>Sesquiterpènes</u> : (E)-alpha-bisabolène (traces)- (E)-alpha-bisabolène (1.59%).</p> |
| Bois de Gaiac <i>(Bulnesia sarmienti)</i> | <p><u>Sesquiterpénols</u> : -Bulnésol (42.96%), guaiol (28.12%) : Alpha-eudesmol (7.41%), gamma-eudesmol (3.68%), 10-épi-gamma-eudesmol (1.37%).</p> <p>Bulnésol (39.69%), guaiol (32.22%) : Alpha-eudesmol (4.44%), gamma-eudesmol (3.53%), 10-épi-gamma-eudesmol (1.72%).</p> |
| Cèdre de l'atlas <i>(Cedrus atlantica)</i> | <p><u>Sesquiterpènes</u> : Béta-himachalène (43.71%), alpha-himachalène (15.87%), gamma-himachalène (9.70%)- Béta-himachalène (47.54%), alpha-himachalène (16.90%), gamma-himachalène (10.60%).</p> <p><u>Cétones sesquiterpéniques</u> : (E)-alpha-atlantone (3.01%), (E)-gamma-atlantone (2.09%)- (E)-alpha-atlantone (2.71%), (E)-gamma-atlantone (1.45%).</p> |

3-5-La préparation du traitement et la dilution des concentrations :

A partir d'un produit commercial des huiles essentielles d'Eucalyptus, du Cèdre de l'Atlas, du basilic, et du bois du Gaïac, nous avons préparé une solution diluée pour chaque huile. Suivant les indications du laboratoire, il est conseillé de diluer les solutions suivant la formule suivante : verser environ 40 à 45 gouttes de chaque flacon des différentes molécules dans un litre d'eau afin d'avoir une dilution d'huile d'un gramme de la solution mère dans un litre d'eau : (1 g/l) (Webographie 02). A partir de ces solutions, et après plusieurs essais préliminaires, les dilutions nous ont permis d'évaluer les concentrations nécessaires pour chaque traitement(**Tab.04**). L'utilisation de plusieurs concentrations pour chaque molécule, a exigé une évaluation du profil toxique pour chaque huile. La mortalité est suivie le long du traitement toxicologique afin de détecter la concentration la plus fiable pour chaque essai.

Tableau 04. Concentrations utilisées durant le traitement des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* pour chaque huile essentielle.

| Huiles | Concentrations utilisées g/l | | |
|------------------------|------------------------------|-----|---|
| Huile d'eucalyptus | 3 | 4 | 6 |
| Huile de basilic | 1 | 1,5 | 2 |
| Huile de bois de gaïac | 2 | 2,5 | 3 |
| Huile de cèdre | 2 | 2,5 | 3 |

3-5-1-La préparation des tests :

Le traitement toxicologique est réalisé dans des boîtes de congélation, chacune des boîtes contient 10 larves de même âge. Le traitement pour chaque molécule est réalisé selon trois concentrations différentes, avec trois répétitions pour chacune, afin de confirmer le taux de mortalité causée par chaque molécule utilisée.

Le traitement est réalisé par pulvérisation jusqu'à ruissèlement de l'insecticide sur les aiguilles de pin fraîches distribuées aux larves dans tous les lots pendant le traitement toxicologique.

Une dernière boîte contenant 10 chenilles non traitées est prise pour le témoin de la mortalité naturelle, qui est la mortalité des larves dans les conditions climatiques habituelles sans effet des molécules toxiques (huiles essentielles). Des feuilles non traitées sont distribuées à ces chenilles dans le but de comparer l'évolution du taux de mortalité naturelle à celle des chenilles traitées.

Le traitement toxicologique par les huiles essentielles du cèdre de l'Atlas, du bois de Gaïac, d'Eucalyptus, et du basilic est réalisé sur des chenilles du 3^{ème} stade larvaire de la processionnaire du pin. Dans la nature les traitements toxicologiques contre les larves de *Thaumetopoea pityocampa* se réalisent généralement pendant le 2^{ème} stade larvaire.

La mortalité des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* est observée, et mentionnée chaque jour le long du traitement. Les aiguilles du pin traitées et non traitées sont également changées régulièrement dans toutes les boîtes.

La fin du traitement est souvent indiquée par la mortalité totale de la population testée. Les taux de mortalités observées ont fait ensuite l'objectif de plusieurs traitements statistiques, afin d'évaluer l'effet toxique de chaque huile.

Les analyses statistiques sont réalisées sur les résultats de mortalités des chenilles après 24 heures, et 8 jours d'exposition aux traitements.

3-6-Le Traitement statistique des données :

Les traitements statistiques de l'étude toxicologique ont pour but d'évaluer l'effet de chaque molécule des huiles essentielles utilisées, sur la mortalité des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* en fonction des différentes concentrations utilisées, du stade larvaire de la chenille, et du temps d'exposition au traitement. Les concentrations létales 50 et 90 (CL 50 et CL 90) sont estimées pour chaque molécule testée, pendant tous les stades larvaires. Tous les traitements statistiques sont réalisés sur un logiciel (Minitab 2017).

- La mortalité observée :

Le pourcentage de la mortalité observée chez les chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* traitées par les différentes huiles essentielles à différentes concentrations ainsi que chez les témoins est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Mortalité observée} = \text{Nombre de chenilles mortes} / \text{nombre de chenilles traitées} \times 100$$

- **La mortalité corrigée :**

Le pourcentage de mortalité observée est corrigé par la formule d'Abbott (1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle :

$$\text{Mortalité Corrigée} = \frac{\text{mortalité chez les traités} - \text{Mortalité chez le témoin}}{100 - \text{mortalité chez le témoin}} \times 100$$

- **La transformation angulaire :**

Les pourcentages de mortalité corrigée subissent une transformation angulaire selon (Bliss 1938 in Fisher & Yates 1957). Les données ainsi normalisées font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification suivie par le classement des concentrations par le Test de Tukey.

- **L'analyse des probits :**

Les concentrations létales sont déduites à partir du tracé des droites de régression (Finney 1971). Pour cela, les pourcentages de mortalité corrigés sont transformés en probits (Fisher & Yates 1957).

- **Les droites de régression des taux de mortalités:**

Des équations de régression sont estimées pour chaque huile, durant le 3^{ème} stade larvaire de la chenille processionnaire du pin, après 24 heures et après 8 jours du traitement.

- **Les concentrations létales :**

Ces tests ont pour but d'estimer les concentrations létales 50 et 90 (CL 50 : Concentration qui tue 50% de la population traitée, et CL 90 : Concentration qui tue 90% de la population) pour chaque molécule utilisée pendant le 3^{ème} stade larvaire de la chenille processionnaire.

4-L'effet des huiles essentielles sur la formule hémocytaire des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* :

Nous avons évalué l'effet des deux huiles essentielles (L'huile d'eucalyptus *Eucalyptus globulus*, et l'huile de Basilic, *Ocimum basilicum*), sur la formule hémocytaire des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* du dernier stade larvaire. La forme, le nombre total et spécifique, les différentes réactions immunitaires et les différentes formes de connexion et de communication des cellulaires immunitaires des chenilles traitées par ces huiles sont également notés.

4-1-La préparation du traitement toxicologique :

L'hémolymphe des chenilles du dernier stade larvaire (L5) de *Thaumetopoea pityocampa*, traitées à l'huile de Basilic et d'Eucalyptus à différentes concentrations est extrait par centrifugation. Les cellules issues des chenilles traitées ont fait l'objet d'une étude de comptage cellulaire sur la lame quadrillée « malassez ». Une estimation des cellules hémocytaires dans chaque cadre de la lame est équivalente à leur nombre en 1 microlitre d'hémolymphe. L'opération est répétée plusieurs fois sur la même lame. Des calculs de moyennes du nombre total et spécifique des cellules identifiées (en 1µL d'hémolymphe) sont estimés pour chaque échantillon. L'opération est réalisée sur 20 larves de *Thaumetopoea pityocampa* du 5^{ème} stade larvaire, pour les deux traitements.

Des chenilles non traitées sont prises pour témoin, afin de comparer la formule hémocytaire des chenilles non traitées à celle des chenilles traitées.

La formule hémocytaire totale, ainsi que les différents phénomènes de réactions immunitaires des chenilles traitées sont comparés entre les deux traitements et avec les chenilles non traitées (**Fig.23**).

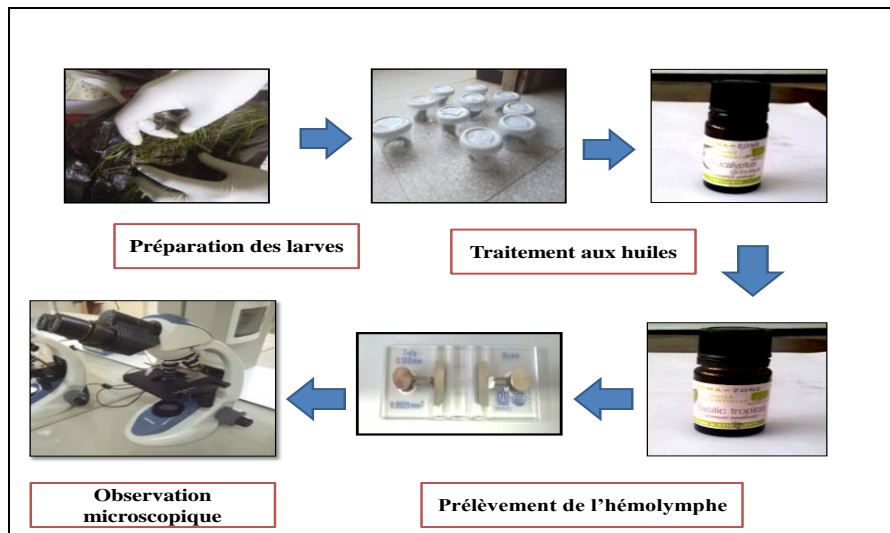


Figure 23. Schéma résumant les différentes étapes du comptage des chenilles

5-L'étude du comportement olfactif des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* :

L'étude du comportement olfactif des insectes permet d'évaluer et de comprendre les réactions d'un individu exposé à un stimulus. Elle consiste à étudier la préférence d'un individu et d'évaluer son choix vis-à-vis d'une activité naturelle ou d'un processus physiologique ou écologique. Ces études comportementales se réalisent généralement dans des espaces limités, des chambres en verre appelée « enceinte close » ou olfactomètre. Elles permettent d'étudier le comportement alimentaire des insectes, en présence de plusieurs types de nourritures pour les espèces polyphages. L'analyse du comportement alimentaire des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* s'est déroulée en enceinte close. Il s'agit d'une chambre en verre, de type aquarium qui permet d'identifier l'influence d'une ou plusieurs molécules odorantes sur l'insecte et d'évaluer la préférence et donc le choix de la chenille en présence de plusieurs variétés de nutriments.

5-1-La préparation des larves :

5-1-1-Le choix des espèces végétales à testées :

Nous avons choisi deux espèces de pin, le pin d'Alep et le pin Maritime et une espèce de cèdre ; le cèdre de l'Atlas et ce, pour évaluer le comportement alimentaire des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* du 2^{ème}, du 3^{ème}, du 4^{ème} et du 5^{ème} stades larvaires en enceinte close.

5-1-2-La préparation des aiguilles :

Trois à quatre grammes d'aiguilles fraîches des différentes espèces utilisées, sont coupées en petites particules de façon à laisser diffuser l'odeur librement dans l'olfactomètre : Ces particules sont mises après au niveau de la zone finale de l'enceinte. Chaque chenille est ensuite placée au niveau de la zone de départ afin d'étudier son comportement.

5-2-L'olfactomètre ou l'enceinte close pour les tests d'attractivité :

Le dispositif utilisé pour tester l'attractivité des diverses sources odorantes (pin d'Alep, pin Maritime, et cèdre de l'atlas) sur les larves de *T. pityocampa* est composé d'un aquarium en verre fermé par un couvercle, assurant une fermeture hermétique (**Fig.24**). La surface interne de l'aquarium est divisée en trois parties. La zone de départ (5 cm de large) (zone 1), où les chenilles sont déposées au début du test. La zone de parcours (20 cm) (zone 2), correspondant à la distance qui sépare la larve testée de la source odorante, et la zone finale où on dépose la source odorante (5 cm de large) (Zone 3). La zone d'arrivée est située à l'opposée de la zone de départ (**Fig.24**).

Pour cette étude, les larves sont isolées une heure avant le début de chaque test, afin de diminuer le stress dus à la manipulation. Environ 20 larves de *Thaumetopoea pityocampa* sont testées pour chaque espèce de plante utilisée. Entre chaque test, l'aquarium est lavé à l'eau distillée afin d'annuler l'effet de l'odeur du test précédent. Le protocole expérimental consiste à introduire d'abord les aiguilles fraîches coupées dans la zone finale en laissant diffuser l'odeur après avoir remis le couvercle pendant 5 à 10 min. Ensuite on introduit la chenille dans l'enceinte au niveau de la zone de latence (zone 1). On note alors grâce à un chronomètre, le temps TL (temps de latence) que met la chenille à sortir de la zone A et le temps TP (temps de parcours) qui correspond à celui que met la larve à parcourir la zone intermédiaire (zone 2), afin d'atteindre les aiguilles du pin, source de l'odeur (zone 3). Le temps global (TG) correspond à la somme du temps de latence TL et du temps de parcours TP (**Fig.24**). L'attractivité de la chenille vers l'espèce testée, est donc l'ensemble des temps de latence et de parcours ou autrement dit le temps que met la chenille pour atteindre les aiguilles du pin. L'enceinte close est accompagné d'une source lumineuse de couleur rouge afin d'éviter tout stress chez les chenilles lors des tests.

On note également, le nombre de larves qui ont atteint la zone d'arrivée (zone 3) et celles qui ne sont pas attirées par l'odeur. Les larves qui atteignent la zone de

parcours par 40 à 50 minutes sans arriver à la zone finale, sont considérées comme non attirées par les aiguilles. Tous les tests sont effectués à une température de $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ avec une hygrométrie de 45% à 60%.

5-3-Le Traitement statistique des donnés :

Les résultats obtenus lors de l'étude du comportement alimentaire de la chenille processionnaire du pin, sont analysés statistiquement par des méthodes métriques descriptives donnant la moyenne, l'écart-type, la variance. Tous les traitements statistiques sont réalisés sur un logiciel (Minitab 2017).

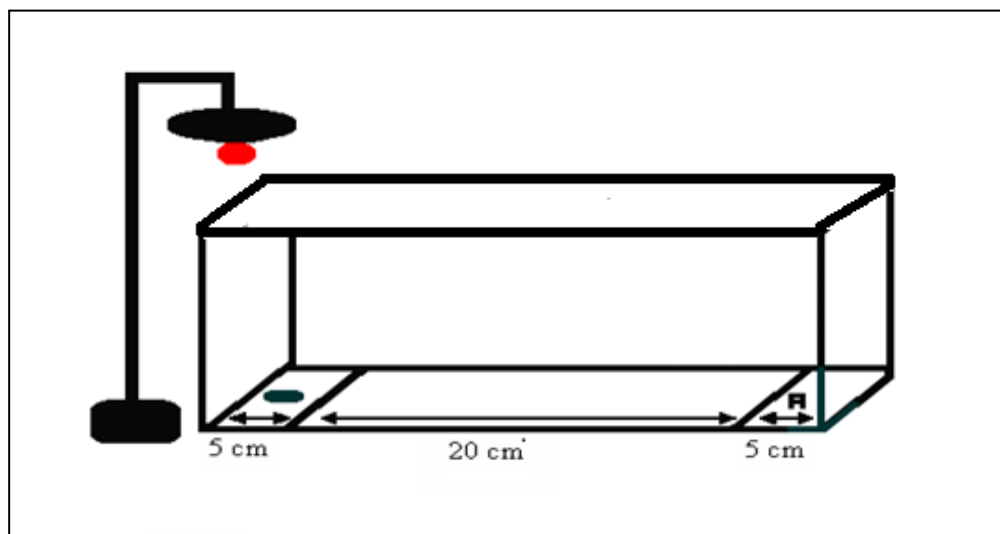


Figure 24. Enceinte close (Olfactometre) pour l'étude du comportement alimentaire de la chenille processionnaire du pin

IV- RESULTATS

1-Étude immunitaire de *Thaumetopoea pityocampa* :

1-1-Identification des cellules hémocytaires :

Les cellules hémocytaires, les plus abondantes dans l'hémolymphe de *Thaumetopoea pityocampa* sont, les prohémyocytes, les granulocytes, et les plasmocytes. Les Oenocytoides sont observées seulement pendant le 4^{ème} stade larvaire. Chaque cellule hémocytaire est caractérisée par sa morphologie, par la forme de sa membrane physiologique, par sa structure et par son rôle dans les différentes réactions immunitaires dans l'hémolymphe(Fig.25).

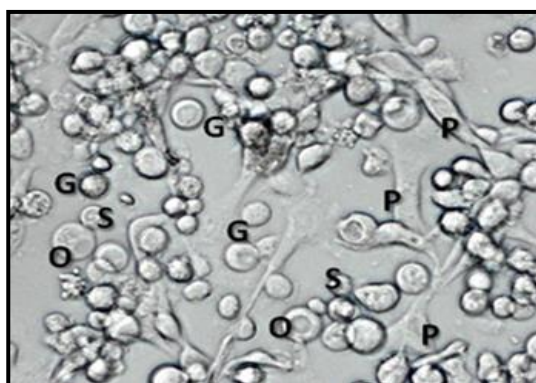


Figure 25. Les différentes cellules observées dans l'hémolymphe de *T. pityocampa* :
S : Prohemocytes, G : Granulocytes, P : Plasmocytes, O : enocytoides (Gx 20).

- Les proémocytes

Les prohémyocytes sont identifiées par leur petite forme ronde. Elles représentent l'étape indifférenciée de toutes les autres sous-populations de cellules. Les proémocytes représentent 10% de toutes les cellules existantes dans l'hémolymphe des larves des premiers stades de *Thaumetopoea pityocampa*. Leur nombre diminue dans les derniers stades larvaires (Fig.25).

- Les granulocytes

Les granulocytes représentent des hémocytes sphériques de grande ou petite taille, le noyau est acidophile, et occupe généralement une position centrale. Lorsqu'elles se développent, les granulocytes projettent des pseudopodes et des phyllopoies. Ce

sont les cellules principales de l'hémolymphe de *Thaumetopoea pityocampa*. Elles représentent environ 80 à 90% de la population totale des hémocytes de la chenille (**Fig.25**).

- Les plasmocytes

Ce sont de grandes cellules hémocytaires, présentes sous forme ronde ou alors irrégulière avec des pseudopodes allongés. Occupant une grande surface dans l'hémolymphe les plasmocytes sont pourvus d'un noyau de taille importante. Chez les larves de *Thaumetopoea pityocampa*, les plasmocytes ont une abondance qui varie entre 10 à 20% des hémocytes circulaires (**Fig.25**).

1-2-Les différentes formes de réponses immunitaires observées :

1-2-1-L'encapsulation :

1-2-1-1-L'encapsulation humorale :

Pendant les stades jeunes, l'encapsulation humorale est difficilement détectée, même après avoir développé les cellules. C'est après l'incubation pendant 24 à 48 heures et en présence des parasites ajoutés qu'on commence à détecter quelques formes d'encapsulation humorale, accompagnées par une agrégation ou regroupement des cellules hémocytaires (**Fig.26**).

A partir du L3, les formes d'encapsulation humorale sont facilement détectables. Elles sont souvent accompagnées par une encapsulation cellulaire des formes hémocytaires dans l'hémolymphe. Lorsqu'on ajoute le nématode, les formes d'encapsulation sont plus observées dans l'hémolymphe de la chenille processionnaire, formant des agrégations autour du nématode ajouté. (**Fig.26**). Le regroupement des débris confirme la détection du système immunitaire de l'insecte des particules étrangères et leur mobilisation pour les éliminer (**Fig.26**).

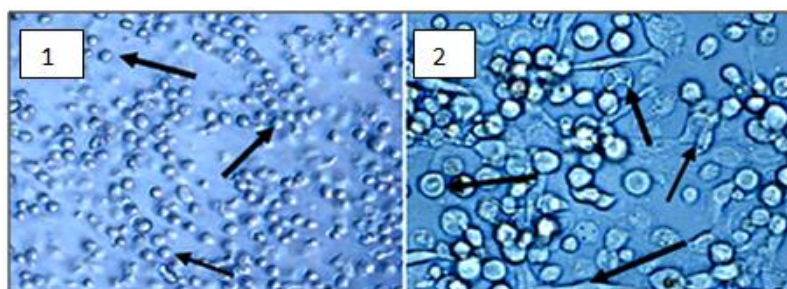


Figure 26. Cellules brutes ; Cellules cultivées (G: (1 : x 10), (2 : x 20))

1-2-1-2-L'encapsulation cellulaire :

Nos observations microscopiques primaires indiquent que le phénomène d'encapsulation cellulaire ne peut être détecté pour le 1^{er} et le 2^{ème} stade larvaire, et n'a été clairement observé qu'à partir du 3^{ème} stade larvaire ; L'encapsulation est précédée par une agrégation des débris ce qui est appelé encapsulation humorale (**Fig.27**). Toutes les cellules hémocytaires identifiées chez les larves de la chenille processionnaire du pin (les prohémyocytes, les granulocytes et les plasmocytes) participent à l'encapsulation cellulaire. La présence des bactéries, et des nématodes accélère le processus de l'encapsulation (**Fig.27**).

Notre étude de l'encapsulation cellulaire chez les chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* a permis de comprendre la faculté des différentes cellules hémocytaires à reconnaître le parasite et l'éliminer. Un nombre considérable de granulocytes entourent le nématode dès son ajout dans l'hémolymphe afin de contrôler son potentiel danger. Les plasmocytes participent également à la formation des capsules autour du parasite et du nématode. Le profil et la forme des prohémyocytes et des plasmocytes changent significativement en présence des particules étrangères.

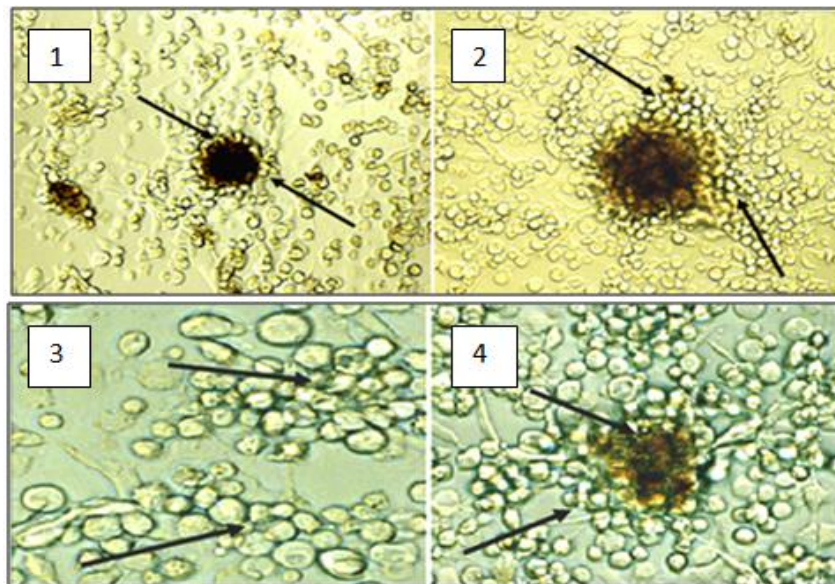


Figure 27. Observation sous microscopique à contraste de phase montrant les différentes étapes d'encapsulation immunitaire (1) Début d'encapsulation humorale (2) Les débris cellulaires entourent les parasites formant une encapsulation humorale (Gx 20) (3) Début d'encapsulation cellulaire (4) agrégation des cellules hémocytaires autour des débris entourant le parasite indiquant l'encapsulation cellulaire. (Gx: 40)

Les réponses immunitaires des cellules hémocytaires de *Thaumetopoea pityocampa* en présence des particules étrangères ont un rôle important dans la modification des formes et du rôle des différentes cellules hémocytaires (**Fig.28**).

Nos observations microscopiques quotidiennes des différentes réactions des cellules immunitaires vis-à-vis des parasites et des nématodes libres montrent que seuls les plasmocytes sont capables de phagocyter les bactéries et les levures(**Fig.28**).

Quand les bactéries et les nématodes sont ajoutés, plus de formes d'encapsulation cellulaire et humorale sont observées. L'ajout de ces particules étrangères active et accélère toutes les réactions immunitaires. Un regroupement des différentes cellules hémocytaires et leur mobilisation à éliminer le parasite ou le nématode (**Fig.28**), sont repérés durant plusieurs observations de l'hémolymphe de *Thaumetopoea pityocampa*. (**Fig.28**).

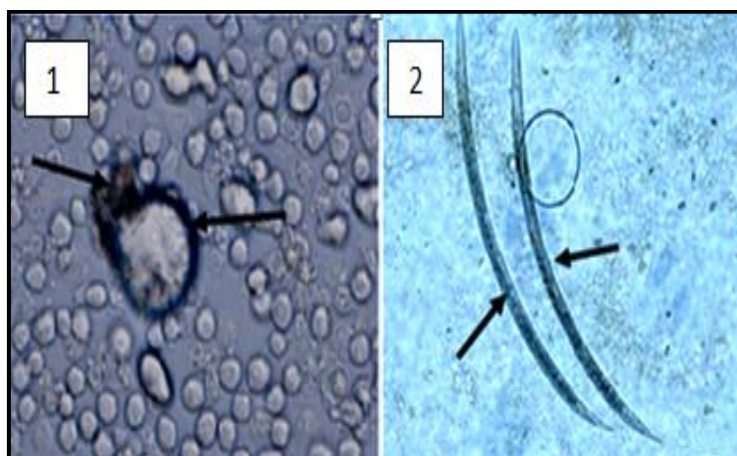


Figure 28. Bactéries et nématodes identifiés dans l'hémolymphe de *T. pityocampa*.
1 : Bactérie (Gx 20), 2 : Nématodes. (G x4)

1-2-2-La phagocytose :

Les formes de phagocytose cellulaire sont observées dans l'hémolymphe de *Thaumetopoea pityocampa* depuis les premiers stades larvaires. Les cellules entourent les particules étrangères en phase de reconnaissance, puis projettent de longs pseudopodes pour les éliminer. Les plasmocytes et les granulocytes sont les cellules qui participent à la phagocytose chez les larves de *Thaumetopoea pityocampa*. Dans la plupart des observations microscopiques, le phénomène de la phagocytose est précédé par la mélanisation et l'encapsulation cellulaire. Ces formes de phagocytose sont plus

abondantes en présence des parasites et des nématodes ajoutés à l'hémolymphe des chenilles (**Fig.28**).

1-2-3-La mélanisation et la nodulation :

Chez les larves de *Thaumetopoea pityocampa*, les plasmocytes sont les cellules hémoctaires qui interviennent dans la mélanisation (**Fig.29**), des formes de pigments noirs sont observées au niveau de ces cellules regroupées. Des formes d'encapsulation cellulaire et de phagocytose suivent la mélanisation afin de mieux contrôler la réponse immunitaire (**Fig.29**).

1-3-Comptage des cellules hémoctaires de *Thaumetopoea pityocampa* :

Nos résultats sur le comptage des cellules hémoctaires indiquent que le nombre total des cellules dans l'hémolymphe des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* en L2 est estimé à 75×10^2 cell/ml. Ce nombre augmente pour atteindre 85×10^3 cell /ml en L3, et 21×10^4 cell /ml au 4^{ème} stade larvaire

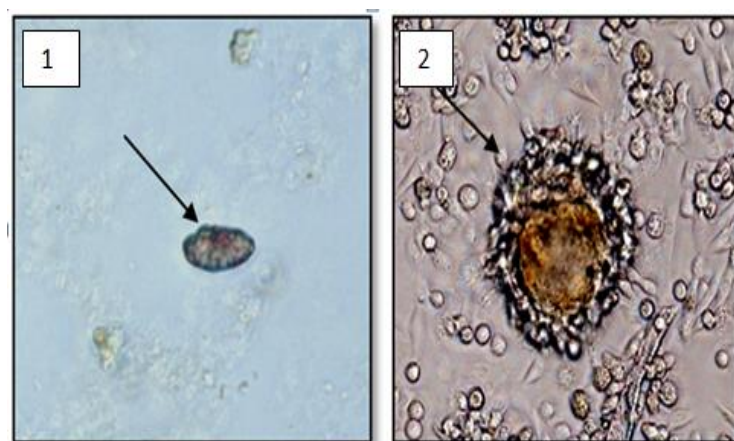


Figure 29. (1) Phagocytose en phase de lyse cellulaire (G x20), (2) mélanisation et nodulation observées dans l'hémolymphe de *T. Pityocampa* (G x10)

Les prohémoctes représentent l'origine des autres cellules hémoctaires identifiées dans l'hémolymphe de la chenille, elles sont observées dès les premiers stades larvaires et ont développé en granulocytes et plasmocytes pendant les derniers stades larvaires. Durant les stades avancés, le nombre des prohémoctes diminue pour être remplacé par les granulocytes. Les résultats de l'observation microscopique indiquent que les granulocytes sont les plus petites cellules circulaires repérées dans l'hémolymphe de *Thaumetopoea pityocampa*, (**Fig.25**).

Les plasmocytes et les prohémyocytes sont les cellules les plus abondantes dans l'hémolymphe de l'insecte durant le 2^{ème} et le 3^{ème} stades larvaires. Après quelques jours d'observations, la fraction cellulaire indique une encapsulation humorale présentée par une agrégation des débris (**Fig.27**). Dans les essais avec les protozoaires, les granulocytes viennent rapidement en contact avec des parasites et des nématodes. Des formes cellulaires avec ou sans granules cytoplasmiques sont également observées (**Fig.28**).

1-4-Nombre total et spécifique des différentes cellules hémocytaires de *Thaumetopoea pityocampa* :

Le nombre total est la valeur globale moyenne de l'effectif des cellules hémocytaires de *Thaumetopoea pityocampa* présentes pendant un stade larvaire précis. Le nombre spécifique, concerne l'effectif des hémocytes de chaque type cellulaire identifié durant chaque stade larvaire.

1-4-1-Comparaison du nombre total des cellules hémocytaires entre les différents stades larvaires :

Le nombre total des cellules hémocytaires observées chez les larves de *Thaumetopoea pityocampa* est estimé pour chaque stade larvaire (**Tab.05**). En L2 le dénombrement des cellules hémocytaires atteint les 7500 cellules, ce chiffre augmente en L3 pour atteindre une moyenne de 85 000 cellules/ ml d'hémolymphe (THC).

Tableau 05. Comparaison du nombre total des cellules hémocytaires de *Thaumetopoea pityocampa* entre les différents stades larvaires.

| Stades | L2 | L3 | L4 |
|-------------|---------|----------|-----------|
| R1 | 6915 | 77450 | 199850 |
| R2 | 7700 | 88375 | 222820 |
| R3 | 7895 | 90230 | 210200 |
| Moyenne | 7503,33 | 85351,67 | 210956,67 |
| Ecart type± | 518,76 | 6905,62 | 11503,68 |

R1, R2, R3 : Répétition du nombre des cellules

Au 4^{ème} stade larvaire, l'abondance totale des cellules hémocytaires enregistre environ 210 000 cellules / ml d'hémolymphe de *Thaumetopoea pityocampa* (**Fig.30**).

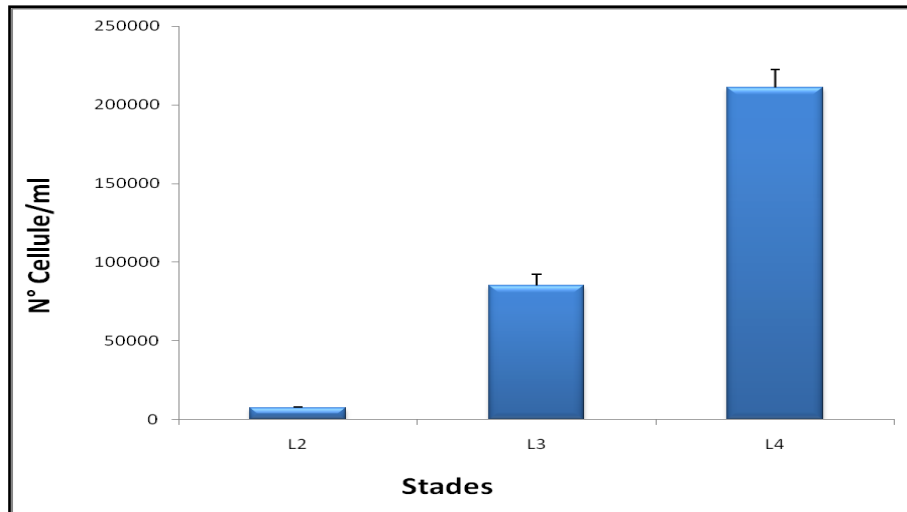


Figure 30. Comparaison du nombre total des cellules hémocytaires de *Thaumetopoea pityocampa* entre les différents stades larvaires

1-4-2-Comparaison de la moyenne du nombre spécifique des cellules hémocytaires entre les différents stades larvaires :

- **Stade larvaire 2 :**

Le tableau 5 expose les résultats du nombre moyen des cellules hémocytaires de la chenille processionnaire du pin au 2^{ème} stade larvaire.

Tableau 06. Comparaison du nombre spécifique entre les différents types hémocytaires de *Thaumetopoea pityocampa* en L2 :

| Hémocytes | Prohemocytes | Plasmocytes | Granulocytes |
|-------------|--------------|-------------|--------------|
| R1 | 635 | 280 | 6000 |
| R2 | 660 | 320 | 6720 |
| R3 | 510 | 375 | 7010 |
| Moyenne | 601,67 | 325 | 6576,67 |
| Ecart type± | 80,36 | 47,69 | 520,03 |

R1, R2, R3 : Répétition du nombre des cellules

Les cellules les plus abondantes dans l'hémolymphe des chenilles processionnaires du pin pendant ce stade larvaire sont les granulocytes (**Fig.31**). Elles sont présentes avec environ 6500 cellules/ ml d'hémolymphe, suivies par les prohémoctes avec une moyenne égale à 600 cellule/ml d'hémolymphe, et enfin les plasmocytes avec seulement 320 cellule/ml (THC) (**Tab.06**).

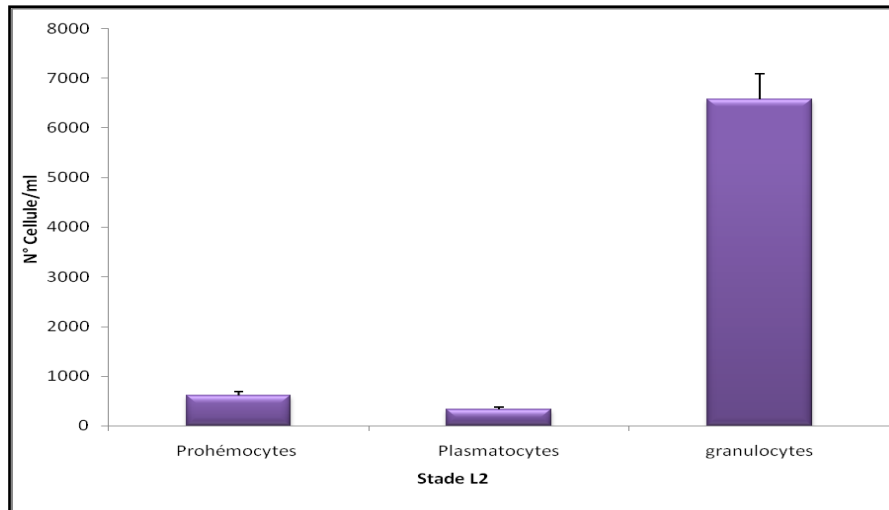


Figure 31. Nombre spécifique des cellules hémocytaires de *Thaumetopoea pityocampa* au 2^{ème} stade larvaire

- **Stade larvaire 3:**

Les hémocytes se développent et se multiplient durant ce stade, toutes les cellules hémocytaires augmentent d'effectif, mais la différence entre elles, reste moins significative (**Fig.32**). Le nombre moyen des granulocytes a enregistré une valeur de 83150 cellules/ml d'hémolymphe, celui des prohémocytes est de 1478,33 cellules/ml d'hémolymphe.

Tableau 07. Comparaison du nombre spécifique entre les différents types hémocytaires de *Thaumetopoea pityocampa* en L3 :

| Hémocytes | Prohemocytes | Plasmocytes | Granulocytes |
|--------------|--------------|-------------|--------------|
| R1 | 1600 | 600 | 75250 |
| R2 | 1325 | 750 | 86300 |
| R3 | 1510 | 820 | 87900 |
| Moyenne | 1478,33 | 723,33 | 83150 |
| Ecart type ± | 140,21 | 112,39 | 6888,22 |

R1, R2, R3 : Répétition du nombre des cellules

Les plasmocytes sont les cellules les moins abondantes dans l'hémolymphe des chenilles du 3^{ème} stade larvaire, avec une valeur moyenne égale à 723,33 cellules/ml (THC) (**Tab.07**).

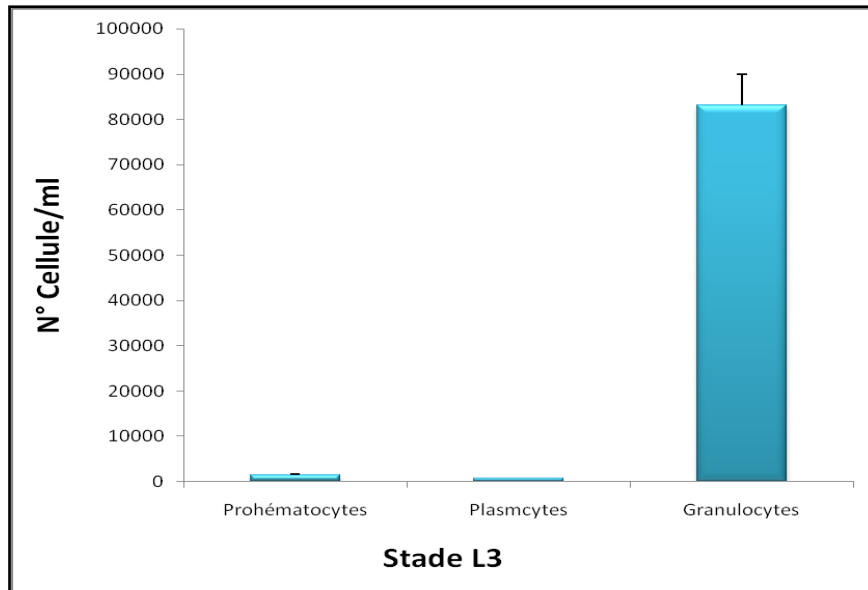


Figure 32. Nombre spécifique des cellules hémocytaires de *Thaumetopoea pityocampa* au 3^{ème} stade larvaire

Stade larvaire 4 :

Les valeurs du nombre des cellules hémocytaires par type cellulaire en L4 indique que l'insecte atteint l'âge de la maturation immunitaire en ce stade (**Fig.33**).

Tableau 08. Comparaison du nombre spécifique entre les différents types hémocytaires de *Thaumetopoea pityocampa* en L4

| Hémocytes | Prohemocytes | Plasmocytes | Granulocytes |
|-------------|--------------|-------------|--------------|
| R1 | 1200 | 850 | 197800 |
| R2 | 1570 | 1100 | 220150 |
| R3 | 1450 | 1153 | 207300 |
| Moyenne | 1406,67 | 1034,33 | 208416,67 |
| Ecart type± | 188,767 | 161,82 | 11216,76 |

R1, R2, R3 : Répétition du nombre des cellules

A ce stade, les hémocytes se développent et augmentent d'effectif pour assurer plus de fonctions immunitaires et interviennent toutes à plusieurs réactions (**Tab.08**).

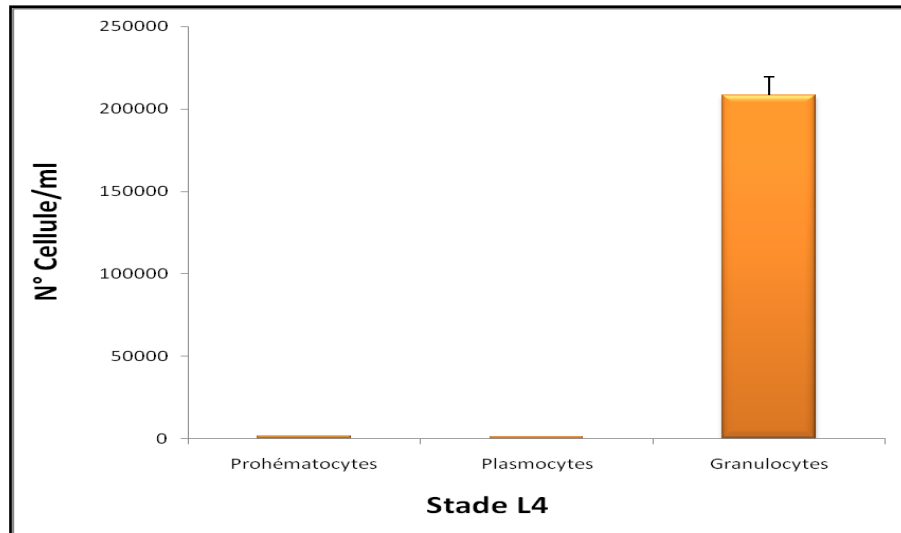


Figure33. Nombre spécifique des cellules hémocytaires de *Thaumetopoea pityocampa* au 4^{ème} stade larvaire

1-4-3-Comparaison du nombre des cellules hémocytaires par type cellulaire :

- Les prohémocytes :

Les prohémocytes sont les cellules originaires de toutes autres cellules hémocytaires, elles apparaissent à l'âge primaire de la chenille, et augmentent d'effectif au fur et à mesure des stades larvaires (**Tab.09**).Elles représentent environ 600 cellules/ ml d'hémolymphe en L2 (**Fig.34**).

Tableau 09. Comparaison du nombre moyen des prohemocytes entre les différents stades larvaires de *Thaumetopoea pityocampa* :

| Stades | L2 | L3 | L4 |
|--------------|---------|---------|---------|
| R1 | 635 | 1600 | 1200 |
| R2 | 660 | 1325 | 1570 |
| R3 | 510 | 1510 | 1450 |
| Moyenne | 601,667 | 1478,33 | 1406,67 |
| Ecart type ± | 80,36 | 140,21 | 188,72 |

R1, R2, R3 : Répétition du nombre des cellules

Ce chiffre augmente en L3 pour atteindre environ 1480 cellules/ml. En L4, le nombre des prohémocytes diminue légèrement pour atteindre les 1400 cellules/ml d'hémolymphe (THC/ml) (**Tab.09**) ce qui confirme leur transformation en plasmocytes et en granulocytes durant les stades larvaires avancés.

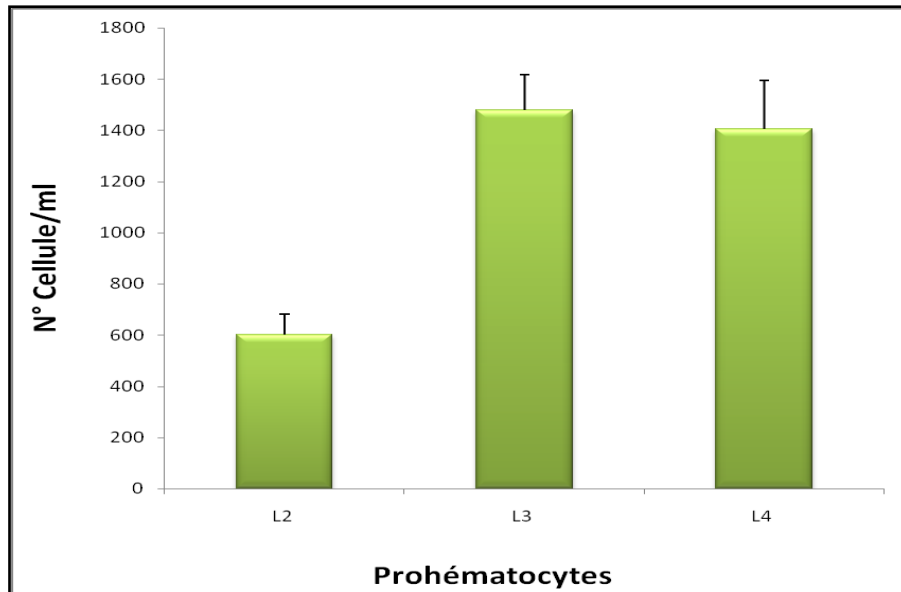


Figure 34. Évolution des prohématocytes, et comparaison de leur nombre entre les différents stades larvaires de *T. pityocampa*.

L'analyse de la variance à un critère de classification indique que le nombre moyen des prohématocytes présente des différences très hautement significatives entre les différents stades larvaires (L2, L3 et L4). La valeur de F est égale à 34,54 et la valeur de $p < 0.05$. La valeur de R^2 est de 82,02% (**Tab.10**).

Tableau 10. Analyse de la variance à un critère de classification du nombre moyen des prohématocytes entre les différents stades larvaires :

| Source | DF | ADJ SS | ADJ MS | F- Value | P-value | R^2 |
|--------|----|---------|--------|----------|---------|--------|
| Factor | 2 | 1421706 | 710853 | 34,54 | 0,001 | 82,02% |
| Error | 6 | 123500 | 20583 | | | |
| Total | 8 | 1545206 | | | | |

SS : Somme des carrés – ADJ DF : Degré de liberté – ADJ MS : régression- F : Variance observée- P : Niveau de signification- R^2 : Coefficient de détermination.

- **Les plasmocytes :**

Les Plasmocytes sont les cellules les moins abondantes dans l'hémolymphe de *Thaumetopoea pityocampa*. Elles ne représentent en L2, que 320 cellules/ ml (**Fig.35**). Ce chiffre augmente pour atteindre 820 cellules/ml en L3. Et 1450 cellules/ml en L4

(THC). Ce qui représente une valeur moins importante en comparaison avec le nombre moyen des granulocytes (**Tab.11**).

Tableau 11. Comparaison du nombre moyen des plasmocytes entre les différents stades larvaires de *Thaumetopoea pityocampa*

| Stades | L2 | L3 | L4 |
|------------------|-------|--------|---------|
| R1 | 280 | 600 | 850 |
| R2 | 320 | 750 | 1100 |
| R3 | 375 | 820 | 1450 |
| Moyenne | 325 | 723,33 | 1133,33 |
| Ecart type \pm | 47,69 | 112,39 | 301,38 |

R1, R2, R3 : Répétition du nombre des cellules

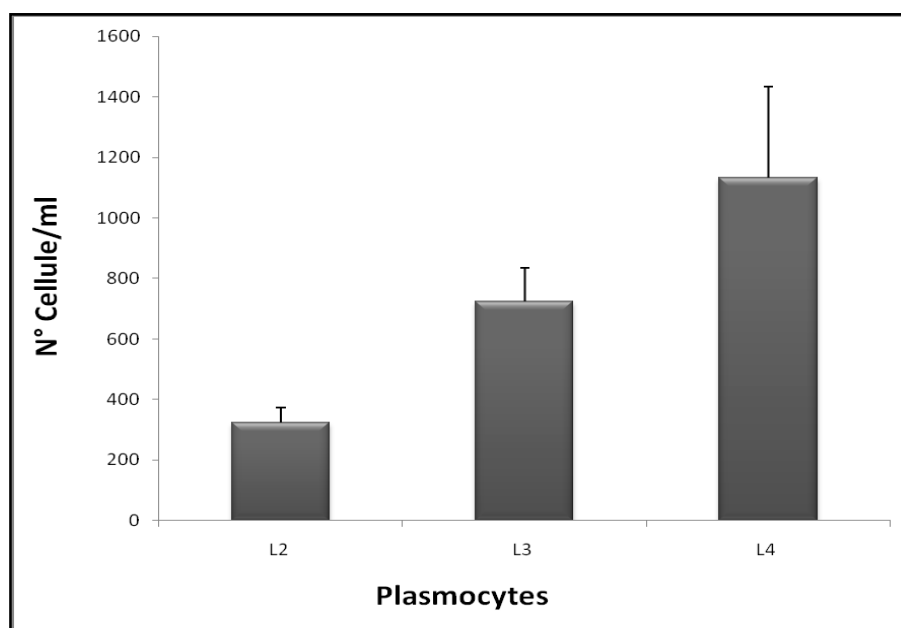


Figure 35. Évolution des plasmocytes, et comparaison de leur nombre entre les différents stades larvaires de *T. pityocampa*.

L'analyse de la variance à un critère de classification indique que le nombre des plasmocytes a enregistré des valeurs très hautement significatives entre les différents stades larvaires, la valeur de F est égale à 13,90. La valeur de R^2 est égale à 60,07% (**Tab.12**).

Tableau 12. Analyse de la variance à un critère de classification du nombre moyen des plasmocytes entre les différents stades larvaires :

| Source | DF | ADJ SS | ADJ MS | F- Value | P-value | R ² |
|--------|----|---------|--------|----------|---------|----------------|
| Factor | 2 | 980172 | 490086 | 13,90 | 0,006 | 60,07% |
| Error | 6 | 211483 | 35247 | | | |
| Total | 8 | 1191656 | | | | |

SS : Somme des carrés – ADJ DF : Degré de liberté – ADJ MS : régression- F : Variance observée- P : Niveau de signification- R² : Coefficient de détermination.

- Les Granulocytes :

Les granulocytes sont les cellules les plus abondantes dans l'hémolymphe des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* durant tous les stades larvaires. Ces cellules forment la grande fraction cellulaire dans l'hémolymphe de l'insecte. Elles représentent en L2 environ 6500 cellules/ ml d'hémolymphe (**Fig.36**).

Tableau 13. Comparaison du nombre moyen des granulocytes entre les différents stades larvaires de *Thaumetopoea pityocampa*

| Stades | L2 | L3 | L4 |
|--------------|---------|---------|-----------|
| R1 | 6000 | 75250 | 197800 |
| R2 | 6720 | 86300 | 220150 |
| R3 | 7010 | 87900 | 207300 |
| Moyenne | 6576,67 | 83150 | 208416,67 |
| Ecart type ± | 520,032 | 6888,22 | 11216,76 |

R1, R2, R3 : Répétition du nombre des cellules

Ce chiffre augmente pour atteindre 83000 cellules/ml en L3 et double encore pour atteindre environ 200 000 cellules/ ml d'hémolymphe en L4 (THC) (**Tab.13**).

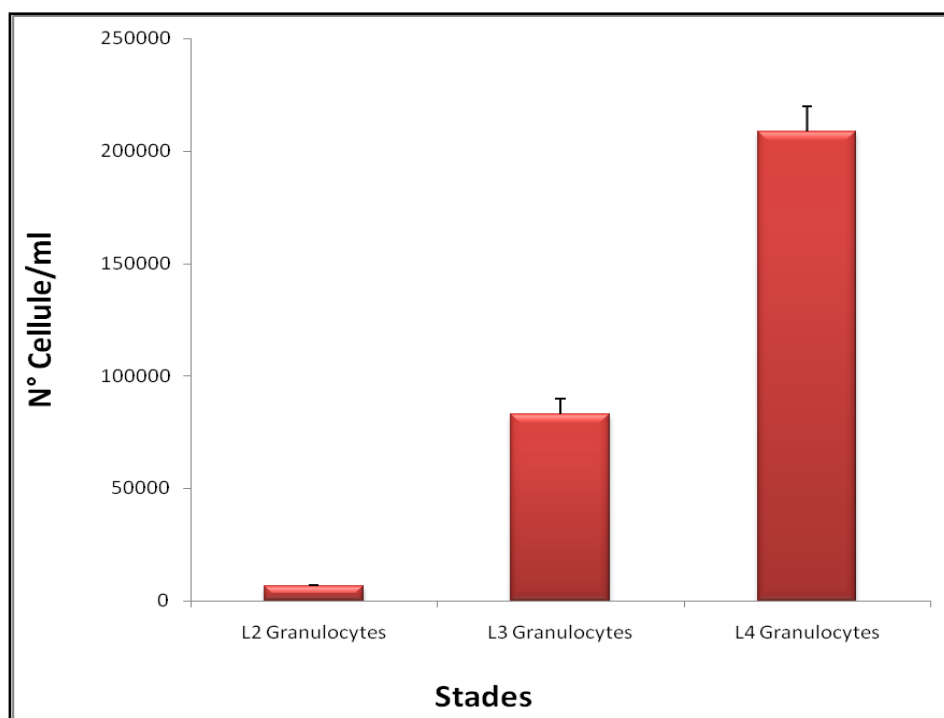


Figure 36. Évolution des granulocytes, et comparaison de leur nombre entre les différents stades larvaires de *T. pityocampa*.

L'analyse de la variance à un critère de classification indique que le nombre moyen des granulocytes enregistre des valeurs non significatives entre les différents stades larvaires (L2, L3 et L4). La valeur de F est égale à 538,47 et la valeur de $p < 0.05$. La valeur de R^2 est égale à 98,75% (Tab.14).

Tableau 14. Analyse de la variance à un critère de classification du nombre moyen des granulocytes entre les différents stades larvaires :

| Source | DF | ADJ SS | ADJ MS | F- Value | P-value | R^2 |
|--------|----|-------------|-------------|----------|---------|--------|
| Factor | 2 | 62294598756 | 31147299378 | 538,47 | 0,000 | 98,75% |
| Error | 6 | 347067533 | 57844589 | | | |
| Total | 8 | 62641666289 | | | | |

SS : Somme des carrés – ADJ DF : Degré de liberté – ADJ MS : régression- F : Variance observée- P : Niveau de signification- R^2 : Coefficient de détermination.

2-Étude toxicologique des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* :

2-1-Essai insecticide des huiles essentielles sur les larves de *Thaumetopoea pityocampa*:

Les tests de toxicité sont appliqués sur des chenilles du 3^{ème} stade larvaire, avec les différentes concentrations des huiles utilisées. Les individus témoins reçoivent des

aiguilles non traités. La mortalité observée est mentionnée dans des tableaux avec des taux variant de 10 % à 100 % de mortalité observée. Les traitements toxicologiques sont réalisés dans des conditions contrôlées.

2-1-1-Traitement des chenilles à l'huile du Basilic, *Ocimum basilicum* :

- Mortalité observée :

A 8 jours du traitement des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* à l'huile de Basilic, les taux de mortalités observées ont atteint des valeurs moyennes qui varient entre 70 et 80% pour les concentrations 1 et 1,5 g/l et un taux de 100% pour la concentration de 2g/l (**Tab.15**).

Tableau 15. Taux de mortalité observée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de Basilic, au 8^{ème} jour du traitement.

| Concentrations | 1 g/l | 1,5 g/l | 2 g/l |
|----------------|-------|---------|-------|
| R1 | 70 | 80 | 100 |
| R2 | 80 | 70 | 90 |
| R3 | 80 | 80 | 100 |
| Moyenne | 76,67 | 76,67 | 96,67 |

R1, R2, R3 : Répétition pour le taux de mortalité des chenilles.

- Mortalité corrigée :

Les mortalités observées (**Tab.16**) sont corrigées par la formule d'Abbott, qui montre l'effet réel des différentes concentrations. Les valeurs de mortalité corrigée sont d'une moyenne qui varie entre 74,06% et 96,28% pour les concentrations de 1, 1,5 et de 2 g/l.

(**Tab.16**)

Tableau 16. Taux de mortalité corrigée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de basilic, au 8^{ème} jour du traitement :

| Concentrations | 1g/l | 1,5 g/l | 2g/l |
|----------------|-------|---------|-------|
| R1 | 66,66 | 77,77 | 99,99 |
| R2 | 77,77 | 66,66 | 88,88 |
| R3 | 77,77 | 77,77 | 99,99 |
| Moyenne | 74,06 | 74,06 | 96,28 |

R1, R2, R3 : Répétition pour les taux de mortalité

- **Transformation angulaires des taux de mortalités :**

Après, une transformation angulaire des pourcentages de mortalités enregistrent les valeurs mentionnées dans le tableau (**Tab.17**) La transformation angulaire a pour but de normaliser les valeurs suivant une équation précise. Les taux de mortalité après transformation angulaire ont enregistrés environ 5, 65 pour les concentrations les moins élevés et environ 7 pour la concentration de 2g/l.

Tableau 17. Transformation angulaire des taux de mortalité des chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de Basilic, au 8^{ème} jour du traitement.

| Concentrations | 1g/l | 1,5 g /l | 2g/l |
|----------------|------|----------|------|
| R1 | 5,43 | 5,76 | 7,34 |
| R2 | 5,76 | 5,43 | 6,21 |
| R3 | 5,76 | 5,76 | 7,34 |
| Moyenne | 5,65 | 5,65 | 6,96 |

R1, R2, R3 : Répétition pour les taux de mortalité.

- **Étude de la variance des taux de mortalités :**

Les données sur le tableau 17, (M = 5,65- 5,65- 6,96) ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification qui révèle un effet concentration très hautement significatif (F = 10,39) (**Tab.18**).

Tableau 18. Variance des taux de mortalité des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* traitées à l'huile de Basilic, au 8^{ème} jour du traitement :

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value | R ² |
|--------|----|--------|--------|---------|---------|----------------|
| Factor | 2 | 3,4497 | 1,7248 | 10,39 | 0,011 | 49,57% |
| Error | 6 | 0,9965 | 0,1661 | | | |
| Total | 8 | 4,4462 | | | | |

SS : Somme des carrés – ADJ DF : Degré de liberté – ADJ MS : régression- F : Variance observée- P : Niveau de signification- R² : Coefficient de détermination

Le coefficient de détermination ($R^2 = 49,57\%$) révèle une liaison positive entre les probits des taux de mortalités corrigées et le logarithme des concentrations testées (**Tab.18**).

2-1-2-Traitement des chenilles à l'huile d'Eucalyptus, *Eucalyptus globulus* :

- Mortalité observée :

Les taux de mortalité des chenilles du 3^{ème} stade larvaire de *Thaumetopoea pityocampa* traitées à l'huile d'Eucalyptus ont enregistrées les valeurs moyennes de 80%, 90% et 96,67% pour les concentrations de 3, 4 et de 6 g/l (**Tab.19**).

Tableau 19. Taux de mortalité observée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile d'Eucalyptus, au 8^{ème} jour du traitement.

| Concentrations | 3g/l | 4g/l | 6 g/l |
|----------------|------|------|-------|
| R1 | 70 | 90 | 100 |
| R2 | 80 | 80 | 100 |
| R3 | 90 | 100 | 90 |
| Moyenne | 80 | 90 | 96,67 |

R1, R2, R3 : Répétition pour les taux de mortalité

- Mortalité corrigée :

Les mortalités observées des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* traitées à l'huile d'Eucalyptus, sont corrigées par la formule d'Abbott, qui montre l'effet réel des différentes concentrations (**Tab.20**). Les valeurs de mortalité corrigée ont atteint 77,77% pour la concentration de 3g/l, 88,88% pour la concentration de 4g/l et la valeur de 96,28% pour la concentration de 6g/l d'huile d'Eucalyptus.

Tableau 20. Taux de mortalité corrigée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile d'Eucalyptus, au 8^{ème} jour du traitement.

| Concentrations | 3g/l | 4g/l | 6 g/l |
|----------------|-------|-------|-------|
| R1 | 66,66 | 88,88 | 99,99 |
| R2 | 77,77 | 77,77 | 99,99 |
| R3 | 88,88 | 99,99 | 88,88 |
| Moyenne | 77,77 | 88,88 | 96,28 |

R1, R2, R3 : Répétition pour les taux de mortalité

- **Transformation angulaire des taux de mortalités :**

Les taux de mortalité corrigée sont ensuite normalisés pour atteindre les valeurs de 5,80 pour la concentration de 3g/l, la valeur de 5,91 pour la concentration de 4g/l et la valeur de 6,96 pour la concentration la plus élevée de l'huile d'Eucalyptus (**Tab.21**)

Tableau 21. Transformation angulaire des taux de mortalité des chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile d'Eucalyptus, 8^{ème} jour du traitement:

| Concentrations | 3g/l | 4g/l | 6 g/l |
|----------------|------|------|-------|
| R1 | 5,43 | 6,21 | 7,34 |
| R2 | 5,76 | 5,76 | 7,34 |
| R3 | 6,21 | 7,34 | 6,21 |
| Moyenne | 5,80 | 5,91 | 6,96 |

R1, R2, R3 : Répétition pour les taux de mortalité

- **Étude de la variance des taux de mortalité :**

Les données du tableau (M= 5,80- 5,91- 6,96) ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification qui révèle un effet concentration très hautement significatif (F= 2,46) (**Tab.22**). Le coefficient de détermination ($R^2 = 26,74\%$) révèle une liaison positive très forte entre les probits des mortalités et le logarithme des concentrations testées).

Tableau 22. Variance des taux de mortalité des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* traitées à l'huile d'Eucalyptus 8^{ème} jour après traitement.

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value | R ² |
|--------|----|--------|--------|---------|---------|----------------|
| Factor | 2 | 2,036 | 1,0180 | 2,46 | 0,166 | 26,74% |
| Error | 6 | 2,483 | 0,4139 | | | |
| Total | 8 | 4,519 | | | | |

SS : Somme des carrés – ADJ DF : Degré de liberté – ADJ MS : régression- F : Variance observée- P : Niveau de signification- R² : Coefficient de détermination

2-1-3-Traitement des chenilles à l'huile de cèdre *Cedrus atlantica* :

- Mortalité observée :

La mortalité observée des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* traitées à l'huile de cèdre a enregistré les valeurs de 80%, 90% et la valeur de 96,67% pour les concentrations de 2, de 2,5 et de 3g/l de l'huile de cèdre (**Tab.23**).

Tableau 23. Taux de mortalité observée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de cèdre, au dernier jour du traitement.

| Concentrations | 2 g/l | 2,5 g/l | 3 g/l |
|----------------|-------|---------|-------|
| R1 | 80 | 90 | 100 |
| R2 | 70 | 100 | 90 |
| R3 | 90 | 80 | 100 |
| Moyenne | 80 | 90 | 96,67 |

R1, R2, R3 : Répétition pour les taux de mortalité

- Mortalité corrigée :

Les mortalités observées (**Tab.24**) des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* traitées à l'huile de cèdre sont corrigées par la formule d'Abbott, qui montre l'effet réel des différentes concentrations pour atteindre les taux de mortalité corrigé égaux à 77,77% pour la concentration de 2g/l, 88,88% pour la concentration de 2,5g/l et la valeur corrigée de 96,28% pour la concentration de 3g/l.

Tableau 24. Taux de mortalité corrigée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de cèdre, au 8^{ème} du traitement.

| Concentrations | 2 g/l | 2,5 g/l | 3 g/l |
|----------------|-------|---------|-------|
| R1 | 77,77 | 88,88 | 99,99 |
| R2 | 66,66 | 99,99 | 88,88 |
| R3 | 88,88 | 77,77 | 99,99 |
| Moyenne | 77,77 | 88,88 | 96,28 |

R1, R2, R3 : Répétition pour les taux de mortalité

- **Transformation angulaire des taux de mortalités :**

Après, une transformation angulaire des pourcentages de mortalité a donné les valeurs suivantes : 5,80 pour la concentration de 2g/l, la valeur de 6,43 pour la concentration de 2,5g/l et la valeur de 6,96 pour la concentration de 3g/l de l'huile de cèdre (**Tab.25**).

Tableau 25. Transformation angulaire des taux de mortalité des chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de cèdre, au 8^{ème} du traitement.

| Concentrations | 2 g/l | 2,5 g/l | 3 g/l |
|----------------|-------|---------|-------|
| R1 | 5,76 | 6,21 | 7,34 |
| R2 | 5,43 | 7,34 | 6,21 |
| R3 | 6,21 | 5,76 | 7,34 |
| Moyenne | 5,80 | 6,43 | 6,96 |

R1, R2, R3 : Répétition pour les taux de mortalité

- **Étude de la variance des taux de mortalités :**

Les données des taux de mortalité corrigés et normalisés des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* traitées au cèdre de l'Atlas (M= 5,80- 6,43- 6,96) ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (**Tab.26**) qui révèle un effet concentration très hautement significatif (F= 2,46). Le coefficient de détermination ($R^2= 26,74\%$) révèle une liaison positive très forte entre les probits des mortalités corrigées et le logarithme des concentrations testées.

Tableau 26. Variance des taux de mortalité des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* traitées à l'huile de cèdre, 8^{ème} traitement.

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value | R ² |
|--------|----|--------|--------|---------|---------|----------------|
| Factor | 2 | 2,036 | 1,0180 | 2,46 | 0,166 | 26,74% |
| Error | 6 | 2,483 | 0,4139 | | | |
| Total | 8 | 4,519 | | | | |

SS : Somme des carrés – ADJ DF : Degré de liberté – ADJ MS : régression- F : Variance observée- P : Niveau de signification- R² : Coefficient de détermination

2-1-4-Traitement des chenilles à l'huile de bois de Gaïac :*Bulnesia sarmienti*

- Mortalité observée :

Au 8^{ème} jour du traitement toxicologique des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* à l'huile de bois de Gaïac, les taux de mortalité observées ont atteint une valeur égale à 70% pour la concentration de 2g/l, une valeur de 76,67% pour la concentration de 2,5g/l et la valeur de 90% pour la concentration de 3g/l de l'huile de bois de Gaïac (**Tab.27**).

Tableau 27. Taux de mortalité observée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de bois de Gaïac, au 8^{ème} jour du traitement.

| Concentrations | 2 g/l | 2,5 g/l | 3 g/l |
|----------------|-------|---------|-------|
| R1 | 80 | 80 | 80 |
| R2 | 60 | 70 | 90 |
| R3 | 70 | 80 | 100 |
| Moyenne | 70 | 76,67 | 90 |

R1, R2, R3 : Répétitions pour les taux de mortalité

- Mortalité corrigée :

Les mortalités observées (**Tab.28**) des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* traitées à l'huile du bois de Gaïac sont ensuite corrigées par la formule d'Abbott qui montre l'effet réel des différentes concentrations (**Tab.28**) pour atteindre des taux de 66,66%, 74,06% et 88,88% pour les concentrations de 2, 2,5 et 3g/l de l'huile de bois de Gaïac.

Tableau 28. Taux de mortalité corrigée sur les chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de bois de Gaïac, au 8^{ème} jour du traitement.

| Concentrations | 2 g/l | 2,5 g/l | 3 g/l |
|----------------|-------|---------|-------|
| R1 | 77,77 | 77,77 | 77,77 |
| R2 | 55,55 | 66,66 | 88,88 |
| R3 | 66,66 | 77,77 | 99,99 |
| Moyenne | 66,66 | 74,06 | 88,88 |

R1, R2, R3 : Répétitions pour les taux de mortalité.

Transformation angulaire des taux de mortalités :

Après, une transformation angulaire des pourcentages de mortalités est réalisée (**Tab.29**) : les valeurs de mortalité normalisée des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* sont les suivantes : 5,44 pour la concentration de 2g/l, de 5,65 pour la concentration de 2,5g/l et la valeur de 6,43 pour la concentration la plus élevée de l'huile de bois de Gaïac.

Tableau 29. Transformation angulaire des taux de mortalité des chenilles processionnaires du pin traitées à l'huile de bois de Gaïac, au 8^{ème} jour du traitement.

| Concentrations | 2 g/l | 2,5 g/l | 3 g/l |
|----------------|-------|---------|-------|
| R1 | 5,76 | 5,76 | 5,76 |
| R2 | 5,14 | 5,43 | 6,21 |
| R3 | 5,43 | 5,76 | 7,34 |
| Moyenne | 5,44 | 5,65 | 6,43 |

R1, R2, R3 : Répétitions pour les taux de mortalité.

- Étude de la variance des taux de mortalités :

Les données sur le tableau (**30**) (M= 5,44- 5,66- 6,43), ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification qui révèle un effet concentration très hautement significatif (F= 3,11). Le coefficient de détermination ($R^2 = 34,53\%$) révèle une liaison positive très forte entre les probits des mortalités corrigées et le logarithme des concentrations testées.

Tableau 30. Variance des taux de mortalité des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* traitées à l'huile de bois de Gaïac, au 8^{ème} jour du traitement.

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value | R ² |
|--------|----|--------|--------|---------|---------|----------------|
| Factor | 2 | 1,648 | 0,8241 | 3,11 | 0,118 | 34,53 % |
| Error | 6 | 1,590 | 0,2651 | | | |
| Total | 8 | 3,239 | | | | |

SS : Somme des carrés – ADJ DF : Degré de liberté – ADJ MS : régression- F : Variance observée- P : Niveau de signification- R² : Coefficient de détermination

2-2-Paramètres toxicologiques des taux de mortalités :

2-2-1-Valeurs des droites de régression et des concentrations létales pour chaque molécule au 3^{ème} stade larvaire, après 24 heures du traitement :

Les paramètres toxicologiques du traitement des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* au 3^{ème} stade larvaire sont calculés pour chaque molécule après 24 heures et après 8 jours du traitement. Les concentrations létales 50 et 90 sont également estimées. Les résultats après 24 heures du traitement (**Fig.37**) montrent que l'équation de régression du traitement des chenilles à l'huile de Basilic est la suivante $Y = 1,39x + 3,64$. Les concentrations létales, 50 et 90 enregistrent respectivement des valeurs égales à 2,66 g/l et 6,42 g/l. La valeur de R^2 est de 0,68 (**Tab.31**).

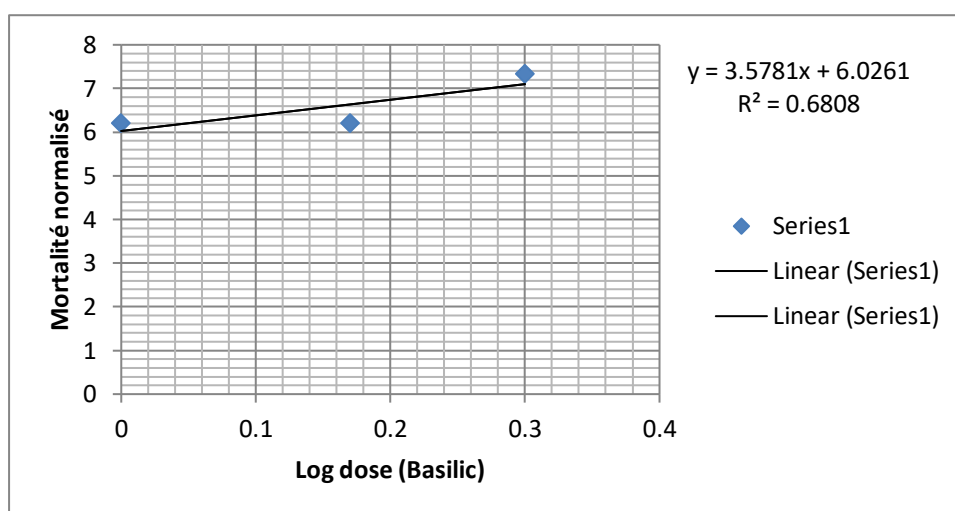


Figure 37. Courbe de régression après 24 heures du traitement des chenilles à l'huile de Basilic.

Le traitement toxicologique des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* du 3^{ème} stade larvaire à l'huile d'Eucalyptus enregistre une équation de régression suivante $Y = 16,20x - 7,03$. (**Fig.38**). Les valeurs des CL 50 et 90 sont de 2,09 g/l et 2,27 g/l respectivement. Le traitement des chenilles processionnaire du pin à l'huile d'Eucalyptus a enregistré une valeur de R^2 égale à 0,88 après 24 heures du traitement (**Tab.31**).

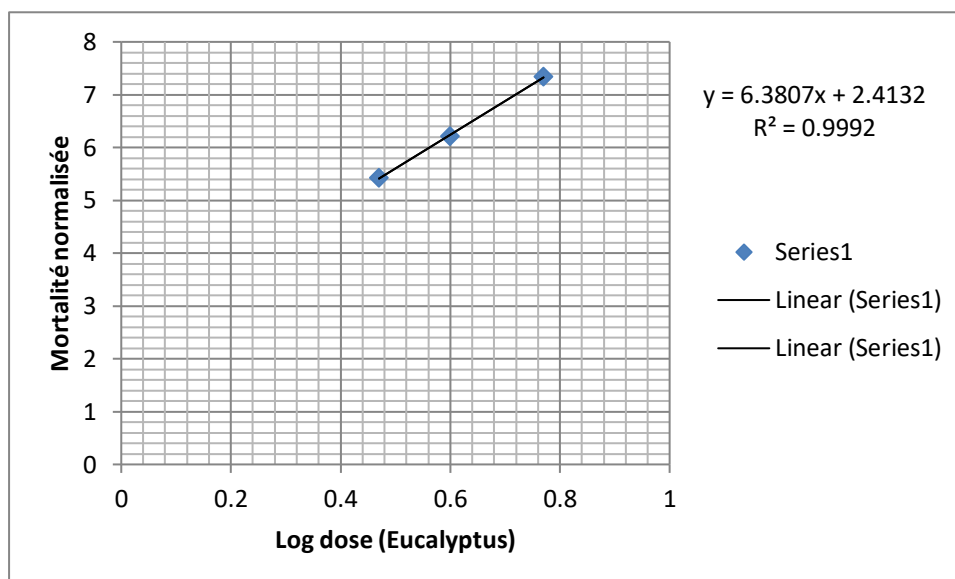


Figure 38. Courbe de régression après 24 heures du traitement des chenilles à l'huile d'Eucalyptus.

Concernant les résultats obtenus pour le traitement des chenilles à l'huile de bois de Gaïac (**Fig.39**), l'équation de régression est la suivante $Y = 2,53 x + 2,87$. Les concentrations létales 50 et 90 ont enregistré des valeurs égales à 2,32 g/l et 3,78 g/l respectivement. La valeur de R^2 est de 0,72 après 24 heures du traitement (**Tab.31**).

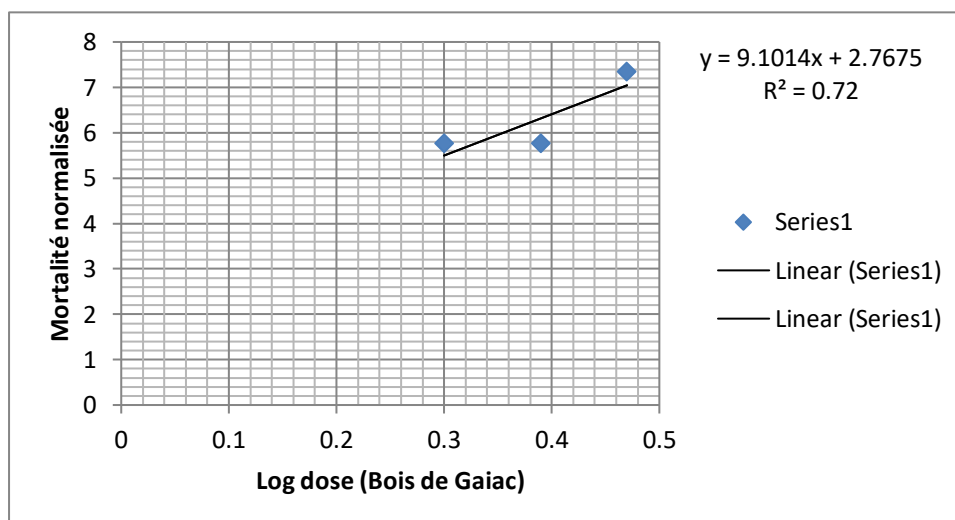


Figure 39. Courbe de régression après 24 heures du traitement des chenilles à l'huile de bois de Gaïac

Enfin, et pour le traitement toxicologique des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* du 3^{ème} stade larvaire à l'huile de cèdre, l'équation de régression est la suivante $Y = 23,96 x - 7,89$ (**Fig.40**). Les valeurs des CL 50 et 90 sont de 1,72 g/l et

1,80 g/l respectivement. La valeur de R^2 est de 0,72 après un jour du traitement (Tab.31).

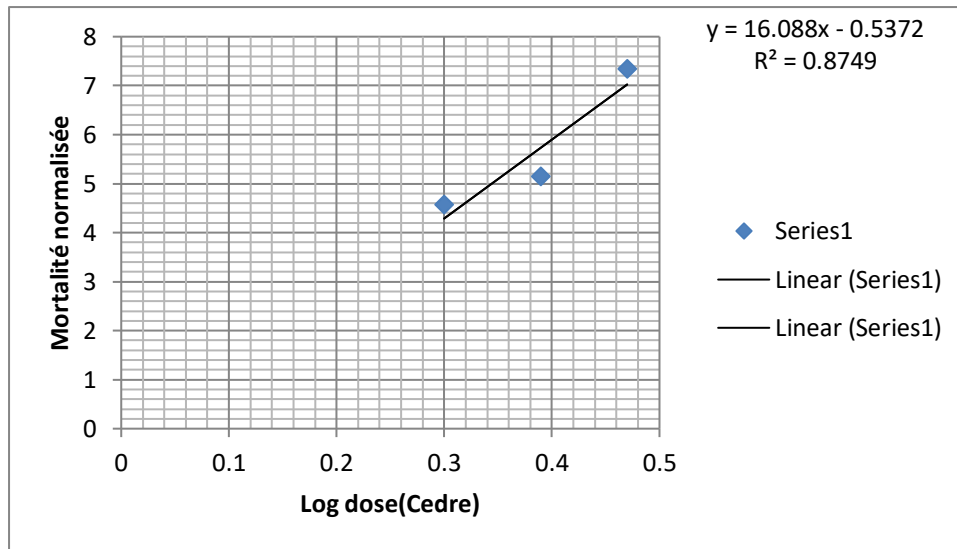


Figure 40. Courbe de régression après 24 heures du traitement des chenilles à l'huile de cèdre

Tableau 31. Paramètres toxicologiques et concentrations létales après 24 heures du traitement des chenilles du 3^{ème} stade larvaire de *T. pityocampa* par les différentes huiles essentielles :

| Paramètres | Concentrations utilisées (g/l) | Droite de régression | CL 50 | CL 90 | R ² |
|---|--------------------------------|----------------------|-------|-------|----------------|
| Basilic (<i>Ocimum basilicum</i>) | 1 | Y=1,39 x +3,64 | 2,66 | 6,42 | 0,68 |
| | 1,5 | | | | |
| | 2 | | | | |
| Eucalyptus (<i>Eucalyptus globulus</i>) | 3 | Y= 16,20 x – 7,03 | 2,09 | 2,27 | 0,88 |
| | 4 | | | | |
| | 6 | | | | |
| Bois de Gaïac (<i>Bulnesia sarmienti</i>) | 2 | Y= 2,53 x +2,87 | 2,32 | 3,78 | 0,72 |
| | 2,5 | | | | |
| | 3 | | | | |
| Cèdre de l'Atlas (<i>Cedrus atlantica</i>) | 2 | Y= 23 x – 7, 89 | 1,72 | 1,80 | 0,72 |
| | 2,5 | | | | |
| | 3 | | | | |

Y : Droite de régression-CL : Concentration létale- R² : Coefficient de détermination.

2-2-2-Valeurs des droites de régression et des concentrations létales pour chaque molécule au 3^{ème} stade larvaire, après 8 jours du traitement :

Après 8 jours, les résultats montrent que l'équation de régression du traitement des chenilles à l'huile de Basilic est la suivante Y= 3,57 x+ 6,02. (**Fig.41**). Les concentrations létales, 50 et 90 enregistrent respectivement des valeurs égales à 0,75 et 0,94 g/l. La valeur de R² est de 0,68 (**Tab.32**).

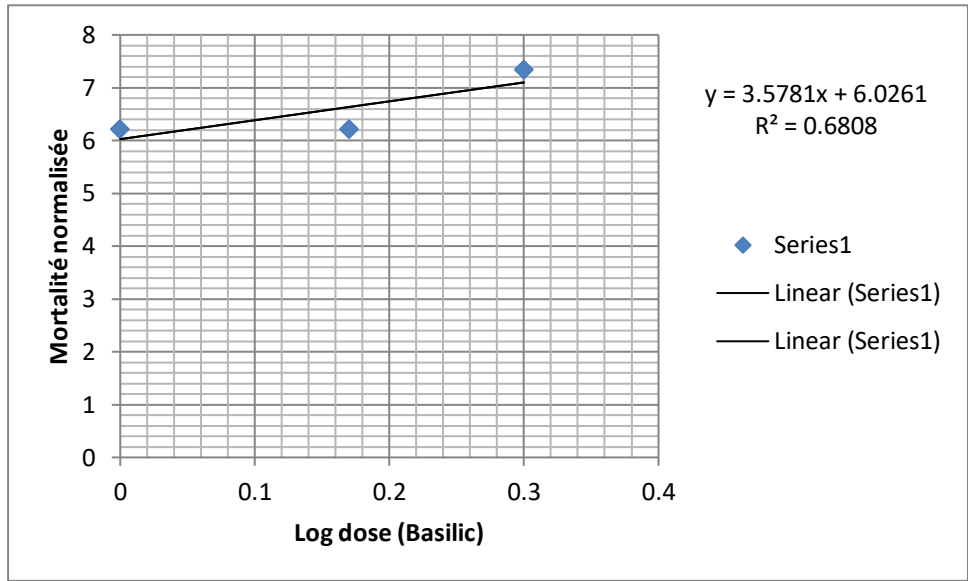


Figure 41. Courbe de régression après 8 jours du traitement des chenilles à l'huile de Basilic

Le traitement toxicologique des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* du 3^{ème} stade larvaire à l'huile d'Eucalyptus enregistre une équation de régression suivante : $Y = 6,38x + 2,42$. (**Fig.42**).

Les valeurs des CL 50 et 90 sont de 1,49 et 1,80 g/l respectivement. Le traitement des chenilles processionnaire du pin à l'huile d'Eucalyptus a enregistré une valeur de R^2 égale à 0,99 après 8 jours du traitement (**Tab.32**).

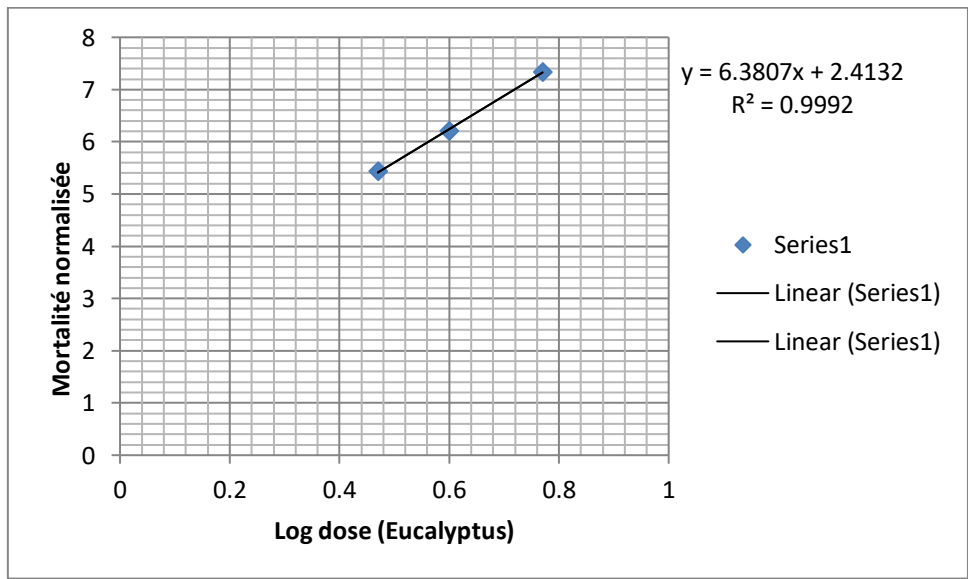


Figure 42. Courbe de régression après 8 jours du traitement des chenilles à l'huile d'Eucalyptus

Concernant les résultats obtenus pour le traitement des chenilles à l'huile du bois de Gaiac, (**Fig.43**), l'équation de régression est la suivante $Y=9,10x + 2,76$. Les concentrations létales, 50 et 90 ont enregistré des valeurs égales à 1,27 et 1,46 g/l respectivement. La valeur de R^2 est de 0,72 après 8 jours du traitement (**Tab.32**).

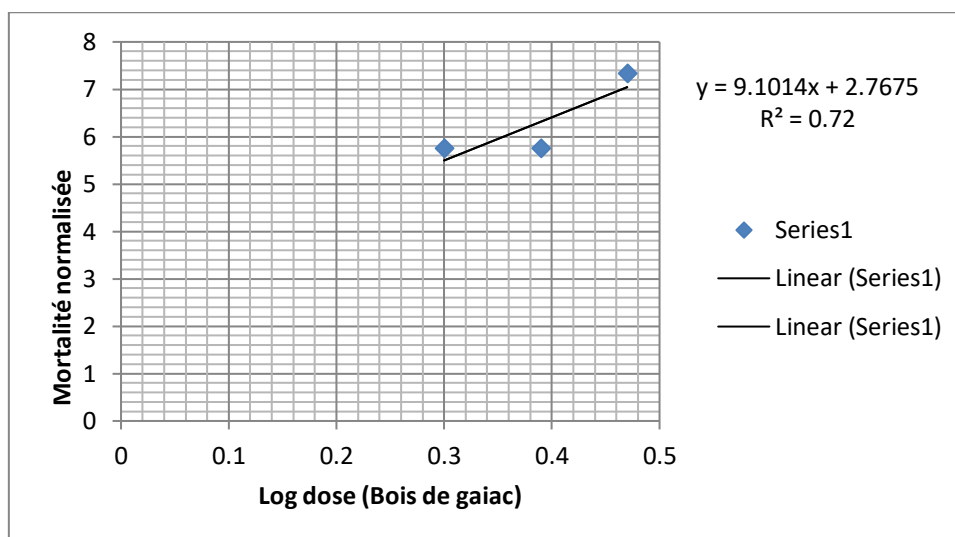


Figure 43. Courbe de régression après 8 jours du traitement des chenilles à l'huile de bois de Gaiac

Enfin, et pour le traitement toxicologique des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* du 3^{ème} stade larvaire à l'huile de cèdre, l'équation de régression est la suivante $Y= 16,08 x - 0,54$. (**Fig.44**). Les valeurs des CL 50 et 90 sont de 1,40 et 1,52 g/l respectivement. La valeur de R^2 est de 0,87 après 8 jours du traitement (**Tab.32**).

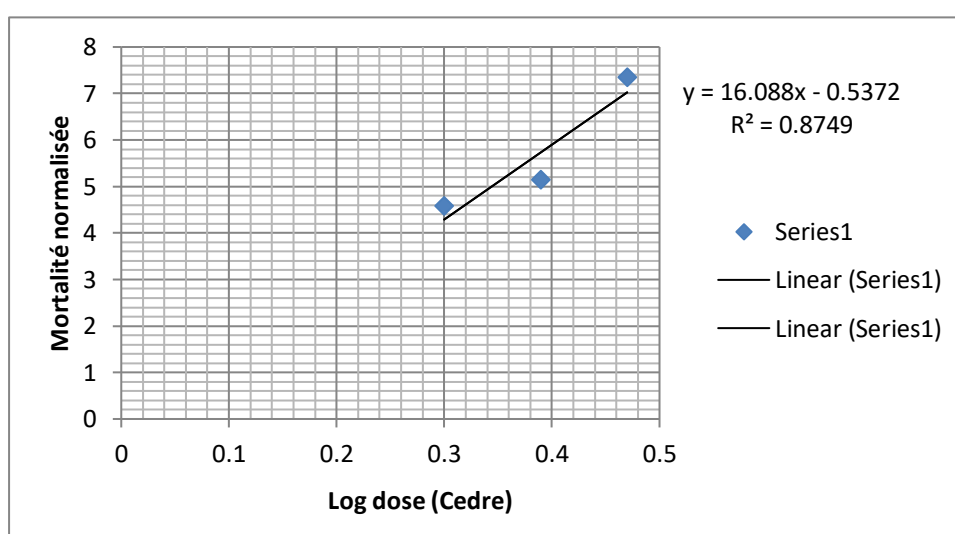


Figure 44. Courbe de régression après 8 jours du traitement des chenilles à l'huile de cèdre

Tableau. Paramètres toxicologiques et concentrations létales après 8 jours du traitement des chenilles du 3^{ème} stade larvaire de *T. pityocampa* par des différentes huiles essentielles :

| Paramètres | Concentrations utilisées (g/l) | Droite de régression | CL 50 | CL 90 | R ² |
|---|--------------------------------|----------------------|-------|-------|----------------|
| Basilic (<i>Ocimum basilicum</i>) | 1 | Y=3,57 x +6,02 | 0,75 | 0,94 | 0,68 |
| | 1,5 | | | | |
| | 2 | | | | |
| Eucalyptus (<i>Eucalyptus globulus</i>) | 3 | Y= 6,38 x + 2,42 | 1,49 | 1,80 | 0,99 |
| | 4 | | | | |
| | 6 | | | | |
| Bois de Gaïac (<i>Bulnesia sarmienti</i>) | 2 | Y= 9,10 x +2,76 | 1,27 | 1,46 | 0,72 |
| | 2,5 | | | | |
| | 3 | | | | |
| Cèdre de l'Atlas (<i>Cedrus atlantica</i>) | 2 | Y= 16,08 x – 0,54 | 1,40 | 1,52 | 0,87 |
| | 2,5 | | | | |
| | 3 | | | | |

Y : Droite de régression-CL : Concentration létale- R² : Coefficient de détermination.

3-Effet des huiles essentielles sur la formule hémocytaire de la chenille processionnaire du pin.

Le nombre total des cellules hémocytaires enregistré en 1 µl est d'une moyenne de 32 cellule/µl d'hémolymphe (Tab.33).

Tableau 33. Comparaison du nombre total des cellules hémocytaires entre les chenilles non traitées de *Thaumetopoea pityocampa* et celles traitées.

| Chenilles | Non traitées | Traitées à l'huile d'eucalyptus | Traitées à l'huile de Basilic |
|-----------------------|--------------|---------------------------------|-------------------------------|
| R1 | 28 | 46 | 53 |
| R2 | 37 | 34 | 34 |
| R3 | 33 | 31 | 35 |
| R4 | 31 | 26 | 48 |
| Moyenne μL | 32 | 34,25 | 42,5 |
| Ecart type \pm | 4,16 | 8,5 | 9,47 |

R1, R2, R3, R4 : Répétitions du nombre total des cellules

Cette valeur augmente remarquablement pour atteindre les 34,25 cellule/ μL d'hémolymphe pendant le traitement des chenilles processionnaire du pin à l'huile de d'Eucalyptus et la valeur de 42,5 cellule/ μL d'hémolymphe durant le traitement des chenilles à l'huile de Basilic (**Fig. 45**).

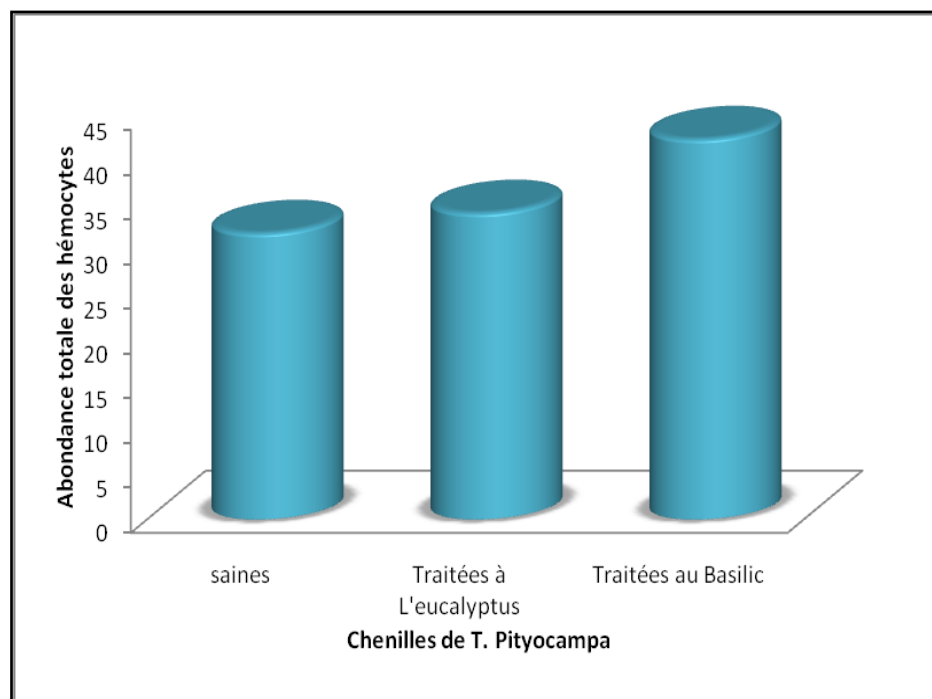


Figure 45. Nombre total des cellules hémocytaires chez les chenilles non traitées et celles traitées aux l'huiles d'Eucalyptus et de Basilic.

3-1-Etude de la variance entre le nombre total des cellules hémocytaires des chenilles non traitées et celui des chenilles traitées :

Les résultats exposés dans le tableau indiquent que l'analyse de la variance à un critère de classification des moyennes du nombre total des cellules hémocytaires des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* montrent des différences hautement significatives entre les chenilles non traitées et celles traitées aux l'huile d'Eucalyptus et de Basilic.

La valeur de F est égale à 2,01, la valeur de $p < 0.05$. Le coefficient R^2 a enregistré une valeur de 30,88% (Tab.34).

Tableau 34. Analyse de la variance à un critère de classification entre le nombre total des cellules chez les chenilles non traitées et celles traitées.

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value | R^2 |
|--------|----|--------|--------|---------|---------|---------|
| Factor | 2 | 236,2 | 118,08 | 2,01 | 0,190 | 30,88 % |
| Error | 9 | 528,5 | 58,72 | | | |
| Total | 11 | 764,7 | | | | |

SS : Somme des carrés – ADJ DF : Degré de liberté – ADJ MS : régression- F : Variance observée- P : Niveau de signification- R^2 : Coefficient de détermination

3-2-Etude et Comparaison du nombre moyen des cellules par type hémocytaire entre les chenilles non traitées et celles traitées :

3-2-1-Chez les larves non traitées :

Les granulocytes sont les cellules les plus abondantes dans l'hémolymphe des chenilles non traitées de *Thaumetopoea pityocampa* (Tab.35). Une estimation du nombre moyen des granulocytes est réalisée pour le comparer aux valeurs des chenilles traitées aux huiles, il enregistre une un nombre moyen égale à 21,75 cellules dans un 1 μ l d'hémolymphe (Fig.46).

Tableau 35. Nombre moyen des cellules par type hémocytaire chez les chenilles non traitées de *Thaumetopoea pityocampa*.

| Non traitées | Granulocytes | Plasmocytes | Oénocytes | Total |
|-------------------------|--------------|-------------|-----------|-------|
| Nombre Moyen en μ l | 21,75 | 9,5 | 1 | 32,25 |

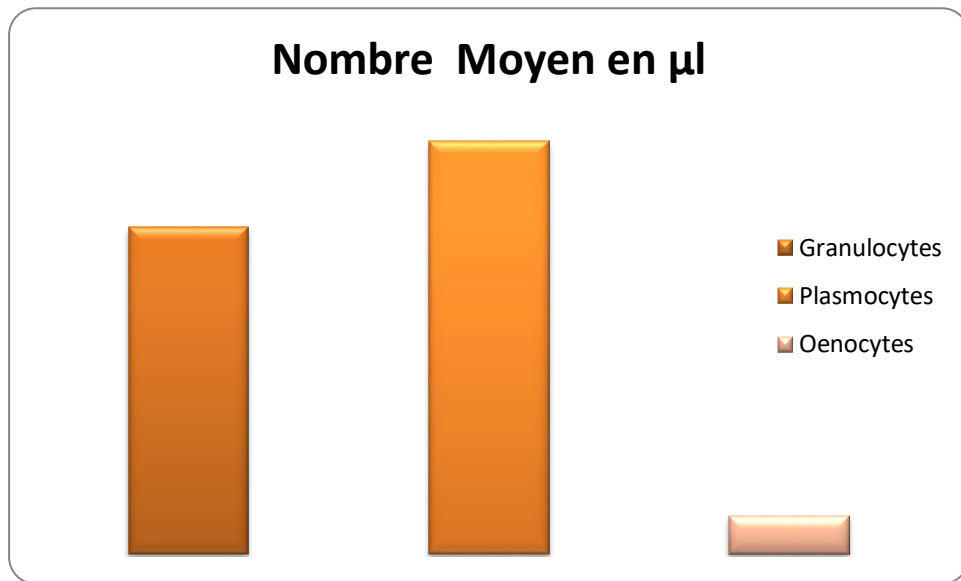


Figure 46. Nombre moyen des cellules par type hémocytaire chez les chenilles non traitées de *Thaumetopoea pityocampa*

3-2-2-Chez les larves traitées :

- Traitement à l'huile d'eucalyptus :

Les plasmocytes sont les cellules les plus abondantes chez les chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* traitées à l'huile d'Eucalyptus avec un nombre moyen de 19,5 cell / μl (**Tab.36**). Viennent ensuite les granulocytes avec une valeur de 14,25 cell / μl . Les Oenocytoides restent toujours les cellules les moins abondantes pendant le traitement à l'huile d'Eucalyptus (**Fig.47**)

Tableau36. Nombre moyen des cellules par type hémocytaire chez les larves de *Thaumetopoea pityocampa* traitées à l'huile d'Eucalyptys.

| Eucalyptus | Granulocytes | Plasmocytes | Oenocytes | Total |
|-------------------------------|--------------|-------------|-----------|-------|
| Nombre Moyen en μl | 14,25 | 19,5 | 0,5 | 34,25 |

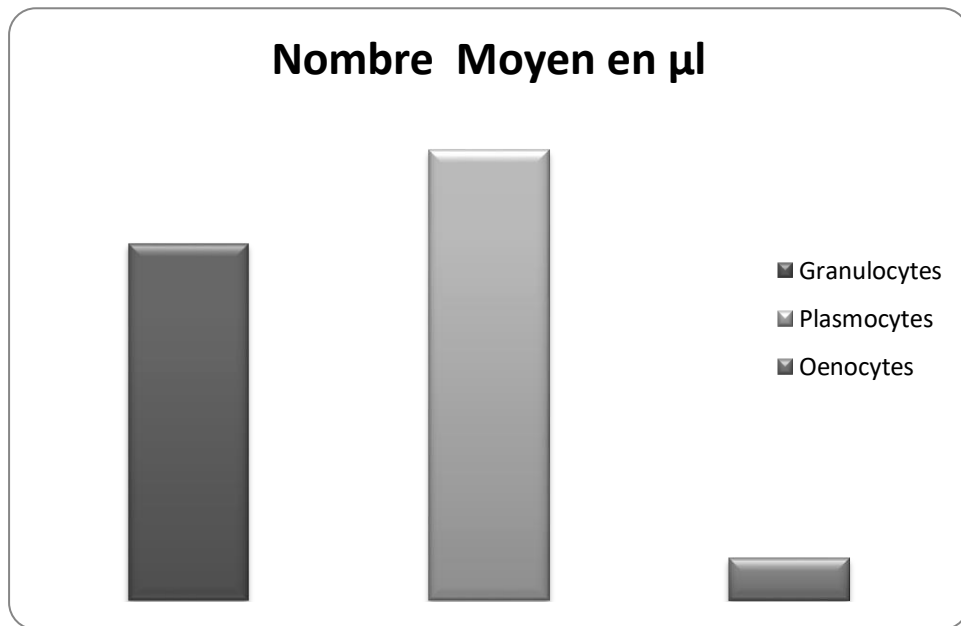


Figure 47. Nombre moyen des cellules par type hémocytaire chez les larves de *Thaumetopoea pityocampa* traitées à l'huile d'Eucalyptus.

- **Traitement par l'huile de basilic:**

Les plasmocytes et les granulocytes sont les cellules les plus observées durant le traitement des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* au basilic (**Tab.37**). Le nombre moyen des plasmocytes a également augmenté pour atteindre une valeur égale à 24 cell / μl . (**Tab.37**). Les Oenocytoides sont les cellules les moins abondantes avec une valeur de 2, 25 (**Fig.48**).

Tableau 37. Nombre moyen des cellules par type hémocytaire chez les larves de *Thaumetopoea pityocampa* traitées par l'huile de Basilic.

| Basilic | Granulocytes | Plasmocytes | Oenocytes | Total |
|-------------------------------|--------------|-------------|-----------|-------|
| Nombre Moyen en μl | 19 | 24 | 2,25 | 42,5 |

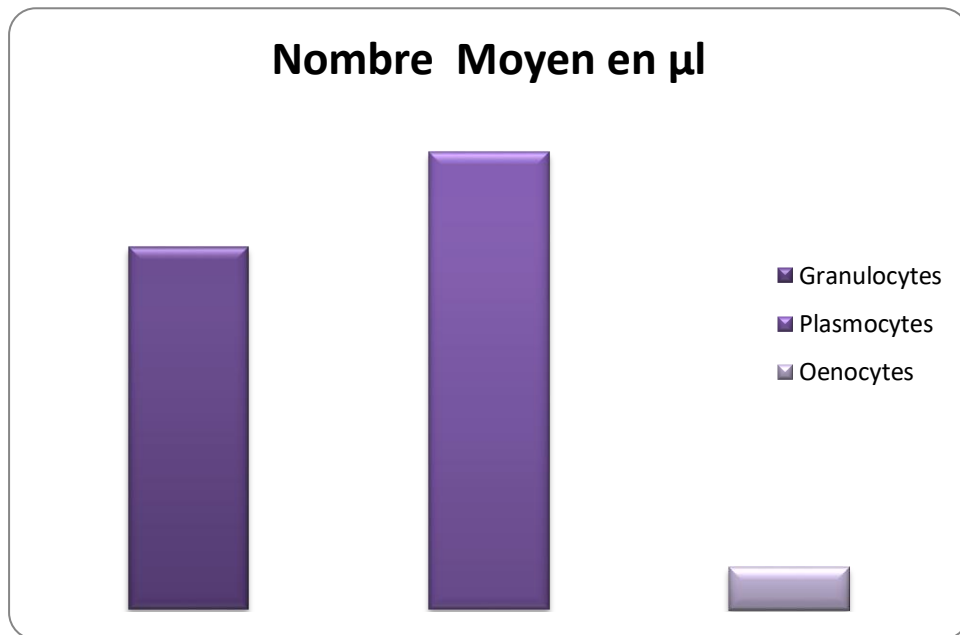


Figure 48. Nombre des cellules par type hémocytaire chez les larves de *Thaumetopoea pityocampa* traitées par l'huile de Basilic.

3-3-Etude de la variance du Nombre des cellules par type hémocytaire entre les chenilles non traitées et celles traitées :

- Chez les granulocytes :

Le nombre moyen des granulocytes est plus élevé chez les chenilles non traitées que chez celles traitées. Ce nombre atteint des valeurs moyennes égales à 14,25 cellules/ μl pour le traitement à l'eucalyptus et à 19 cellules / μl pour le traitement au Basilic (**Tab.38**)

Tableau 38. Comparaison du nombre moyen des granulocytes entre les chenilles non traitées de *Thaumetopoea pityocampa* et celle traitées.

| Chenilles | Non traitées | Traitées à l'huile d'eucalyptus | Traitées à l'huile de Basilic |
|-----------------------|--------------|---------------------------------|-------------------------------|
| R1 | 17 | 16 | 29 |
| R2 | 24 | 14 | 9 |
| R3 | 27 | 17 | 26 |
| R4 | 19 | 10 | 12 |
| Moyenne μL | 21,75 | 14,25 | 19 |
| Ecart type \pm | 4,57 | 3,09 | 9,967 |

R1, R2, R3, R4 : Répétition pour le nombre total des cellules.

Les résultats du traitement statistique des données du nombre moyen des granulocytes dans l'hémolymphe des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* indiquent qu'il existe des différences très hautement significatives entre les chenilles non traitées et celles traitées à l'huile d'eucalyptus et de basilic. La valeur de F est égale à 1,33, la valeur de $p < 0.05$. Le coefficient R^2 a enregistré une valeur de 60,57 % (**Tab.39**).

Tableau 39. Analyse de la variance à un critère de classification du nombre moyen des Granulocytes chez les chenilles non traitées de *Thaumetopoea pityocampa* et celles traitées.

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value | R ² |
|--------|----|--------|--------|---------|---------|----------------|
| Factor | 2 | 115,2 | 57,58 | 1,33 | 0,312 | 60,57 % |
| Error | 9 | 389,5 | 43,28 | | | |
| Total | 11 | 504,7 | | | | |

SS : Somme des carrés – ADJ DF : Degré de liberté – ADJ MS : régression- F : Variance observée- P : Niveau de signification- R² : Coefficient de détermination.

- **Chez les plasmocytes :**

Contrairement aux granulocytes, le nombre moyen des plasmocytes est plus élevé chez les chenilles traitées. Ces cellules enregistrent la moyenne la plus élevée pendant le traitement des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* au Basilic avec une valeur égale à 24 cellule/ μL d'hémolymphe (**Tab. 40**).

Tableau 40. Comparaison de nombre moyen des Plasmocytes entre les chenilles non traitées de *Thaumetopoea pityocampa* et celles traitées.

| Chenilles | Non traitées | Traitées à l'huile d'eucalyptus | Traitées à l'huile de Basilic |
|-----------------------|--------------|---------------------------------|-------------------------------|
| R1 | 10 | 28 | 20 |
| R2 | 11 | 20 | 23 |
| R3 | 6 | 14 | 19 |
| R4 | 11 | 16 | 34 |
| Moyenne μL | 9,5 | 19,5 | 24 |
| Ecart type \pm | 2,38 | 6,19 | 6,88 |

R1, R2, R3, R4 : Répétition pour le nombre total des cellules.

Les données du nombre des plasmocytes ont fait ensuite l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification. Ces données révèlent des différences hautement significatives entre les chenilles non traitées et celles traitées à l'huile d'eucalyptus et de basilic. La valeur de F est égale à 7,24, la valeur de $p < 0.05$. Le coefficient R^2 enregistre une valeur de 61,66% (**Tab.41**).

Tableau 41. Analyse de la variance à un critère de classification du nombre moyen des plasmocytes chez les chenilles non traitées et celles traitées.

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value | R^2 |
|--------|----|--------|--------|---------|---------|--------|
| Factor | 2 | 440,7 | 220,33 | 7,24 | 0,013 | 61,66% |
| Error | 9 | 274,0 | 30,44 | | | |
| Total | 11 | 714,7 | | | | |

SS : Somme des carrés – ADJ DF : Degré de liberté – ADJ MS : régression- F : Variance observée- P : Niveau de signification- R^2 : Coefficient de détermination

- Chez les Oenocytoides

Le tableau 41 montre que les Oenocytoides sont les cellules les moins abondantes dans l'hémolymphe de la chenille processionnaire du pin. La valeur la plus importante des Oenocytoides est enregistré chez les larves traitées au basilic, avec un nombre moyen égale à 2,25 cellules / μL d'hémolymphe.

Tableau 42. Comparaison du nombre moyen des Oenocytoides entre les chenilles non traitées de *Thaumetopoea pityocampa* et celle traitées.

| Chenilles | Non traitées | Traitées à l'huile d'eucalyptus | Traitées à l'huile de Basilic |
|-----------------------|--------------|---------------------------------|-------------------------------|
| R1 | 1 | 2 | 4 |
| R2 | 2 | 0 | 2 |
| R3 | 0 | 0 | 1 |
| R4 | 1 | 0 | 2 |
| Moyenne μL | 1 | 0,5 | 2,25 |
| Ecart type \pm | 0,82 | 1 | 1,26 |

R1, R2, R3, R4 : Répétition pour le nombre total des cellules.

L'analyse de la variance à un critère de classification pour le nombre moyen des Oenocytoides dans l'hémolymphe des chenilles processionnaires du pin indique des

différences hautement significatives entre les chenilles non traitées et celles traitées à l'huile d'eucalyptus et de basilic. La valeur de F est égale a 3, la valeur de $p < 0.05$, le coefficient R^2 a enregistré une valeur de 40% (**Tab.43**).

Tableau 43. Analyse de la variance à un critère de classification du nombre moyen des Oenocytoides entre les chenilles non traitées de *Thaumetopoea pityocampa* et celles traitées.

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-Value | R^2 |
|--------|----|--------|--------|---------|---------|-------|
| Factor | 2 | 6,500 | 3,250 | 3,00 | 0,100 | 40% |
| Error | 9 | 9,750 | 1,083 | | | |
| Total | 11 | 16,250 | | | | |

SS : Somme des carrés – ADJ DF : Degré de liberté – ADJ MS : régression- F : Variance observée- P : Niveau de signification- R^2 : Coefficient de détermination

3-4-Comparaison entre les différentes formes de réactions immunitaires entre les chenilles traitées et celles non traitées :

Le nombre total des cellules hémycytaires dans l'hémolymphe des chenilles processionnaire du pin est plus important chez les larves traitées aux huiles essentielles que celui enregistré chez les chenilles non traitées. Les différentes hémycytes cellulaires identifiés chez l'insecte, ont enregistrées des valeurs variables entre les larves traitées (34,25 cellule/ μ l pour le traitement à l'huile d'Eucalyptus et 42,5 cellule/ μ l pour le traitement à l'huile de Basilic) et celles contrôlées (32,25 cellule/ μ l).

Le traitement toxicologique des chenilles de la processionnaire du pin à l'huile de basilic a enregistré un nombre total (42,5 cellule/ μ l) et par type hémycytaire (Granulocytes= 19 cellule/ μ l, Plasmocytes= 24 cellule/ μ l, Oenocytes= 2,5 cellule/ μ l) les plus élevés chez les larves de la chenille processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa*.

La lutte toxicologique a endommagé plusieurs cellules hémycytaires, ce qui a augmenté la masse des débris cellulaires pendant le traitement.

Nous avons également détecté plus de forme de phagocytose et de nodulation chez les chenilles traitées. Les observations microscopiques ont indiqué la présence de

nombreuses formes parasitaires et de nombreuses réactions immunitaires pour les contrôler.

4-Comportement alimentaire de la chenille processionnaire :

Les tests d'attractivités chimiques des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* par les différentes espèces de pin, sont réalisés dans un olfactomètre pour évaluation du comportement alimentaire des chenilles. Au début de chaque test, la chenille est déposée à la zone de départ en enceinte close (**Fig.49**). Le temps que mettent les chenilles pour atteindre leur nourriture est estimé pour chaque plante utilisée et pendant chaque stade larvaire.

4-1-Attractivité chimique des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* vis-à-vis des différentes espèces testées :

Les tests d'attractivités chimiques des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* par les différentes espèces de pin, ont enregistré des valeurs variables en fonction de la plante utilisée et les stades de développement larvaire des chenilles (**Fig.50**).

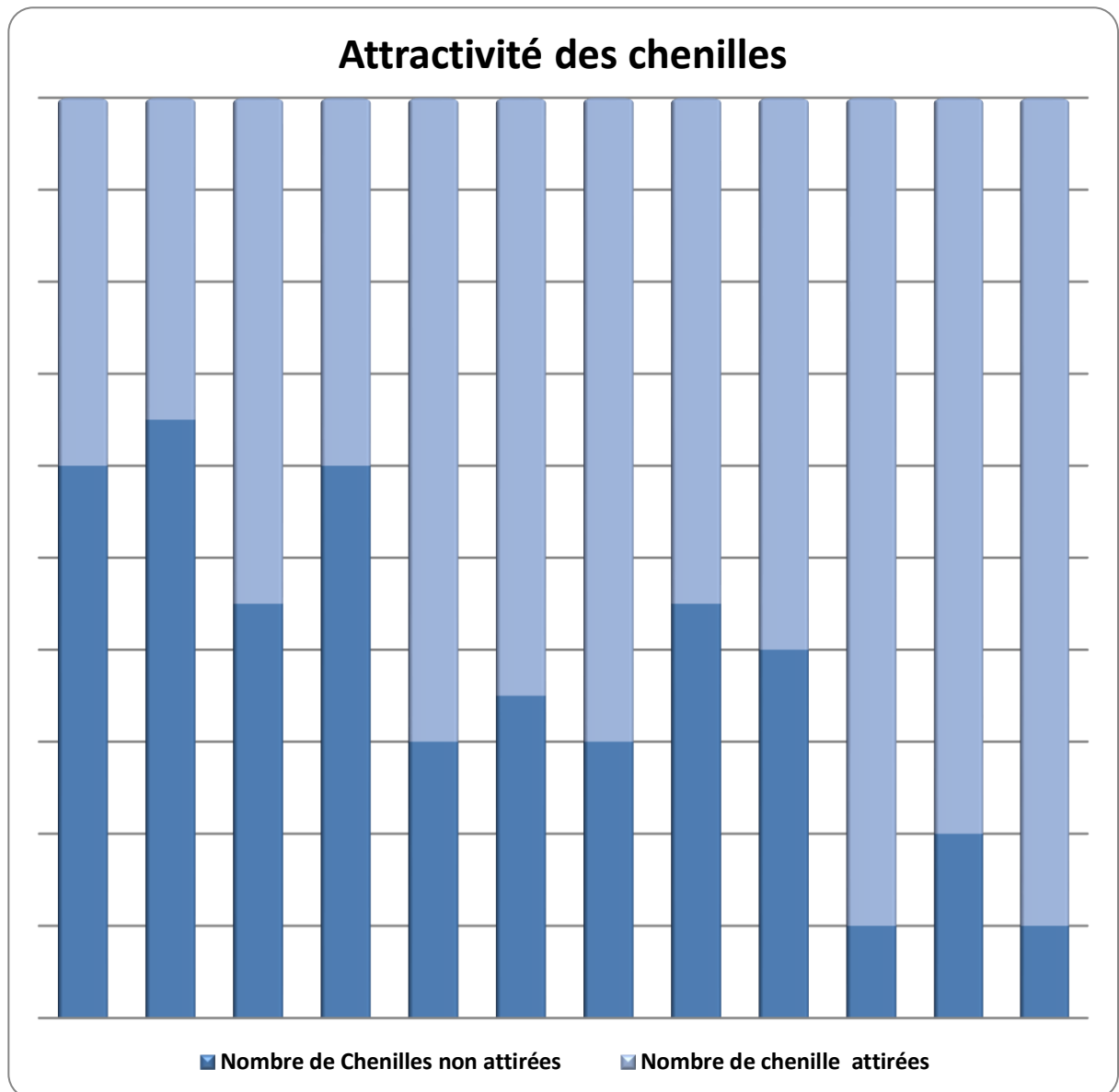


Figure 49. Attractivité chimique des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* des différents stades larvaires pour les différentes espèces utilisées.

A partir de la figure (49), on observe que plus de la moitié des larves du 3^{ème} stade larvaire, sont attirées significativement par les différentes espèces (L3=46% pour le pin d'Alep, 64% pour le pin maritime et 57% pour le cèdre). Cette attractivité augmente le long du développement larvaire pour enregistrer des valeurs égales à 66% pour le pin d'Alep, 53% pour le pin Maritime et 59% pour le cèdre. En effet, les résultats indiquent que ces dernières augmentent encore pour atteindre presque les

90 % de la population testé au dernier stade larvaire (L5=90% pour le pin d'Alep, 82% pour le pin maritime et 85% pour le cèdre) (**Tab.44**).

Tableau 44. Moyenne des chenilles attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées pendant les différents stades de développement larvaire de la chenille.

| Stade larvaire | Espèce utilisée | Nombre de chenille non attirées | Nombre de chenilles attirées. |
|------------------|------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| 2 ^{ème} | Pin d'Alep | 12 | 8 |
| | Pin Maritime | 13 | 7 |
| | Cèdre de L'atlas | 9 | 11 |
| 3 ^{ème} | Pin d'Alep | 12 | 8 |
| | Pin Maritime | 6 | 14 |
| | Cèdre de L'atlas | 7 | 13 |
| 4 ^{ème} | Pin d'Alep | 6 | 14 |
| | Pin Maritime | 9 | 11 |
| | Cèdre de L'atlas | 8 | 12 |
| 5 ^{ème} | Pin d'Alep | 2 | 18 |
| | Pin Maritime | 4 | 16 |
| | Cèdre de L'atlas | 2 | 18 |

4-2-Étude de l'attractivité des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* par les différentes espèces utilisées durant les différents stades larvaires :

Nous remarquons que quelque soit l'espèce de pin ou de cèdre utilisée durant l'étude, l'attractivité augmente d'un stade larvaire à l'autre. Ce qui indique l'augmentation de leur appétit le long des stades larvaires (**Tab.43**).

4-2-1-Attractivité par stade larvaire :

-En L2 :

En ce qui concerne la préférence entre les différentes espèces, les larves de la chenille processionnaire du pin du 2^{ème} stade sont attirées significativement par les différentes espèces de pin (**Tab.45**).

Tableau 45. Pourcentage des larves du 2^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées.

| Stade 2 Espèces | moyenne attirée | Attirées | non attirés |
|--------------------|-----------------|----------|-------------|
| ALEP | 1803 secondes | 43% | 57% |
| Maritime | 757 secondes | 36% | 64% |
| Cèdre | 1493 secondes | 55% | 45% |

Plus de la moitié de la population est attirée par le cèdre, dont les chenilles mettent environ 1493 secondes en moyenne pour le détecter et entre 30% et 40% par les différentes espèces de pin dont elles mettent plus de temps pour les atteindre (environ 1803 secondes pour l'odeur de pin d'Alep) (**Fig.50**).

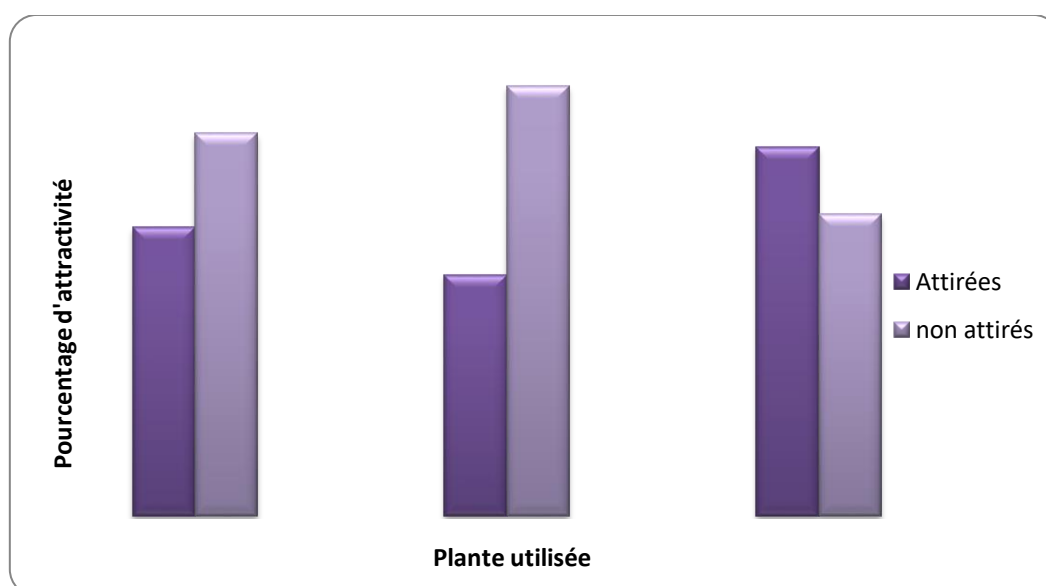


Figure 50. Taux des chenilles du 2^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées

-En L3 :

Au 3^{ème} stade larvaire, les chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* sont attirées significativement par les différentes espèces de pin (**Tab.46**). La moitié de la population est attirée par le pin d'Alep (46%) et par le cèdre (57%). Le pin maritime attire 65% de la population de la chenille processionnaire (**Fig.51**).

Tableau 46. Pourcentage des larves du 3^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées :

| Stade 2 Espèces | moyenne attirée | Attirées | non attirés |
|--------------------|-----------------|----------|-------------|
| ALEP | 1218 Seconde | 46% | 54% |
| Maritime | 986 secondes | 64% | 36% |
| Cèdre | 941 Secondes | 57% | 43% |

Les chenilles mettent plus de temps pour détecter l'odeur des variétés de pin (1218 Secondes pour le pin d'Alep et 986 secondes pour le pin Maritime) que pour détecter l'odeur du cèdre (seulement 941 Secondes).

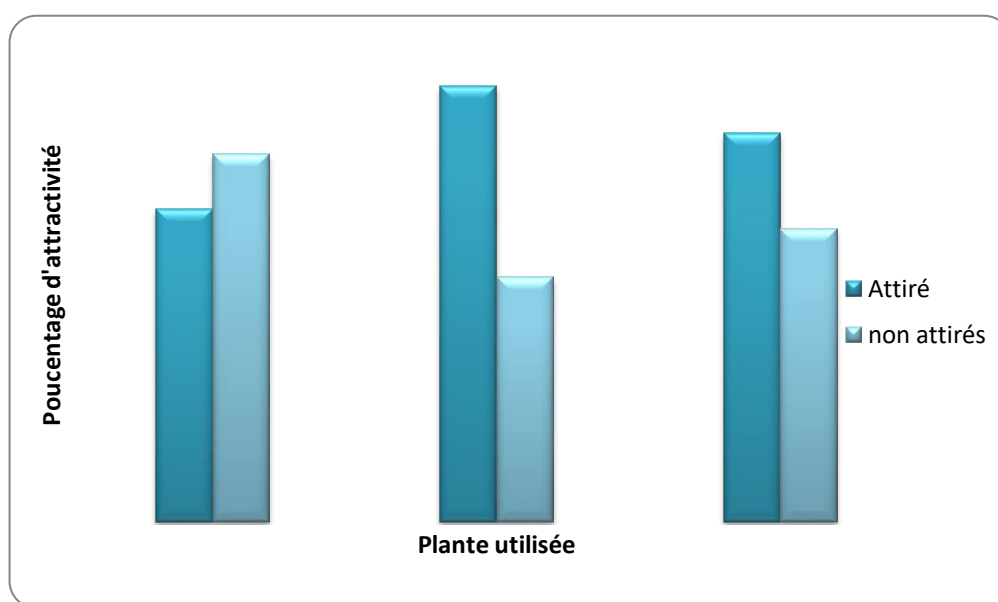


Figure 51. Taux des chenilles du 3^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées

-En L4 :

Les résultats sur le tableau (47) indiquent un pourcentage d'attractivité égal à 66% de la population par le pin d'Alep, avec une durée moyenne d'attractivité égale à 1206 Secondes.

Tableau 47. Pourcentage des chenilles du 4^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées

| Stade 2 Espèces | moyenne attirée | Attirées | non attirés |
|--------------------|-----------------|----------|-------------|
| ALEP | 1206 Seconde | 66% | 34% |
| Maritime | 1046 secondes | 53% | 47% |
| Cèdre | 970 secondes | 59% | 41% |

Environ 53% des chenilles sont attirées par le pin Maritime dont les larves mettent environ 1046 secondes pour détecter l'odeur et 59% attirées par le cèdre dont les chenilles mettent moins de temps pour atteindre ses aiguilles avec un temps égale à 970 secondes (**Fig.52**).

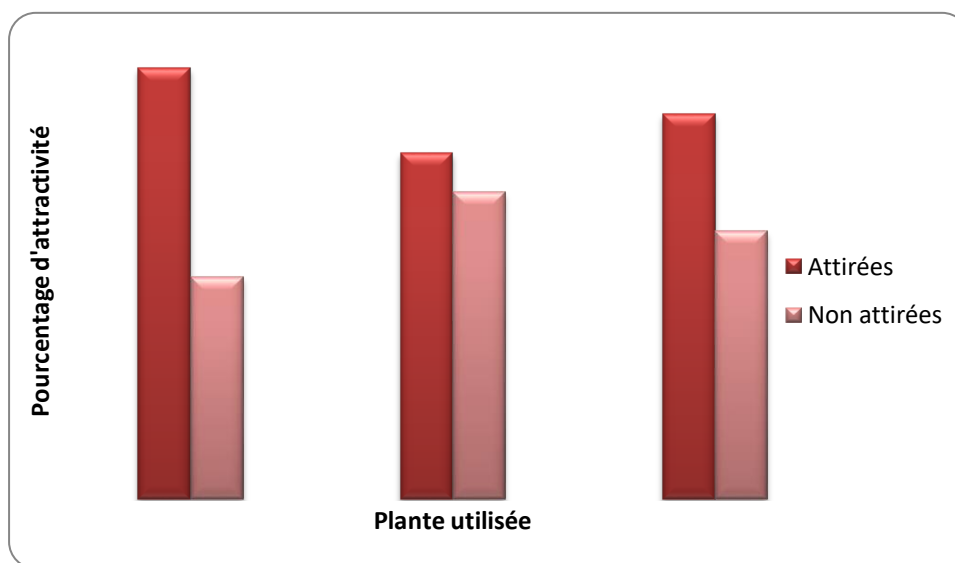


Figure 52. Taux des chenilles du 4^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées.

-En L5 :

Au dernier stade larvaire, les chenilles de *Thaumetopea pityocampa* sont attirées significativement par les différentes espèces, presque toute la population testée est attirée par l'odeur des aiguilles du pin d'Alep, du pin Maritime et du cèdre (90%, 82% et 85%) (Tab.48).

Tableau 48. Pourcentage des chenilles du 5^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées

| Stade 2 Espèces | moyenne attirée | Attirées | non attirés |
|--------------------|-----------------|----------|-------------|
| ALEP | 334 Seconde | 90% | 10% |
| Maritime | 764 secondes | 82% | 18% |
| Cèdre | 441 Secondes | 85% | 15% |

En L5, les chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* mettent moins de temps pour détecter l'odeur du pin d'Alep avec un temps égal à 334 secondes et le cèdre avec une valeur d'attractivité égale à 441 secondes (Fig.53).

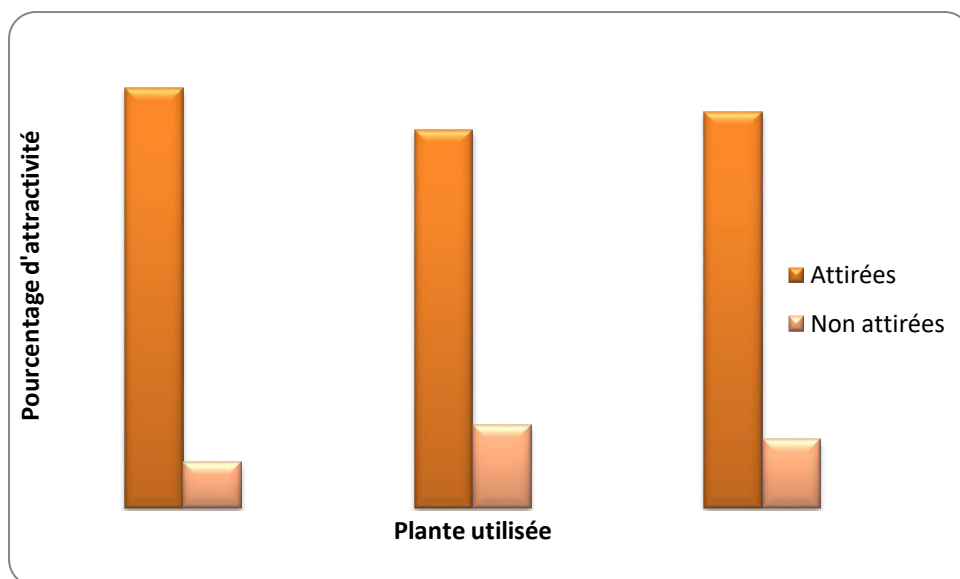


Figure 53. Taux des chenilles du 5^{ème} stade larvaire attirées et non attirées par les différentes espèces utilisées

V- DISCUSSION

1- Identification et nombre des cellules hémocytaires de *Thaumetopoea pityocampa* :

Chez les insectes, la résistance immunitaire aux maladies et aux infections se caractérise par différentes réactions adaptatives telles que: la phagocytose, l'encapsulation, la mélanisation et la coagulation (Schmid 2005). Ces réactions se réalisent par des éléments immunitaires principaux appelés « hémocytes ». Ces dernières sont responsables de l'élimination des particules biotiques, telles que les bactéries ainsi que les éléments abiotiques, comme les parasites synthétiques (Lavine et Strand 2002., Rolffand et Siva-Jothy 2003).

Nous nous sommes intéressés dans notre présent travail à l'étude du système immunitaire de *Thaumetopoea pityocampa*. Une identification de toute la formule hémocytaire des chenilles de différents stades larvaires a été réalisée, en évaluant principalement les différents processus des réactions immunitaires, ainsi que la participation des cellules hémocytaires dans leur réalisation. La réponse immunitaire se réalise par les hémocytes de l'insecte en plusieurs formes de communications immunitaires entre les cellules et l'élément à éliminer qu'il soit une bactérie, un nématode, ou un élément étranger afin de le neutraliser.

L'étude microscopique de l'hémolymphe extrait des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* du 2^{ème} au 4^{ème} stade larvaire, est évalué sur un microscope optique, puis sur un microscope à fluorescence. Les observations successives ont indiqué la présence de plusieurs types de cellules hémocytaires, les plus importantes et celles qui sont repérées dès le premier âge de l'insecte sont, les prohemocytes, les plasmocytes, les granulocytes et les Oenocytoides.

Cela est également confirmé par Ghoneim et *al.*,(2015), où les auteurs ont pu identifiés cinq types hémocytaires dans l'hémolymphe des larves du dernier stade du ver du cotonnier (*Spodoptera littoralis*), à savoir les prohéocytes, les plasmocytes, les granulocytes, les sphérulocytes et les oenocytoides. L'insecte lépidoptère, est un papillon nocturne caractérisé par la présence de plusieurs types cellulaires à différent pourcentage en 6^{ème} stade larvaire.

Cela est aussi observé dans les travaux d'Arnold et Hinks en (1976). En effet, les auteurs ont procédé à une coloration des frottis issus du prélèvement de l'hémolymphe des chenilles du dernier stade de la dard claire (*Euxoa declarata*, *Lepidoptera: Noctuidae*). Après une division cellulaire, composée principalement d'une méiose et d'une mitose, l'observation au microscope optique a permis l'identification de quatre types cellulaires : Les prohemocytes, les plasmocytes, les granulocytes et les oenocytoides. La forme et la dimension de chaque type cellulaire était différente avant et après la phase de division cellulaire.

Chez les chenilles de *Thaumetopoea pityocampa*, le nombre total des hémocytes est variable d'un stade à l'autre. L'étude quantitative par lame de comptage, nous permet d'estimer le nombre total des cellules hémocytaires pour chaque stade larvaire, et celui de chaque type cellulaire identifié. Au 2^{ème} stade, le nombre total des cellules hémocytaires est représenté par 75×10^2 cellule/ml. Ce nombre a augmenté au 3^{ème} stade pour atteindre 85×10^3 cellule/ml d'hémolymphe. Au 4^{ème} larvaire, la formule hémocyttaire chez les larves atteint son âge de maturation, avec une moyenne égale à 21×10^4 cellule/ml.

Le nombre des cellules hémocytaires chez les chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* est donc fonction du stade larvaire à partir duquel l'hémolymphe est récupéré, cela est également confirmé chez les larves de *Bombix mori*, où une différence remarquable est observée entre l'hémolymphe des chenilles des stades larvaires précoces et celui des stades avancés (Yamashita et Iwabuchi, 2001).

Nos résultats ont indiqué que les prohemocytes sont les cellules les plus abondantes au 2^{ème} stade larvaire de la chenille processionnaire du pin. Elles sont reconnues par leur petite forme ronde et ne représentaient que 8% des cellules observées. Pendant les stades larvaires les plus développés (3^{ème} et 4^{ème} stades larvaires), ce sont les granulocytes qui présentent la plus grande masse cellulaire de l'hémolymphe comparé avec les plasmocytes et les prohemocytes, dont le nombre diminue remarquablement. Ce qui révèle la possibilité de leur transformation en granulocytes et en plasmocytes. Les prohemocytes observés et repérés chez des larves des premiers stades sont transformés en plasmocytes et granulocytes pendant les stades les plus avancés. Une étude similaire sur la même espèce montre qu'environ

40% des prohemocytes de l'hémolymphe de l'insecte se sont différenciés en plasmocytes, ces cellules jeunes ont une grande importance en raison de leur rôle autant que cellules souches, participant à la formation de la plupart des autres types hématocytaires (Chapman 1998).

Cela est confirmé pour la majorité des insectes lépidoptères où les granulocytes et les plasmocytes sont les cellules hématocytaires capables d'adhérer à des surfaces étrangères, et ensemble, ils forment généralement plus de 50% des formes hématocytaires (Ratcliffe 1993., Strand et Pech 1995).

Contrairement à nos résultats, une étude immunitaire qui met en évidence, l'abondance d'*Aedes Aegypti* a montré que ce sont les prohemocytes qui représentent la forme cellulaire la plus abondante durant tous les stades larvaires (Araujo et al., 2008). Giglio et al., en (2008) ont également montré que la majorité des cellules homocytaires des tissus hématopoïétiques chez les adultes et les larves de *Carabus Lefebvre* est représenté par les plasmocytes.

Les granulocytes, qui représentent les cellules les plus abondantes dans l'hémolymphe des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa*, sont présents avec une forme ronde pourvue de granules intenses de couleur brillante, dont le nombre varie selon la maturité de la cellule : plus la cellule est mature, plus le nombre de granules augmente dans le cytoplasme cellulaire des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa*.

Nos résultats concordent parfaitement avec les travaux de Beetz et al., 2004, qui ont montré que les granulocytes présentent une coloration plus intense pendant les derniers stades larvaires de *Manduca sexta*. Cela est également observées par Ghoneim et al.,(2015), qui indiquent une présence importante des granulocytes dans l'hémolymphe des chenilles du dernier stade larvaire du ver de cotonnier *Spodoptera littoralis* . D'après leurs résultats, les granulocytes détectés chez l'insecte sont des formes cellulaires sphériques, ou ovales contenant un nombre énorme de granules acidophiliques. Certains auteurs affirment le rôle des granulocytes dans le renouvellement tissulaire, pour la métamorphose, ou dans les différentes réactions immunitaires telles que la phagocytose et l'encapsulation cellulaire (Rheuben 1992., Kiger et al., 2001., Nardi et al., 2001., Nardi et al.,2003).

En ce qui concerne les plasmocytes. Elles sont reconnaissables dans l'hémolymphe des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* du dernier stade larvaire

par leur forme allongée et leurs pseudopodes utilisés dans la plupart des réactions immunitaires pour la phagocytose hémocytaire. Ces cellules représentent environ 20% de toutes les cellules observées chez l'insecte.

Ce résultat est montré dans les travaux de Ghoneim et *al.*, (2015), qui révèlent une forme de fuseau, ovale ou sphérique des plasmocytes chez les chenilles du ver de cotonnier (*Spodoptera littoralis*), où elles représentent environ 40% du volume cellulaire de l'insecte lépidoptère. Les auteurs ont précisé dans leur recherche que la plupart des plasmocytes observée dans l'hémolymphe de l'insecte sont représenté par des formes cellulaires denses à noyaux pâles avec des granules de chromatine ponctuée.

En comparaison avec les travaux de Evans et *al.*, en (2003), qui ont montré que les plasmocytes peuvent être semblables aux macrophages chez les larves des drosophiles. D'après les auteurs, ces cellules sont identifiées pendant leur participation à l'élimination des cellules apoptotiques, durant l'ingestion cellulaire ou en moment d'encapsulation des intrus.

Les Oenocytoides sont observées seulement pendant le 4^{ème} stade larvaire de *Thaumetopoea pityocampa*, Cela peut être dû à leur membrane cellulaire fine qui ne leur permet pas une bonne résistance pendant les infections et les premiers stades larvaires. Leur rôle dans le système immunitaire de l'insecte peut également être limité à leur fonction en tant que cellules sécrétrices des enzymes de développement et de mue pendant les stades avancés.

Ce phénomène est également observé chez les larves des arthropodes comme l'abeille (*Melipona scutellaris*), chez les diptères comme les moustiques vecteurs de maladies transmissibles à savoir *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* ou *Armigeres subalbatus* (Hillyer et Christensen, 2002; Hillyer *et al.*, 2003; Brayner *et al.*, 2005).

Beetz en 2002 a interprété la réduction des Oenocytoides dans le dernier stade larvaire de *Manduca sexta* par la production d'hormone 20-hydroxyecdysone, qui stimule la synthèse des protéines impliquées dans la métamorphose, ce qui est d'après l'auteur, la cause de l'inhibition la division cellulaire des Oenocytoides.

Chez les larves de *Thaumetopoea pityocampa*, les phénomènes d'encapsulations humorales, et cellulaires n'ont été observés que pendant les stades larvaires avancés de

la chenille. Des débris cellulaires représentés par des fragments des membranes des cellules hémocytaires détruites sont observés après quelque jour de l'échantillonnage en forme d'encapsulation humorale. Plusieurs formes de ces débris cellulaires regroupés sont repérées dans l'hémolymphe de *Thaumetopoea pityocampa*. Ensuite, un nombre important des cellules hémocytaires sont identifiées en agrégation pendant les différentes réactions immunitaires et sont repérées de manière créative dans l'hémolymphe des chenilles. Les hémocytes conservent leur capacité à réagir et à encapsuler soit des microbilles synthétiques, soit des nématodes vivants en forme d'encapsulation cellulaire.

La réaction d'encapsulation par ces deux aspects humorale et cellulaire est également mentionnée par Ratcliffe *et al.*, (1984) dans leur recherche sur *mellonella galleria*. En effet, ils ont déterminé que lors d'une infection immunitaire, les particules des débris cellulaires entourent le corps étranger et le cerne par une forme d'agrégation des membranes des cellules hémocytaires détruites et circulaires dans l'hémolymphe, en forme d'encapsulation humoral. Ratcliffe *et al.*, (1984), ont également montré qu'après quelque heures de l'encapsulation humorale, un ensemble des cellules hémocytaires de l'insecte s'agrègent autour de l'élément étranger et participent à l'éliminer sous forme d'encapsulation cellulaire.

Cheng (1981) a démontré que ces fibrocytes sont des granulocytes morphologiquement altérés dans les dernières étapes du processus d'encapsulation. Chez d'autres invertébrés, tels que les blattes, *Blattella germanica*, et le papillon, *Manduca sexta*, l'encapsulation est également obtenue par les granulocytes (Han et Gupta 1989., Ling et Yu 2006).

Lorsque des bactéries et des nématodes sont ajoutés, de nombreuses formes de cellules et débris s'accumulent et entourent les particules étrangères pour réagir contre le parasite. Les réactions immunitaires de l'encapsulation humorale et cellulaire et l'intervention des différentes cellules afin de les contrôler, sont multiples en présence des parasites.

Après quelques heures de l'encapsulation humorale, les différents types de cellules participent à réaliser des formes de phagocytose. Les granulocytes et les plasmocytes participent à la formation des capsules, des nodules et des mélanines dans l'hémolymphe des chenilles.

Cela est aussi observé chez les larves des mollusques, où toutes les hémocytes participent à la réalisation de la phagocytose des différentes particules, telles que les bactéries, les parasites, les protozoaires ou les nématodes présents dans l'hémolymphe de *Crassostrea virginica* (Paillard *et al.*, 1996., Nakayama *et al.*, 1997).

La phagocytose est souvent accompagnée par la mélanisation, en effet chaque phagosome intercellulaire contient une ou deux formes de levures, ces formes semblent aider les cellules hémocytaires à maîtriser la réaction immunitaire et à éliminer l'intrus.

Chez les larves de quelques lépidoptères, les hémoglobines sont les plus abondantes (Strand 2008). Les Hémocytes incubés *in vitro* dans un milieu pourvu de bactérie, forment des nodules et des capsules, en effet les hémocytes granulaires se lient rapidement aux cellules cibles et se dégranulent : les plasmocytes coopèrent ensuite pour former une gaine, suggérant un processus d'encapsulation cellulaire.

Toute réaction immunitaire se réalise par l'agrégation des hémocytes, ces réactions se produisent *in vitro* lorsque les hémocytes sont placés en contact avec des corps étrangers, ou en cas d'agitation mécanique (Kubo *et al.*, 1984., Lackie 1988., Nardi *et al.*, 2006). Plusieurs cellules hémocytaires selon leurs fonctions, participent à éliminer ces particules à travers la formation des nodules, des phagosomes ou des mélanines selon la nature de l'espèce et le taux d'infestation (Ratcliffe et Walters 1983., Kavanagh et Reeves 2004., Mavrouli *et al.*, 2005., Sediri *et al.*, 2008., Garcia 2010). Brehélin *et al.*, (1975) ont déclaré dans une étude de l'encapsulation des corps étrangers implantés dans *L. migratoria* et *M. Hanneton*, que les hémocytes granulaires sont incapables de réaliser la phagocytose et la coagulation, en effet et d'après leur résultats, la majorité des cellules globulaires peuvent participer au processus de phagocytose.

Brehélin *et al.*, (1978), Ratcliffe et Rowley (1979) ont indiqué que les plasmocytes sont les cellules les plus impliquées dans la phagocytose chez les insectes. Chez *M. unipuncta* par exemple, les plasmocytes présentent des capacités phagocytaires réduites par rapport à d'autres cellules hémocytaires (Ribeiro *et al.*, 1996).

Les hémocytes des mollusques sont connus pour participer à la phagocytose des particules étrangères tels que les bactéries (Paillard *et al.*, 1996), les protozoaires

(Balouet *et al.*, 1983), les latex (Nakayama *et al.*, 1997). Ceci est également observé chez d'autres espèces de bivalves, telles que *Ruditapes decussata* et *P. perna* (Lopez *et al.*, 1997., Barracco *et al.*, 1999). Le rôle des granulocytes dans le système immunitaire de *S. glommerata* peut ne pas être limité à la phagocytose. Il a été indiqué que les granulocytes sont les cellules les plus impliqués dans les réactions d'encapsulation. Ce processus est souvent utilisé par les invertébrés et les mollusques, pour éliminer les agents pathogènes de grande dimension par phagocytose à travers les différents hémocytes individuels (Cheng et Sullivan 1984).

Les plasmocytes sont les cellules principales impliquées dans le processus de la phagocytose chez *R. prolixus*, les changements ultrastructuraux observés dans ces cellules reflètent leur importance dans ce processus. D'autres études ont montré que les granulocytes et les plasmocytes sont responsables de plusieurs réponses immunitaires cellulaires chez de nombreuses larves d'insectes lépidoptères, comme *Galleria mellonella* (Tojo *et al.*, 2000) et *M. sexta* (Ling et Yu 2006). Chez certains insectes, tels que *Calpodes ethlius* (Gupta 1979 in Locke 1991), ce sont plutôt les cellules granulaires qui sont responsables de ces fonctions. La fonction des cellules hémocytaires dans les différentes réactions immunitaires n'est pas stable, des types cellulaires variables pourraient assurer la même fonction chez différents insectes ; La phagocytose par exemple est réalisée par les prohemocytes chez les larves de *B. mori* (Ling *et al.*, 2005) et par les Oenocytoïdes chez les larves de *Cetonischema aeruginosa* (Coleoptera, Scarabaeidae) (Giulianini *et al.*, 2003).

2- Étude toxicologique des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* :

L'application prolongée des insecticides chimiques et leur impact nocif dans l'environnement ont poussé les chercheurs à mettre en place de nouvelles stratégies dans le domaine de la lutte, et donc à la découverte de nouveaux produits insecticides naturels efficaces en termes de lutte contre les insectes ravageurs dans l'environnement.

L'utilisation des insecticides, réalisée à partir des plantes naturelles présente plusieurs avantages en comparaison avec l'utilisation des insecticides de nature chimique. Les insecticides naturels sont obtenus à partir des ressources renouvelables et rapidement dégradables. En effet la résistance habituellement développée par les insectes vis à vis des substances est un processus lent, sans oublier que leur effet sur la nature est neutre. Car ce sont des molécules biodégradables, et donc leur utilisation est

moins nocive pour l'environnement (Georgis et Gaugler 1991., Lambert 2010., Dibartolomels et *al.*, 2019).

Plusieurs substances d'origine végétale comme les extraits de plantes ou les huiles naturelles sont connus pour leur potentiel toxique et leur action répulsif de croissance, qui est due principalement à la présence de composés majeurs responsables de l'activité larvicide des insectes nuisibles (Coats 1994., Silva *et al.*, 2008., Tripathi *et al.*, 2009., Sendi et Ebadollahi 2013).

Les huiles essentielles extraites de plantes sont constitué d'un mélange complexe de constituants volatils variables d'une huile à l'autre pouvant présenter un large spectre pharmacologique et ayant des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires, antibactériennes, antivirales, insecticides et antioxydantes (Burt 2004., Bakkali *et al.*, 2008 et Alviano *et al.*, 2012).

Parmi ces composés on peut citer les isoterpénoïdes, les monotépenes et les sesquiterpènes qui représentent en totalité l'ensemble des métabolites secondaires, pouvant avoir une influence phytotoxique sur les espèces phytophages (Franzios *et al.*, 1997., Holopainen 2004).

Les huiles essentielles naturelles ont fait l'objet de plusieurs études toxicologiques, évaluant principalement le mécanisme d'action toxique des composants terpénoïdes, leur effet insecticide ainsi que le développement de leurs propriétés antimicrobiennes contre différentes espèces nuisibles, bactéries ou champignons (Enan 2001, Kalemba et Kunicha 2003).

Dans notre travail, nous avons évalué l'effet toxique de quelques huiles essentielles à savoir l'huile de cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*), l'huile de Basilic (*Ocimum basilicum*), l'huile d'Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) et l'huile de bois de Gaïac (*Bulnesia sarmienti*) sur la mortalité des larves de *Thaumetopoea pityocampa* pendant tous les stades larvaires.

Les résultats obtenus révèlent un effet insecticide différent d'une molécule à l'autre exprimé par des taux de mortalité variables selon la concentration de l'huile utilisée, et le stade larvaire traité. Les résultats révèlent également que l'activité larvicide est fonction de la durée du traitement, une augmentation de la mortalité est

observée au fur et à mesure du temps d'observation durant le traitement. Le taux de mortalité atteint les 100% dans la plupart des tests par les différentes huiles utilisées.

Les taux de mortalité par les huiles essentielles ont enregistré une diminution au fur à mesure du développement larvaire des chenilles. En grandissant les larves développent plus de résistance vis-à-vis des molécules toxiques.

La mortalité des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* par les différentes huiles essentielles est donc corrélée aux stades de développement larvaire, aux concentrations utilisés pour chaque molécule, ainsi qu'au temps d'exposition le long du traitement larvaire.

Ce résultat est confirmé par les explications apportées par Çetin *et al.*, en 2006, où l'étude toxicologique portant sur l'effet des deux huiles essentielles à savoir *Origanum onites* et *Citrus aurentinum* sur les larves de *Thaumetopoea wilkinsoni*. D'après les auteurs, le traitement a indiqué que les deux molécules utilisées présentent un bon effet larvicide sur les larves du quatrième et du cinquième stade de *T. wilkinsoni* à différentes concentrations

Les mêmes résultats sont également rapportés dans l'étude de Kanat et Alma (2003), portant sur l'effet de plusieurs huiles essentielles sur les larves du 4^{ème} et du 5^{ème} stade de *Thaumetopoea pityocampa*. Les auteurs ont noté que toutes les huiles essentielles ont une bonne activité insecticide, et celles qui sont les plus efficaces, sont l'huile de térébenthine, l'huile de thym, l'huile de genévrier, l'huile de laurier, l'huile de fleur de lavande, et l'huile d'eucalyptus. La sensibilité des larves de *Thaumetopoea pityocampa* augmente avec la concentration utilisée (25, 50, et 100%), et le temps d'exposition à l'insecticide.

Contrairement aux études toxicologiques des huiles essentielles sur les larves de *Thaumetopoea pityocampa* qui sont peu répondues, beaucoup d'études toxicologiques ont porté comme objectifs l'effet des extraits aqueux des plantes sur les larves de l'insecte. C'est le cas des travaux de Kesdek *et al.* (2014), qui évaluent dans leur expérimentation, l'effet de plusieurs extraits de plantes à savoir l'extrait d'*Achillea wilhelmsii*, de *meyeri Benth*, de *Satureja hortensis*, d'*Origanum onites*, de *rotundifolium Boiss* et de *Tanacetum argyrophyllum* sur les larves de *Thaumetopoea pityocampa* aux différents stades larvaires. Les auteurs attribuent un effet larvicide de tous les extraits utilisés à différents niveaux et avec toute concentration utilisée. La mortalité des larves le long des traitements est fonction du stade larvaire des chenilles, cela est déduit des

taux de mortalité enregistrés qui sont plus importants au niveau du L2 et qui diminuent au fur et à mesure qu'on avance dans les stades larvaires.

Cela est aussi confirmé par les travaux de Bachir *et al.*, en 2017. Les auteurs ont montré que les larves de *Thaumetopoea pityocampades* différents stades larvaires traitées aux extraits des feuilles de *Juniperus oxycedrus* et de *Juniperus phoenicea* à différentes concentrations ont présenté des taux de mortalité importantes ($56,2 \pm 0,38\%$ et $54,4 \pm 0,62\%$).

La sensibilité des chenilles vis-à-vis des extraits utilisés est corrélée à la concentration utilisée et à l'âge de la chenille, qui s'est traduit par un effet anti-appétissant pour toutes les chenilles traitées aux deux extraits.

Dans notre étude, l'efficacité des huiles essentielles utilisées sur les larves de *Thaumetopoea pityocampa* est différente d'une molécule à une autre. L'huile de basilic *Ocimum basilicum* est celle qui engendre le taux de mortalité le plus élevé (100% sur des L3 pour la concentration de 1g/L, après 6 à 7 jours d'exposition), mais également celle qui enregistre des concentrations relativement faibles (CL50 = 2,91 g/l après 24 h d'exposition). Suivie par l'huile de cèdre et l'huile d'Eucalyptus (*Cedrus atlantica* et *Eucalyptus globulus*) lesquelles ont engendré une mortalité qui a atteint plus de la moitié de la population testée (50% pour la concentration de 3g/l après 4 jours d'exposition), avec des concentrations létales également faibles (CL50 = 4,47g/l après 24 h d'exposition) et enfin l'huile de bois de Gaiac (*Bulnesia sarmienti*) avec une CL50 = 7,76 g/l après 24 h d'exposition.

Les résultats obtenus dans notre présente étude confirment les expérimentations menées par Phasomkusolsil et Soonwera en 2011, qui ont montré un effet larvicide important de L'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* vis-à-vis des larves d'*Aedes Aegypti*.

L'huile essentielle de cèdre de l'Atlas qui a aboutit à un taux de mortalité très important sur les larves de *Thaumetopoea pityocampa* est également cité dans les travaux de Makhaik *et al.* (2005) qui a évalué l'effet de *Cedrus deodara* sur des espèces de moustiques, à savoir *Aedes aegypti* et *Culex quinque fasciatus*. L'auteur a

enregistré des concentrations relatives de CL50 de 2,5% contre les larves de *Culex quinque fasciatus* après une heure d'exposition.

En ce qui concerne le cèdre du Japon (*Cryptomeria japonica*), son application contre *Aedes aegypti* et *Ae. Albopictusa* a révélé un excellent effet larvicide (Khani et Asghari 2012).

L'huile essentielle d'Eucalyptus a enregistré un effet larvicide moyen sur les larves de *Thaumetopoea pityocampa*, cela est également observé dans le travail de Kanat et Alama en (2003) où l'effet de l'huile naturelle extraite d'Eucalyptus a marqué un effet larvicide lent sur les larves de l'insecte (une mortalité moyenne égale à 1.05 par seconde avec la concentration la plus élevée C= 100%) comparé avec les autres molécules testées.

Les travaux de (Aouati 2016) ont testé l'effet de l'extrait d'*Eucalyptus globulus* sur les larves de *Culex pipiens*. Selon ses résultats l'effet insecticide de l'extrait a atteint seulement la moitié de la population à la fin du traitement, même avec la concentration la plus élevée.

D'autres huiles essentielles ont enregistré un effet larvicide important sur des insectes ravageurs, il a été déterminé que l'huile essentielle de *S. hortensis* avait des activités insecticides (fumigant, répulsif et toxicité par contact) sur *T. castaneum*, *E. kuehniella* et *P. interpunctella* (Maedeh *et al.*, 2011). Des travaux de Kordali *et al.*, (2012) ont montré que l'huile essentielle obtenue à partir de *Tanacetum argyrophyllum* a un effet insecticide important sur les adultes de *Sitophilus granarius*. Les huiles de citronnelle et de camphre sont également très efficaces sur les larves d'*Aspergillus niger*, et d'*Aspergillus flavus* (Mahilrajan *et al.*, 2014).

De nombreux métabolites secondaires d'origine végétale sont toxiques pour différentes espèces d'acariens (Choi *et al.*, 2004, Miresmailli *et al.*, 2006). Hussein *et al.*, 2006 ont prouvé que les extraits de *Capparis aegyptia* sont toxiques pour les acariens. C'est le cas aussi pour Miresmailli *et al.*, en 2006, qui ont rapporté l'activité acaricide de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.* sur plusieurs insectes ravageurs.

L'efficacité des huiles essentielles se résume dans le fait que ces molécules sont respectueuses de l'environnement, biodégradables, peu ou pas toxiques vis-à-vis des

mammifères et très efficaces contre les insectes ravageurs (Isman 2000., Abdel-Ghaffar et Semmler 2007., Williamson *et al.*, 2007).

En effet leur action rapide sur certains espèces nuisibles est le résultat d'un mode d'action neurotoxique (Enan, 2001., Isman, 2006). Grundy et Still (1985) ainsi que Ryan et Byrne (1988) ont rapporté que les huiles étaient des inhibiteurs compétitifs de l'acétylcholinestérase, tan disque Enan (2001), Kostyukovsky *et al.*,(2002) ont affirmé que l'activité de l'huile essentielle s'attaque au système octopaminergique des insectes.

3-Effet des huiles essentielles sur la formule hémocytaire de la chenille processionnaire du pin.

Les pesticides sont des molécules biologiques ou chimiques ayant la propriété d'induire des risques sur la santé des être humains comme sur les animaux. L'exposition à ses composés peut augmenter la possibilité d'affecter le système immunitaire, d'induire des perturbations du fonctionnement hormonal des êtres vivants, ou même d'engendrer des maladies chroniques comme le cancer, (Merhi 2008., Shafiq Ansari *et al.*, 2014., Stamati *et al.*, 2016).

Les huiles essentielles sont des molécules naturelles utilisées dans les cosmétiques, ainsi que dans la médecine traditionnelle pour le traitement d'un nombre croissant de pathologies plus ou moins spécifiques, ou utilisées dans plusieurs thérapies contre des maladies inflammatoires, ou des allergies (Federici *et al.*,2008). Les composés volatils de ces huiles peuvent à la fois avoir une activité cytotoxique bénéfique contre ces maladies (Edris 2007), et être utilisées comme des molécules biologiques naturelles toxiques, dans la lutte contre certains ravageurs. Leur aspect naturel, leur fourni l'avantage d'avoir moins d'effets secondaires sur l'environnement écologique, et plus d'effets bénéfiques sur le point toxicologique. En effet, plusieurs composés des plantes naturelles sont utilisés dans la lutte toxicologique contre de nombreux insectes ravageurs (Shaaya *et al.*, 1991., Zhu *et al.*, 2001., Amer et Mehlhorn 2006).

Nous nous sommes intéressées dans ce chapitre à l'étude de l'effet des huiles essentielles d'Eucalyptus et de basilic sur la formule hémocytaire des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa*. Des essaies de traitement toxicologique à plusieurs concentrations par les deux molécules ont montrés que l'abondance totale des chenilles traitées (34,25cellule/ μ L pour le traitement à l'huile d'Eucalyptus, et 42,5

cellule/ μ L pour le traitement à l'huile de Basilic) est plus élevée que celle des chenilles non traitées (32 cellule/ μ L).

Une étude similaire à la notre a montré que les larves du dernier stade d'*Antheraea assama* traitées aux huiles d'*Ocimum sanctum*, *Ocimum gratissimum* et d'*Ageratum conyzoides* à différentes concentrations (0.25%, 0,5% et 0.06%) ont subi une modification au niveau de l'abondance totale de leurs cellules hématocytaires. L'augmentation remarquable de l'effectif des cellules après traitement toxicologiques aux huiles essentielles peut être due à l'activation des réactions immunitaires habituelles lors d'une infection. Une division rapide des hémocytes afin de contrôler le déséquilibre dans le milieu, et la famine due à l'effet anti-appétissant des insecticides, peuvent entraîner l'augmentation du THC cellulaire (Khanikor et Bora 2012). Les auteurs ont également noté qu'après 24 heures du traitement aux huiles, le HTC cellulaire revient à ses valeurs moyennes.

Cela est également confirmé par l'étude de Rizwanulhaq *et al.*, (2005) qui ont développé l'effet de deux insecticides nicotinyliques sur les hémocytes du punaise rouge (*Dysdercus koenigii*), à savoir l'Acétamipride à 20% et l'imidacloprid à 25WP. Les auteurs ont montré qu'après application d'Acétamipride, le nombre total d'hémocytes (THC) augmente remarquablement (19865 cellules / mm^3) puis diminue une heure et demi après, pour atteindre 11010 cellules / mm^3 . Cette valeur augmente à nouveau quelque heures après (22855 cellules / mm^3) et revient à son niveau habituelle après 24 heures (17 000 cellules / mm^3). Dans le cas du traitement à l'Imidaclopride, le THC commence par diminuer après traitement (14488 cellules / mm^3), il augmente ensuite une heure et demi après (16163 cellules / mm^3), puis atteint 21983 cellules / mm^3 et enfin revient à ses valeurs 24 heures après traitement (17 000 cellules / mm^3).

Par contre, Pandey *et al.*, (2008 et 2012) ont enregistré dans leurs études une réduction du taux de THC chez les larves d'*E. kuehniella* traitées par les huiles essentielles de *Danaus chrysippus* L. et de *Papilio demoleus* L. Cette réduction peut être liée d'après les auteurs aux effets toxiques des huiles présentes sur les hémocytes ou à leurs influences inhibitrices sur la libération de PN des organes hémapoétiques.

Le déséquilibre des THC survenant lors de l'application des huiles essentielles pourrait suggérer une implication active du système de défense pour vaincre l'action

toxique de l'insecticide et influence les hémocytes et leurs réactions immunitaires (Pathak 1993., Liu *et al.*, 2009).

Le taux de l'abondance spécifique des cellules hémocytaires indique une augmentation remarquable du taux des plasmocytes chez les larves de *Thaumetopoea pityocampa* traitées aux huiles, comparant avec celles non traitées. Le traitement des chenilles à l'huile d'eucalyptus a provoqué une diminution du nombre total des granulocytes et des oenocytoides.

Les oenocytoides sont des cellules hémocytaires sécrétrices, de grande taille, elles participent aux réactions immunitaires lors d'une infection par des particules étrangères, elles sont également caractérisées par la présence d'une membrane plasmique fine qui ne leur permet pas une bonne résistance aux infections et aux atteintes par les molécules étrangères, ce qui mène à leur destruction lors d'un traitement toxicologique par une concentration très élevée.

En ce qui concerne le traitement au Basilic, son effet a engendré une augmentation des oenocytoides dans l'hémolymphe de l'insecte. Cela peut être nécessaire pour l'activation sécrétrice des multiplications hémocytaires. Les plasmocytes étaient également abondantes lors du traitement par les deux huiles, leur présence est nécessaire pour leur rôle immunitaire vis-à-vis de toutes les réactions hémocytaires dans l'hémolymphe des chenilles. Grâce à la présence des pseudopodes, et à la capacité d'élongation de leur membrane, les plasmocytes sont les principales cellules responsables de la phagocytose et l'élimination de toutes particules étrangères.

Le traitement toxicologique engendre la présence de plusieurs molécules toxiques, de parasites et de nématodes dans l'hémolymphe de l'insecte. Cela peut être la raison d'un développement et d'une augmentation du nombre total des cellules responsables des phénomènes de mélanisation et de phagocytose.

Ces résultats sont comparable à ceux de Rizwanulhaq *et al.*, (2005) où les pourcentages des plasmocytes, des granulocytes, et des prohémocytes diminuent remarquablement (de 39,75, 32 et 22% à 35, 23 et 18,25%) tandis que les pourcentages d'oenocytoides et de sphérulocytes ont augmenté significativement (de 4,25 et 2% à 7,5 et 3,5%) après application d'acétamipride à 20% sur les larves de *Dysdercus koenigii*. Dans la même étude le traitement des chenilles par l'imadaclopride à 25% a modifié le nombre des cellules des différents types

hémocytaires de l'insecte. Les pourcentages des plasmatocytes, des granulocytes, des oenocytoïdes, et des sphérulocytes ont également diminué (de 39.75, 32, 4.25 et 2% à 28.25, 24.50, 2.25 et 1.25%) tan dis que le taux des prohémocytes augmente le long du traitement à l'imidacloprid de 22 à 32.75%).

Les différentes réactions immunitaires sont nombreuses chez les cellules des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* traitées aux huiles d'eucalyptus et de basilic, comparant avec celles non traitées. Des formes d'encapsulation et de phagocytose entourent les parasites qui étaient nombreux dans le cas du traitement toxicologique. Cela est confirmé par Kraaijeveld *et al.*, 2001 qui suggère que le nombre des cellules hémocytaires est corrélée au taux des phénomènes de réactions immunitaires des insectes, telle que la phagocytose, la formation des nodules, l'encapsulation, et les différentes réactions immunitaires réalisées pendant une infection. Le nombre total des hémocytes reflètent donc l'implication du système immunitaire traité par des agents pathogènes ou des molécules chimiques.

En d'autres termes, par rapport à la fumigation, L'application topique des huiles testées pourrait réduire le fonctionnement du système immunitaire hémocytaires des larves. Selon Enan (2001), l'application des huiles essentielles utilisées localement pourraient se transmettes aux larves d'*E kuehniella* à travers la cuticule (Matsumura 1985). Les travaux de Sonboli *et al.*, en 2006 indiquent aussi que le traitement aux huiles, ou par les molécules toxiques infecte le système immunitaire des insectes, influence leur différentes cellules hémocytaires, et augmente ou diminue la résistance de l'hôte vis-à-vis des molécules étrangères.

4-Comportement alimentaire de la chenille processionnaire

Les animaux, les plantes, et les microbes peuvent interagir et communiquer entre eux et avec l'environnement dans lequel ils vivent (Baldwin *et al.*, 2006., Dicke *et al.*, 2009). Environ la moitié d'espèces d'insectes utilisent les plantes comme source de nourriture (Schoonhoven *et al.*, 2005). Pour atteindre une forme physique optimale, les insectes doivent survivre et se reproduire de manière optimale et dans ce cas, les odeurs sont connues pour jouer un rôle vital comme indices pour les deux fonctions. Dans le but de se nourrir et d'éviter de devenir victime de prédateurs ou de parasites, la plupart des insectes phytophages se nourrissent sur des espèces végétales qui appartiennent à la même famille, contrairement aux autres insectes qui se nourrissent

des espèces végétales appartenant à différentes familles (Bené 1945., House 1962., Bernays et Chapman 1994., Nicole 2000).

Les insectes utilisent des indices chimiques pour la plupart des tâches qu'ils rencontrent au cours de leur vie sur de longues distances (Whiteman *et al.*, 2008., de Bruyne *et al.*, 2010).

Ces signaux chimiques sont associés à la reconnaissance du partenaire et de l'hôte, ainsi que pour éviter le danger (Dethier 1947., Pichett 1949., Bernays *et al.*, 2000). La localisation efficace des hôtes appropriés est primordiale pour la survie de l'espèce. La non identification des insectes de leurs hôtes diminue sévèrement leur conditions physiques.

Les plantes émettent des mélanges volatils qui fournissent des informations sur l'identité de la plante et peuvent fournir aux consommateurs des informations fiables sur la présence d'une plante pouvant être source de nourriture (herbivores), d'hôtes (parasitoïdes) ou de proies (par exemple). Il existe toujours des variations dans la façon d'émission des signaux chimiques et la façon de les recevoir par les différents niveaux trophiques (Vet and Dicke 1992., Field *et al.*, 2000). La production de métabolites secondaires (c'est-à-dire des composés qui ne sont pas directement impliqués dans la croissance ou la reproduction des plantes) préjudiciables aux herbivores est l'une des principales stratégies des plantes qui ont évolué pour repousser leurs consommateurs (Felton 1995., Berenbaum 1995., Erb *et al.*, 2013 et Harvey *et al.*, 2014).

Certains métabolites secondaires chez les végétaux, sont caractéristiques de familles de plantes spécifiques. Par exemple, les glucosinolates sont des métabolites secondaires typiques servant de composés défensifs chez les plantes Brassicaceae (Halkier et Gershenzon 2006), les benzoxazinoïdes chez les Poaceae (Gierl et Frey 2001) et les alcaloïdes chez les Solanaceae (Wink 2003).

Les volatiles végétaux induits par les herbivores (HIPV) comprennent les terpénoïdes, les volatiles des feuilles vertes (GLV) et les esters méthyliques volatils des phytohormones (par exemple le salicylate de méthyle et le jasmonate de méthyle) (Mumm et Dicke 2010).

Les indices dérivés des plantes jouent un rôle dans le choix des insectes et influencent d'une manière ou d'une autre leurs différents comportements à savoir l'alimentation, l'accouplement et la ponte (Bruce *et al.*, 2005).

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés à étudier le comportement alimentaire de la chenille processionnaire du pin pendant tous les stades vis-à-vis de trois espèces de plantes différentes à savoir le pin d'Alep, le pin maritime et le cèdre de l'atlas.

Les résultats de l'attractivité des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* en enceinte close ont montré que les larves du L2, L3, L4 et L5 ont présenté une attractivité variable par les différentes espèces utilisées en enceinte close. Plus de la moitié de la population testée est attirée par les différentes espèces. Une étude similaire sur l'attractivité des chenilles des différents stades larvaires d'*orgyia trigotephras* vis-à-vis de 7 différentes espèces d'huiles essentielles en enceinte close à savoir, *Quercus suber*, *Quercus coccifera*, *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea media*, *Daphnegruidium*, *Erica multiflora* et *Cistus monoplienisi* a révélé que les chenilles de tous les stades larvaires sont attirées par les différentes huiles (Ezzine 2011).

Nos résultats ont également montré que plus on évolue dans les stades larvaires de la chenille processionnaire du pin, les larves mettent moins de temps pour détecter l'odeur. Cela peut être expliqué par le fait que leur appétit envers la nourriture augmente avec l'âge larvaire, et que leur sens olfactif et leur capacité de se déplacer évoluent également d'un stade à l'autre.

Cela concorde parfaitement avec l'étude de l'attractivité en enceinte close des larves d'*Ectomyelois ceratoniae* vis-à-vis de trois variétés de dattes extraites au pentane et à l'hexane, à savoir « Deglet Nour », « Mech Degla » et « Ghars ». Les résultats ont montré que les larves des stades les plus avancés, dont la taille est plus importante, remontent plus rapidement en olfactomètre en présence des dattes Deglet Nour, Mech Degla et Ghars (Mehaoua 2014).

Les résultats de l'attractivité chimique des larves de *Thaumetopoea pityocampa* des différents stades larvaires ont indiqué que le pin d'Alep est l'espèce la plus mangée par l'insecte. Les larves de L5 sont plus attirées par le pin d'Alep comparé avec les autres variétés (90% attirées). Ces chenilles mettent moins de temps pour détecter l'odeur des aiguilles du pin d'Alep que les autres variétés (334 Seconde).

La préférence en attraction chimique est aussi observée dans l'étude d'Ezzine en (2011). Les feuilles de *Quercus coccifera* sont préférées par les larves de *d'orgyia trigotephras* (30% pour L3, 44% pour L4 et 37% pour L5) en qualité de nutrition. Le suivi sur terrain a montré que le lentisque n'est attaqué qu'en absence du feuillage de chêne kermès nouvellement débourré.

Les extraits pentaniques et hexaniques de la variété Deglet Nour restent attractifs pour tous les stades larvaires d'*E. ceratoniae*. Par contre, les dattes fraîches de la variété Mech Degla et Ghars et leurs extraits au pentane et à l'hexane n'attirent que le stade L5. Donc, les larves du L5 semblent être mieux attirées par la source odorante des trois variétés de dattes, avec un taux d'attraction de 75% pour les dattes fraîches et l'extrait au pentane des variétés Mech Degla et Ghars et 68% pour l'extrait d'hexane des mêmes variétés, alors qu'il varie entre 95 et 96% pour respectivement l'extrait d'hexane des dattes de la variété Deglet Nour (Mehaoua 2014).

La qualité et la quantité des aliments offerts par la plante hôte sont aussi des facteurs majeurs qui contrôlent la dynamique de population des insectes phytophages (Muller 2016). Ainsi, la nutrition fournit à l'insecte les composés chimiques nécessaires pour sa croissance, son développement, sa reproduction, sa défense, ses déplacements et sa survie (Slansky et Rodriguez 1987). La plante hôte, comme source de nourriture, joue un rôle déterminant dans la dynamique des populations avec ses composantes nutritives et ses composantes allélochimiques (Ohgushi et al., 1992).

Chez les Lépidoptères, comme les chenilles de *Lymantria dispar* ou celles de *Phoracantha semipunctata* qui affectionnent particulièrement le chêne-liège, le comportement de recherche alimentaire varie en fonction du stade des larves (Fraval 1989., Ouakid 2006). Les auteurs ont montré que la détection des odeurs des extraits des feuilles d'eucalyptus se fait également en fonction du stade de développement de *L. decipiens* et de l'état des feuilles extraites. Ainsi, les adultes sont plus attirés que les jeunes larves par des extraits de feuilles fraîches. L'attraction à distance des individus par les extraits hexaniques de feuilles nous permet de supposer que les molécules actives doivent être de nature plus ou moins apolaire.

Dans une autre étude, Halfaoui (2010), a pu montrer que *L. decipiens* était également attiré par des extraits hexaniques de gland de chêne.

L'olfaction est d'une importance primordiale pour la survie de la plupart des espèces animales. La question est de savoir comment l'environnement doté des molécules

hautement complexes dans le monde olfactif est codé dans l'activité neuronale et traitée pour aboutir finalement à des réponses comportementales adaptatives à attirer de nombreuses études pendant plusieurs années (Ouakid 2006).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La chenille processionnaire du pin est sans doute l'insecte le plus destructeur des forêts du pin et du cèdre dans le monde, sa propagation a gagné ces dernières années beaucoup d'hectare de pinèdes en Europe et en Afrique du nord.

En se nourrissant sur les aiguilles du pin pendant son stade larvaire, les chenilles processionnaires participent à l'affaiblissement des feuilles du pin et du cèdre qui et pouvant causer a long terme la mort complète des arbres et entraînant la disparition totale des forêts.

C'est également un problème de santé public, la chenille est considérée comme nuisible à cause de ses poils urticants qu'elle projette en cas de danger ressenti autour d'elle, ces poils peuvent atteindre les êtres humains comme les animaux dans les forêts et engendrer des démangeaisons, des éruptions cutanées, voir même des problèmes respiratoires.

Notre présente étude s'est basée sur plusieurs aspects, nous nous sommes intéressés en premier lieu à l'étude de la formule hémocytaire de la chenille processionnaire du pin durant son stade larvaire. Une identification et une quantification de toute les formes cellulaires est réalisé sur des chenilles de différents stades larvaires. Le nombre total et spécifique des hémocytes identifiées sont comparées entre les différents stades de la chenille.

Les résultats obtenus de ce chapitre indiquent une variabilité du HTC entre le 2^{ème}, le 3^{ème} et le 4^{ème} stade larvaire. Le L4 représente l'âge de maturation immunitaire de l'insecte, toutes les réactions immunitaires composées principalement de l'encapsulation humorale et cellulaire, des formes de phagocytose et de mélanisation sont bien observées durant ce stade. Les résultats de cette étude indiquent également que ces différentes réactions immunitaires sont nombreuses en présence des parasites et des nématodes.

Nous nous somme également intéressé à l'étude toxicologique de quatre huiles essentielles sur la mortalité des chenilles processionnaires du pin à savoir l'huile de cèdre de l'Atlas (*Cedrusatlantica*), l'huile de Basilic (*Ocimum basilicum*), l'huile d'Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) et l'huile de bois de Gaïac(*Bulnesiasarmiēti*).

L'effet de ces molécules a été étudié en fonction des concentrations utilisées, du stade larvaire et du temps d'exposition aux molécules testées.

Les résultats obtenues indiquent que l'huile essentielle de basilic (*Ocimum basilicum*) est la plus efficace contre les chenilles processionnaires du pin, le taux de mortalité observée durant ce traitement est le plus élevé (100% sur des L3 L4 et L5), suivie par l'huile de cèdre et l'huile d'Eucalyptus (*Cedrus atlantica* et *Eucalyptus globulus*) lesquelles ont tué la moitié de la population après quelques jours du traitement et enfin l'huile de bois de Gaïac (*Bulnesia sarmienti*) dont le taux de mortalité était le plus faible.

En second lieu nous avons procédé à l'évaluation de l'effet des huiles essentielles sur la formule hémoctaire des chenilles, nous avons réalisé une étude quantitative des hémocytes des chenilles traitées à l'huile essentielle d'Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) et de basilic (*Ocimum basilicum*). La formule hémoctaire des chenilles traitées par les deux molécules est comparée à celle des chenilles non traitées.

Les résultats obtenus indiquent que le nombre total des cellules des chenilles traitées (HTC) a enregistré des valeurs plus élevées que celle des chenilles non traitées. Le nombre spécifique des cellules hémoctaires a enregistré également une augmentation de l'abondance des plasmocytes durant les deux traitements. Lors du traitement des chenilles à l'huile d'eucalyptus, le nombre moyen des granulocytes et des oenocytoides a remarquablement diminué comparé avec leurs abondance chez les chenilles non traitées.

Enfin et dans le cadre de l'étude du comportement alimentaire des chenilles processionnaires, nous avons réalisé des tests d'attractivité chimique des larves du 2^{ème}, du 3^{ème}, du 4^{ème} et du 5^{ème} stade larvaire en « enceinte close ». La préférence nutritionnelle des larves des différents stades a été étudiée vis-à-vis de trois espèces de plantes à savoir le pin d'Alep, le pin maritime et le cèdre de l'atlas.

Les résultats de l'étude d'attractivité chimique des larves de *Thaumetopoea pityocampa* ont indiqué que le pin d'Alep est l'espèce la plus consommée par l'insecte. Les larves de L5 sont plus attirées par le pin d'Alep en comparaison avec le pin maritime et le cèdre de l'atlas. Ces chenilles mettent moins de temps pour détecter l'odeur du pin d'Alep que les autres variétés. Ce taux d'attractivité est plus important pendant les stades avancés que les stades primaires. En évoluant dans les stades

larvaires les chenilles mettent moins de temps pour détecter l'odeur des feuilles des différentes espèces étudiées.

D'autres études approfondies sont nécessaires et doivent être prise en considération en perspectives pour bien cerner le danger engendré par la chenille processionnaire dans nos forêts. Il serait intéressant d'évaluer l'effet d'autres molécules biologiques et d'autres huiles essentielles ou de leur mélange sur la formule hémocytaire de la chenille. Affaiblir le système immunitaire de l'insecte composé essentiellement par ces différentes hémocytes est sans doute la méthode la plus efficace pour lutter contre sa nuisance.

Il serait également important d'étudier l'effet de ces huiles essentielles sur terrain, et d'évaluer par une méthode bien précise l'effet de ces molécules sur la mortalité des chenilles sur les arbres de pin.

Le contrôle écologique de la chenille processionnaire du pin nécessite une connaissance du taux de son abondance et de sa propagation d'une saison à une autre. Il est aussi important de suivre l'abondance des nids d'hiver de la chenille sur plusieurs saisons et de réaliser des méthodes de traitement biologiques variables sur les arbres afin de trouver des solutions fiables contre l'insecte ravageur.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Abbott W.S., 1925-The value of the dry substitutes for liquid lime sulphur as a control for san jose scale. *Journal of Economic Entomology*. 18 : 265-267.

Abdelgaleil S.A.M and Semmler M., 2007- Efficacy of neem see extract shampoo on head lice of naturally infected humans in Egypt. *Parasitol Res*. 100:329–332.

Abul K.A and Lichtman A.H., 2002- Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System, *American Journal of Epidemiology*, 309 pp.

Alfatemi S.M.H., Rad J.S., Mohsenzadeh S., da Silva J.A.T., 2015- Chemical composition, antioxidant activity and in vitro antibacterial activity of *Achillea wilhelmsii* C. Koch essential oil on methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* spp. *3 Biotech*, 5:39–44.

Alghamdi A. S., 2018- Insecticidal effect of four plant essential oils against two aphid species under laboratory conditions. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 6 (2): 27-30.

Alviano D.S., Barreto A.L.S., Dias F.A., Rodrigues I.A., Rosa M.S.S., Alviano C.S and Soares R.M.A., 2012- Conventional therapy and promising plant-derived compounds against trypanosomatid parasites. *Front Microbiol*, 3:283.

Amaral I.M.R., Neto J.F.M., Pereira G.B., Franco M.B., Beletti M.E., , Kerr W.E., Bonetti A.M., and Vieira CU., 2010- Circulating hemocytes from larvae of *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): Cell types and their role in phagocytosis. *Micron* 41 : 123–129.

Amer A and Mehlhorn H., 2006- Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes, 99: 478–490.

Ansari M.S., Moraiet M.A and Ahmad S., 2014- **Insecticides: Impact on the Environment and Human Health. Chapter 6.** *Environmental Deterioration and Human Health*, pp : 99-123.

Aouati A., 2016- Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). These université Mentouri, p 150.

Araujo H.C.R., Cavalcanti M.G.S., Santos S.S., Alves L.C and Brayner F.A., 2007- Hemocytes ultrastructure of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Micron* 39 : 184–189.

Ardry J.M., Haberkorn V., 2007- L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev* (61):14-7.

Arnold J.Wand Hinks, C.F., 1976- Haemopoiesis in Lepidoptera. I. The multiplication of circulating haemocytes, *Revue Canadienne De zoologie.*, 54 :1003-1012.

Averbeck D and Idaomar, M., 2008 - Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46 (2) : 446–475. Mnayer D., 2014- Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse université d'Avignon Décembre 2014, p 157.

B

Bachir K., Tail G., Zamoum M., Aci L, Cherif H.S and Saidi F., 2017- Infestation par *Thaumetopoea pityocampa* Den and Schiff. Dans deux pineraies de la region de Djelfa Algérie et impact de *Juniperus Oxycedrus* et *Juniperus Phoenicea* sur la mortalité et la consommation des larves in Vitro. *Revue Agrobiologia.* 7(2): 427-439.

Bahr T.A., Rodriguez D., Beaumont C and Allre K., 2019- The Effects of Various Essential Oils on Epilepsy and Acute Seizure: A Systematic Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, pp 14.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., 2008- Idaomar M: Biological effects of essential oils. A review. *Food ChemToxicol.* 46:446–475.

Baldwin I.T., Halitschke R., Paschold A., von Dahl C.C and Preston C.A., 2006- Volatile signaling in plant-plant interactions: “Talking trees” in the genomics era. *Science.* 311:812–5.

Balouet G., Poder M and Cahour A., 1983- Haemocytic parasitosis: morphology and pathology of lesions in the French flatoyster, *Ostrea edulis*, *L. Aquaculture.*, 34, p 1-14.

Barracco M.A., Medeiros I.D and MoreiraF.M., 1999- Some haematoimmunological parameters in the mussel *Perna perna*. *Fish Shellfish Immunol.* 9, 387–404.

Barth R.H., 1970- The mating behavior of *Periplaneta americana*(Linnaeus) and *Blatta orientalis* Linnaeus (Blattaria, Blattinae), with notes on three additional species of

Periplaneta and interspecific action of female sex pheromones. *Z. Tierpsychol*, 27: 722-748.

Barton A.F.M., 2000- The oil mallee project, a multifaceted industrial ecology case study. *J Ind Ecol*, 3:161–176.

Baser K.H.C and Buchbauer G., 2010-Essential oils. Science, technology, and applications, International Standard Book (CRC Press).ISBN 978-1-4200-6315-8.Number: 978-1-4200-6315-8

Bataillé L., 2006- Mécanismes de régulation de l'hématopoïèse embryonnaire chez la drosophile. Thèse université Paul Sabatier II. Toulouse, p 180.

Battisti A., 1988-Host-plant relationships and population dynamics of the Pine Processionary Caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* (Denis &Schiffermiiller). *J. Appl. Ent*, 105 :393-402.

Battisti A., Stastny M., Netherer S., Robinet C., Schopf A., Roques A and Larsson S 2005- Expansion of geographic range in the pine processionary moth caused by increased winter temperatures. *Ecological Applications*, 15, 2084-2096.

Bayne C.J., 1990- Phagocytosis and non-self recognition in invertebrates. *Bio Science* 40 pp : 723.

Bayne F.A., H.R.C. Araujo H.R.J., Cavalcanti M.G.S., Alves L.C and Peixoto C.A., 2005- Ultrastructural characterization of the hemocytes of *Culex* (*Quinque fasciatus*) (DIPTERA: Culicidae) *Micron*, 40 :723-731.

Bayne, B.L., Mobre, M.N., Widdows, J. Livingstone. D.R and Salkeld, P., 1979- Measurement of the responses of individuals to environmental stress and pollution: studies with bivalve molluscs. *Phil. Trans. R. Soc. (B.)* 286: 563-581.

Bazizi M., 2016- Extraction d'huile essentielle de l'espèce Végétale (*Salvia Officinalis* L.) par hydrodistillation : Caractérisation physicochimique et modélisation paramétrique. Thèse université Badji Mokhtar. Annaba, p 96.

Beetz, S, Brinkmann, M and Trenczek, T., 2004. Differences between larval and pupal hemocytes of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*, determined by monoclonal antibodies and density centrifugation. *Journal of Insect Physiology* 50, 805–819.

Beetz, S., 2002. Vergleichende Untersuchungen zum Ha`mozytenbild von Larve und Puppe des Tabakschw`rmers *Manduca sexta* L. in Justus-Liebig-Universita`t Gieben. Marz, p 283.

Belaid M., Duvic B., Doumanji S and Brehelin M., 2013- Ultrastructure des hemocytes de L'Abeille ouvri`re (*Apis Mellifera* L. Hymenoptera : Apidae) au cinqui`me stade larvaire. Bull. Soc. zool. Fr., 138 (4) : 5-15.

Bené F., 1954- The role of learning in feeding behavior of Black- Chinned hummingbirds. The condor, 41 (01) : 3-23.

Bernays E. A., Oppenheim S., R. Chapman F. , Kwon H and Gould F., 2000- Taste sensitivity of insect herbivores to deterrents is greater in soecialists than in generalists : A behavioral test of the hypothesis with two closely related caterpillars. Journal of Chemical Ecology, 26 (02) : 547- 564.

Berenbaum, M. R., 1995- Turnabout is fair play: Secondary roles for primary compounds. Journal of Chemical Ecology, 21(7) : 925–940.

Benkhniuel O., Zidane1 L., Fadli1 M., Elyacoubi1 H., Rochdi A and Douira1 A., 2011- Etude ethnobotanique des plantes m`dicinales dans la r`gion de Mechra` Bel Ksiri (R`gion du Gharb du Maroc). Acta Bot. Barc. 53: 191-216.

Benouali D., 2016-Extraction et identification des huiles essentielles. Th`se Universit` Mohammed Boudiaf. Oran. P 185.

Bentouati A., 2006-Croissance, productivit` et am`nagement des for`ts de pin d'Alep (*Pinus halepensis* M.) du massif d'Ouled Yagoub (Khenchela-Aur`s). Th`se Universit` El Hadj Lakhdar-Batna. P 116.

Benslama A., 2016-Substances d'origine v`g`tale. Cours de biologie v`g`tale. Universit` Mohamed Khider-Biskra, p 68.

Bergereau E., 2010 : R`le des LT-CD8+ dans l'auto-immunit` du SNC : influence des autres effecteurs de l'immunit` adaptative. Th`se, Universit` de Toulouse. France, p 246.

Bernays EA and Chapman R.F., 1994- Host-plant Selection by Phytophagous Insects. Contemporary Topics in Entomology 2. ISBN: 9780412031113. New York. Pp 312.

Bernays E.A and Chapman RF., 1994-Host-plant Selection by Phytophagous Insects. Contemporary Topics in Entomology 2. New York: Chapman and Hall, pp 312.

Bertella N., 1987- Bio-écologie de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera, Thaumetopoeidae) dans quelques régions d'Algérie. - Thèse magister Sci. Agr., Inst. Nat. Agro. El - Harrach - Algérie, 110 p.

Blandin S and Levashina E.A, 2004- Thioester-containing proteins and insect immunity. *Mol. Immunol*, 40 : 903-908.

Bonetti A.M., and Vieira CU., 2010- Circulating hemocytes from larvae of *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): Cell types and their role in phagocytosis. *Micron* 41 : 123–129.

Bonifácio B.V., Ramos M.A.d.S, da Silva P.B and Bauab T.M., 2014- Antimicrobial activity of natural products against *Helicobacter pylori*: a review. *Clinical Microbiology and Antimicrobials*, pp 13:54.

Boudy P., 1950-Economie forestière Nord Africaine. *Monographie et traitement des essences forestières*, Fasc. 2, pp. 529-619, Ed. La rose. Arbez M., Ferrandes P., Uyar N., 1978- Contribution à l'étude de la variabilité géographique des Cèdres, *Ann. Sci. forest.*,35 (4 : 265-284.

Boulais J., 2010- L'évolution du phagosome. Thèse université de Montréal, p 235.

Boutte B., 2012- Bilan de la surveillance de la chenille processionnaire du pin en forêt, cycle biologique 2012-2013, Ministère de l'Agriculture, de l'AgroAlimentaire et de la Forêt - DGAL – SDQPV, Département de la santé des forêts, p 12.

Brayner R., Vaulay M. J., Fiévet F and Cordin T., 2007- Alginate-mediated growth of Co, Ni and CoNi nanoparticles: influence of biopolymer. *Chemistry of materials*, 19 : 1190-1198.

Brehélin M., Hoffmann J.A., Matz G., Porte A., 1975- Encapsulation of implanted foreign bodies by hemocytes in *Locusta migratoria* and *Melolontha melolontha*. *Cell Tissue Res.* 160 :283–289.

Brehélin M., Zachary D and Hoffmann J.A., 1978-A comparative ultrastructural study of blood cells from nine insect orders. *Cell Tissue Res.* 195 :45–57.

Brinquin A. S., 2015- Evolution des pratiques de lutte contre la processionnaire du pin en France entre 2009 et 2012. Unité expérimentale entomologie et Forêt méditerranéenne, Le Cahier des Techniques de l'INRA (85), p 13.

Brinquin A.S and Martin J.C., 2017- Les clés pour lutter contre la processionnaire du pin. INRA Unité expérimentale Entomologie et Forêt Méditerranéenne, p 14.

Bruce T.J.A., Wadhams L.J and Woodcock C.M., 2005.Insect host location: a volatile situation. *Trends Plant Sci.* 10 (6) : 269-274.

Bruneton, J., 1993- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2e édition, Tec et Doc., Lavoisier, Paris, 915 p. Sassoui D., Etude ethnobotanique, phytochimique, histologique et activité antidépressive de (*Portulaca oleracea L.*) et (*Peganum harmala L.*). These université Badji Mokhtar. Annaba, p 181.

Burt S.A., 2004- Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *Inter J Food Microbiol*, 94:223–253.

Butterfield D.A and Lauderbaack C.M., 2002- Lipid peroxidation and protein oxidation in alzheimer's disease brain : Potential causes and consequences involving amyloid peptide-associated free radicaloxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 32(11): 1050-2002.

C

Çakır A., Özer H., Aydın T., Kordali S., Çavuşoğlu A. T., Akçin T., Mete E and Akçin A., 2016- Phytotoxic and Insecticidal Properties of Essential Oils and Extracts of (Four *Achillea* Species). *Rec. Nat. Prod*, 10 (2) : 154-167.

Carle P., 1975- Santé des peuplements et équilibre biologique dans les forêts après passage du feu. Les incendies de forêts, station des recherches forestières (I.N.R.A.), R.F.F.N°:SP, pp 198- 2006.

Carus S., 2004- Impact of Defoliation by the Pine Processionary Moth (*Thaumetopoea pityocampa*) on Radial, Height and Volume Growth of Calabrian Pine (*Pinus brutia*) Trees in Turkey. *Phytoparasitica* 32(5):459-469.

Cetin H., Erler F and Yanikoglu A., 2006-Toxicity of essential oils extracted from *Origanum onites L.* and *Citrus aurentium L.* against the pine processionary moth, *Thaumetopoea wilkinsoni* Tarns. *Folia Biol.*, 54, 153–157.

Chapman R.F., 1998. The Insects Structure and Function. Cambridge University Press, Cambridge.Cornell University. 1998. New York. 5th Edition, p 770.

Cheng T.C and Sullivan J.T., 1984- Effects of Heavy Metals on Phagocytosis by Molluscan Hemocytes. *Marine Environmental Research* 14: 305-315.

Cheng, T. C. 1981- Bivalves *in* Invertebrate blood cell s. N. A. Ratcliffe and A. F. Rowley, Eds. Academic press. New York / London. 64 1 p.

Chia F, Xing J ,1996-Echinoderm coelomocytes. *Zool Stud* 35 : 231-254

Choi, T.Y., Yamaguchi, M., Matsukage, A., Kim, Y.S and Yoo, M.A. 2004- . Transcriptional regulation of the *Drosophila* caudal homeobox gene by DRE/DREF. *Nucleic Acids Res.* 32(12): 3734--3742.

Coats J.R., 1994- Risks from natural versus synthetic insecticides. *Annu Rev Entomol* 39:489–515.

Cochard, B., Bovigny P.Y and Lefort F., 2014- La chenille processionnaire du pin. *Thaumetopoea pityocampa*. Institut Terre Nature et Environnement (inTNE). Haute école du paysage, d'ingénierie et d'architecture. Hepia copyright.

Dajoz R., 1980- Les insectes prédateurs et leurs role dans le milieu forestier, actualite d'écologie forestière. Ed. GANTHIER – VILLARS, 517p.

D

De Bruyne M and Warr C., **2006.** Molecular and cellular organization of insect chemosensory neurons. *BioEssays* 28 :23 -34.

De Gregorio E., Spellman, P.T and Tzou P, 2002- The toll and Imd pathways are the major regulators of the immune response in *Drosophila*. *EMBO journal* 21: 2568-2579.

De Paula J.P., Farago P.V., Checchia L.E.M., Hirose K.M and Ribas J.L.C., 2004- Atividade repelente do oleo essencial (*d'Ocimum selloi Benth*) (variedade eugenol) contra o *Anopheles braziliensis* Chagas. *Acta Farm Bonaer*, 23:376–378.

Debnath L.R., Rajak P and Pal L.K., 2017- The mecanisms of innate immunity in insects. *B. N. Seal Journal of Science* 9 (1).

Dehak D.K., 2013-Méthodes d'extraction et de séparation des substances naturelles. Cours de chimie et Analyse physicochimique et réactivité des espèces moléculaire. Université KASDI Merbah. Ouargla, pp 13.

Demolin G., 1970- Programa ecologico internacional sobre la Procesionaria del pino. *Bol. Serv. Plagas Forest* 13. 111-117.

Demolin 1969- Bioecologia de la processionaria del pino, *Thaumetopaea pityocampa* Sciff, Incedencia de los factor climaticos. *Biol. Serv. Plagas Forest.* 12 3 : pp 9-24.

Demolin G., 1967-Comportement des adultes de *Thaumetopoea pityocampa* SHIFF. Dispersion spatiale, importance écologique. *Ann. Sci. Forest.* 26(1): 81-102.

Demolin, D., 1988- Some problems of phonological reconstruction in Central Sudanic. *Belgian Journal of Linguistics*, 3: 53-96.

Denis and Schiffermüller 1775- (Lepidoptera Thaumetopoeidae) dans les pineraies semi arides. *An.Rech.For.Algérie*, 12, 30-42.

Derwich, E., Benziane Z and Boukir A., 2010. Chemical composition and *In vitro* antibacterial activity of the essential oil of *Cedrus atlantica*. *Int. J. Agric. Biol.*, 12: 381–385.

Dethier D.P., 1988- A hydrogeochemical model for stream chemistry cascade range, Washington, U.S.A. *Earth Surface Processes* 13 :321-333.

Dethier, V. G. 1947- Chemical insect attractants and repellents. The Blakiston Co. Philadelphia, pp 289.

DiBartolomeis M., Kegley S., Mineau P., Radford R., Klein K., 2019-An assessment of acute insecticide toxicity loading (AITL) of chemical pesticides used on agricultural land in the United States. *PLoS ONE*, 14(8): 22-29.

Dicke M, van Loop J.J.A and Soler R., 2009- Chemical complexity of volatiles from plants induced by multiple attack. *Nat Chem Biol*, 5:317–324.

Djebali N., 2008- Etude des mécanismes de résistance de la plante modèle (*Medicago truncatula*) vis-à-vis de deux agents pathogènes majeurs des légumineuses cultivées : (*Phoma medicaginis*) et (*Aphanomyces euteiches*). Thèse de doctorat. Université Toulouse III - Paul Sabatier. Castanet-Tolosan. 209 p.

Drouin J., 2017- Le comportement alimentaire d'un Herbivore Généraliste Malacocoma Disstria HBN sur les assemblages foliaires de peuplier et D'érable. Thèse de Québec. Mars. Montréal, p 75.

Dugo G and Di Giacoma A., 2002- Citrus. Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles. Volume 26. *British Library Catalogue in Publication Data* A catalogue record for this book is available from the British Library, p 656.

Dunn P.E., 1986- Biochemical aspects of insect immunology. *Anu. Rev. Entomol*, 31 : 321 -39. Strand M. S and Pech L.L., 1995- Immunological Basis for compatibility in parasitoid-Host relationships. *Annu. Rev. Entomol*, 40:31-56.

Dupuy J.L., Boivin T., Duché Y., Martin-StPaul N., Pimont F and Rigolot E., 2015- Impact du changement climatique sur les risques en forêt : le cas de l'incendie et

de ses interactions avec la sécheresse et les pullulations d'insectes. *Innovations Agronomiques* 47 : 29-50.

Durvelle J.P., 1930- Fabrication et essences des parfums. *Pantes et parfums. Extraction des essences.* Université de Wisconsin. Le mans, p 464.

E

Edris E.A., 2007-Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents: A Review. *Phytother. Res.*, pp : 2-17.

El ouali L.A., El- akhal F., Ouderhiri W., Ouazzani C.F. Guemmouh R and Greche H., 2013- Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulagris* et *Thymus satureioidis*. *Les technologies de laboratoires*, pp 31 (8) : 2-8.

Elie F., 2009- Chenilles processionnaires. mai 2004, mars 2006, mars 2009, pp : 2-8.

Elkoli M., 2016- Structure et Activités des substances naturelles : Principes et applications : Cours de microbiologie Master II : Université Ferhat Abbas. Sétif, pp 70.

Enan, 2001-Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comp Biochem Physiol Part C* 130:325–337.

Erb M., Huber M., Robert C.M.A., Ferrieri A.P., Machado R.A.R., Arce C.C.M., 2013- The Role of Plant Primary and Secondary Metabolites in Root-Herbivore Behaviour, Nutrition and Physiology. Chapter two, *Advances in Insect Physiology*, 45 : 53-95.

Evans C.J., Hartenstein, V and Banerjee U., 2003-Thicker than blood: conserved mechanisms in *Drosophila* and vertebrate hematopoiesis. *Developmental Cell* 5, 673–690.

Ezzine O., Ben Jamaa M.L., Gurami M and Nouria S., 2011- Effets des plantes associées au chêne liège sur l'attraction en enceinte close des chenilles d'*Orgyia trigotephras* Lepidoptera, Lymentriidae défoliateur du maquis de jebel ABderrahman (Cap-bon-Tunisie) F.S.T. poster, p 1/1.

F

Fabian D., Sabol M, Domaracka K and Bujkakova D., 2006- Essential oils—their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. *Toxicology in Vitro* 20 : 1435–1445.

Fabre J.P., 1976-Extension du cèdre et risques d'attaques d'insectes. *Biologie et forêts*. Station de recherche forestière. INRA ; R .F .F . XXVIII, p 4.

Fang F, Candy K., Melloul E, Bernigaud C, Chai L, Darmon C., Durand R., Botterel F., Chosidow O., Izri A.,Huang W and Guillot J., 2016- In vitro activity of ten essential oils against *Sarcoptes scabiei*. *Parasites and Vectors*, pp 9:594.

Federici C., Brambilla D., Lozupone F., Matarrese P., de Milito A., Lugini L., Iessi E., Cecchetti S., Marino M., Perdicchio M., Logozzi M., Spada M., Malorni W and Fais S., 2008- Pleiotropic function of ezrin in human metastatic melanomas. *Int. J. Cancer*: 124, 2804–2812.

Feknous S., Saidi F and Ramdhane M. S., 2014- Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.) *Nature and Technologie. A- Sciences fondamentales et Engineering*, 11: 07-13.

Filipov N.M., Pinchuk L.M., Boyd B.L and Crittenden P.L., 2005- Immunotoxic Effects of Short-term Atrazine Exposure in Young Male C57BL/6 Mice. *Toxicological Sciences* 86 (2): 324–332.

Fournier D., Bride J.M., Hoffmann F and Kar F., 1992- Acetylcholinesterase Tow types of modifications confer resistance to insecticide. *267 (20) : 14270-14274.*

Franzios G., Mirotson M., Hatziapostolou E., Kral J., Scouras Z.G and Mavragani T.P., 1997- Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. *J Agric Food Chem*, 45:2690–2694.

Franzios G., Mirotson M., Hatziapostolou E., Kral J., Scouras Z.G and Mavragani T.P., 1997- Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. *J Agric Food Chem* 45:2690–2694.

Fraval A., Haddan M and Thevenot M., 1989- Ennemis naturels de *Phoracantha semipunctata* (F.) (Col., Cerambycidae), ravageur xylophage des Eucalyptus au Maroc. *Bull. Inst. Sei.*, Rabat, 12 :167-17.

G

Gaddaguti V., Rao T.V and Rao AP., 2016- Potential mosquito repellent compounds of *Ocimum* species against 3N7H and 3Q8I of *Anopheles gambiae*. *Biotech* 3 : 6:26.

Gaignier F., 2014- Modulation de l'immunité adaptative murine par la micropesanteur simulée, l'hypergravité ou les stress chroniques ultra légers. Université de Lorraine Vandoeuvre-lès-Nancy, p 204.

Gardiner E.M.M and Strand M.R., 1999- Monoclonal antibodies bind distinct classes of hemocytes in the moth *Pseudaletia includens*. *Journal of Insect Physiology* 45 : 113–126.

Gardner, C. 1997. Options for humanely immobilising and killing crabs. *Journal of Shellfish Research*. 16 (1): 219-224.

Gayda A., 2013- Etude des principales huiles essentielles utilisées en Rhumatologie. Thèse Université Paul Sabatier. Toulouse III. Décembre, p 119.

Ghoneim K., Tanani M., Hamadah K.H., Basiouny A and Waheeb H., 2015- Effects of Novaluron and Cyromazine, chitin synthesis inhibitors, on the larval hemogram of *Spodoptera littoralis* (Boisd.)(Lepidoptera: Noctuidae). *International Journal of Advanced Research* 3 (1) : 554-576.

Georgis R., Gaugler R., 1991- Predictability in biological control using Entomopathogenic nematodes. *J. Econ. Entomol*, 84 (03): 710-720.

Gierl, A., and Frey, M., 2001- Evolution of benzoxazinone biosynthesis and indole production in maize. *Planta* 213 :493-498.

Giglio A., Battistella S., Talarico F.F., Brandmayr T.Z and Giulianini P.G., 2008- Circulating hemocytes from larvae and adults of *Carabus (Chaetocarabus) lefebvrei* Dejean 1826 (Coleoptera, Carabidae): cell types and their role in phagocytosis after in vivo artificial non-self-challenge. *Micron*. 2008. 39 : 552-558.

Giulianini P.G., Bertolo F., Battistella S and Amirante G.A., 2003- Ultrastructure of the hemocytes of *Cetonischema aeruginosa* larvae (Coleoptera.Scarabaeidae): involvement of both granulocytes and oenocytoids in in vivo phagocytosis, *Tissue Cells*.2003. 35 : 243-251.

Goetz P., Roettgen I and Lingg w., 1977- Encapsulement humoral en tant que réaction de défense chez les Diptères. *Annales de Parasitologie humaine et comparée*. Colloque sur l'immunité chez les insectes. *Annales de Parasitologie humaine et comparée* (Paris), t. 52, n° 1. Pp :95-97.

Govindarajan M., 2010- Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena anisata* (willd.) hook. F. Benth (Rutaceae) against three mosquito species. *Asian Pac J Trop Med* 3:874–877.

Govindarajan, M., Sivakumar, R., Rajeswary, M and Veerakumar, K.,2013- Mosquito larvicidal activity of thymol from essential oil of *Coleus aromaticus* Benth. against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus*, and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol. Res.* 112, 3713–3721.

Govindarajan¹ M., Rajeswary¹ M., Hoti² S.L., Bhattacharya A and Benelli G., 2016- Eugenol, α -pinene and β -caryophyllene from *Plectranthus barbatus* essential oil as eco-friendly larvicides against malaria, dengue and Japanese encephalitis mosquito vectors. *Parasitol Res*, pp 1-9.

Graf P. et Mzibri M. 1994- L'infestation du cèdre d'Atlas (*Cedrus Atlantica* Manetti) par la chenille processionnaire (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.) Au Maroc et son impact sur la productivité. *Ann. Rech. For. Maroc*, (1994), T(27), 613-624.

Grattapaglia D., Vaillancourt R.E., Shepherd M., Thumma B.R., Foley W., Külheim C., Potts B.M and Myburg A.A., 2012- Progress in Myrtaceae genetics and genomics: Eucalyptus as the pivotal genus. *Tree Genetics and Genomes*, 8:463–508.

Groenen F and Meurisse N., 2012- Historical distribution of the oak processionary moth *Thaumetopoea processionea* in Europe suggests recolonization instead of expansion. *Agricultural and Forest Entomology*, 14 : 147–155.

Grundy D.L and Still C.C., 1985- Inhibition of Acetylcholinesterases by Pulegone-1,2-epoxide. *Pesticide Biochemistry and physiology*, pp : 383-388.

Guba R., 2001- Toxicity myths essential oils and their carcinogenic potential. *The international journal of aromatherapy* 11(2) : 76-83.

Gupta, A.P., 1979. Structure and taxonomic significance. In: Gupta, A.P. (Ed.), *Insect Hemocytes*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 85–128.

H

Habbachi W., 2013- Etude des Blattellidae (Diptera): Essais Toxicologiques, Synergie et Résistance aux Insecticides et aux Biopesticides. Thèse Badji mokhtar. Annaba, p 185.

Haddouche A and Kirad I., 2017-Extraction des huiles essentielles de deux espèces aromatiques Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) et le Romarin (*Rosmarinus officinalis*

L.) et leurs activités insecticides contre le puceron vert de certains arbres fruitiers. These université Al jilali Bouneama. Khemis meliana, pp 143.

Halfaoui Z.N., 2010- Etude de deux espèces de (*blattellidae loboptera decipiens*) et (*blattella germanica* L.) [ressource textuelle, sauf manuscrits] : cycle de développement et comportement alimentaire. Thèse université Badji Mokhtar. Annaba, p 64.

Han S.S and Gupta A.P., 1989- Arthropod immune system. III. Septate junctions in the hemocytic capsule of the german cockroach, *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). Tissue and Cell. 20: 629-634.

Hartenstein V., 2006- Blood Cells and Blood Cell Development in the Animal Kingdom. Annu. Rev. Cell Dev. Biol, 22: 677–712.

Harvey J.A., Snaas H., Malcicka M., Visser B and Bezemer T.M., 2014- Small-scale spatial resource partitioning in a hyperparasitoid community. Arthropod-Plant Interactions, pp : 1-9.

Hceflcd 2016- Projet de performance au titre de l'exercice budgétaire. Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification. Maroc, pp 56.

Herbiniere J., 2006. Contribution à la mise en évidence des effecteurs impliqués dans l'immunité innée d'(*Armadillidium vulgare*), crustacé isopode terrestre infecté par une bactérie du genre (*Wolbachia*), Thèse université de poitiers, p 231.

Hillyer F.J., 2016- Insect immunology and hematopoiesis. Developmental and Comparative Immunology, p 57.

Hillyer, J.F and Christensen, B.M., 2002-Characterization of hemocytes from the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. Histochem. Cell Biol. 117, 431–440

Hillyer, J.F., Shelley, L.S and Christensen, B.M., 2003- Hemocyte-mediated phagocytosis and melanization in the mosquito *Armigeres subalbatus* following immune challenge by bacteria. Cell Tissue Res. 313 (1), 117–127.

House H.L., 1962- Insect nutrition, Annu. Rev. Biochem, pp 653-672

Hodar J.A., Castro J and Zamora R., 2003-Pine processionary caterpillar (*Thaumetopoea pityocampa*) as a new threat for relict Mediterranean Scots pine forests under climate warminh biol. Cons 110 : 123- 129.

Hodar J.A and Zamora R.,2004-Herbivory and climatic warming: a Mediterranean outbreaking caterpillar attacks a relict, boreal pine species. Biodiversity and Conservation, 13, 493-500.

Holopainen J.K., 2004-Multiple functions of inducible plant volatiles. *Trends Plant Sci* 9:529–533.

Huchon, H and Demolin, G. 1970- La Bioécologie de la processionnaire du Pin. Dispersion potentielle. Dispersionactuelle. *Revue forestière française*, vol. XXII, n° spécial » La lutte biologique en forêt », pp. 220-234.

Hussein H., Abou-Ellella M., Amer S.A.A and Momen F.M., 2006- Repellency and Toxicity of Extracts from *Capparis aegyptia* L. to *Tetrany chusurticae* Koch. (Acari:Tetranychidae). *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 41:331-340.

I

Isman M.B., 2006- Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Ann. Rev.Entomol.*, 51, pp.45–66.

Isman. M.B., 2000- Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19: 603 -608 .

J

Jacquet J.S., Orazio C and Jactel H ., 2012- Defoliation by processionary moth significantly reduces tree growth: a quantitative review. *Annals of Forest Science.* 69:857–866.

Jalbert M., 2015- Direction de la protection des forêts insectes, maladies et feux dans les forêts du Québec. *Forêts, faune et parcs.* Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs 2016, p 58.

Jaussaud P., 2015- Plantes et soleil : le risque phototoxique. Université de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1 (EA 4148 S2HEP et IUT Biologie), p 3.

Joualt S., 2012- La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse université de Lorraine. Avril, p 146.

K

Kadik B, 1987. Contribution à l'étude du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill) en Algérie. Ecologie, dendrométrie, morphologie. Ed. O.P.U ; 580 p.

Kavanagh K., Reeves E.P., 2004- Exploiting the potential of insects for in vivo pathogenicity testing of microbial pathogens. *FEMS Microbiology Reviews*, 28 :101–112.

Kalembe D and Kunicka A., 2003-Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem*, 10(10).

Kanat Mand Alma M.H., 2003-Insecticidal effects of essential oils from various plants against larvae of pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). *Pest Manag Sci.* 60:173–177.

Kaya I., Yiğit N and Benli M., 2008- Antimicrobial activity of various extracts of (*Ocimum Basilicum*.L.) and observation of the inhibition of Bacterial cells by use of scanning electron microscopy. *Afr. J. Trad. CAM*, 5 (4): 363 – 369.

Keely J.E., 2012- Ecology and evolution of pine life histories. *Annals of Forest Science*, 69:445–453.

Kerris T., 2002- La chenille processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* Denis et Schiffermuller. La chenille processionnaire du pin. Hacharate.

Kesdek M., Kordali S., Coban K., Usanmaz, E and Ercisli, S., 2014-Larvicidal effect of some plant extracts on the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermuller) in laboratory conditions. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus* 13(5) : 145-162.

Khan Z.R., Midega C.A.O., Njuguna E.M., Amudavi D.M., Wanyama J.M and Pickett J.A., 2008. Economic performance of push-pull technology for stemborer and Striga weed control in smallholder farming systems. *Crop Prot.*, 27: 1084-1097.

Belhamra R., 2012- Activité d'un insecticide organophosphoré (Actara) : Impact sur le système de détoxification, la croissance et la reproduction de (*Gambusia affinis*). These Badji Molktar. Annaba, p 67.

Khani K and Asghari J., 2012- Insecticide activity of essential oils of *Mentha longifolia*, *Pulicaria gnaphalodes* and *Achillea wilhelmsii* against two stored product pests, the flour beetle, *Tribolium castaneum*, and the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Insect Science* 12 : 1-1.

Kiger J.A., Natzle J.E and Green, M.M., 2001. Hemocytes are essential for wing maturation in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy*. 98 (18) :10190–10195.

Kim N.S and Lee D.S., 2002- Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 982 : 31–47.

Kim S., Roh J.Y., Kim D.H. Lee H.S and Ahn Y.J., 2003- Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *Journal of Stored Products Research*, 39 :293–303.

Kimutai A., Ngeiywa M., Mula M., Njagi P.G.N., Ingonga J., Nyamwamu L.B., Ombati C and Ngumbi P., 2017- Repellent effects of the essential oils of (*Cymbopogon citratus*) and (*Tagetes minuta*) on the sandfly, (*Phlebotomus duboscqi*). *BMC Res Notes*. pp10:98.

Kobayashi, K., Tsuchiya M., Oshima, T. and Yanagawa, H.: 1990- Origins Life Evol. *Biosphere*20, 99.

Kordali S., Kotan R., Mavi A., Cakir A., Ala A and Yildirim A., 2012- Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* Essential Oils. *J. Agric. Food Chem.* 53 : 9452-9458.

Kostyukovsky M., Rafaeli A., Gileadi C., Demchenko N and Shaaya E., 2002- Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. *Pest management sciences*.58:1101–1106.

Kostyukovsky M., Chen B., Atsmi S., Shaaya E., 2000- Biological activity of two juvenoids and two ecdysteroids against three stored product insects. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 30 :891–897.

Kraaijeveld A.R., Limentani E.C and Godfray H.C.J., 2001-Basis of the trade-off between parasitoid resistance and larval competitive ability in *Drosophila melanogaster*. *Proc. R. Soc. Lond.*268 : 259-261.

Kubo, T., Komano, H., Okada, O and Natori, S., 1984. Identification of hemagglutinating protein and bacterial activity in the hemolymph of adult *Sarcophaga peregrina* on injury of the body wall. *Development and Comparative Immunology* 8, 283– 291.

L

Lackie A.M., 1988. Haemocyte behaviour. *Advances in Insect Physiology* 21, 85–177.

Lambert N., 2010- Essai présenté au Centre Universitaire de Formation en Environnement en vue de l'obtention du grade de maître en environnement (M. Env.). Université de Sherbrooke, Québec, Canada, Juillet. p 103.

Lamprou I., Mamali I., Dallas K., Fertakis V., Lampropoulou M and Marmaras V.J., 2007- Distinct signalling pathways promote phagocytosis of bacteria, latex beads and lipopolysaccharide in medfly haemocytes, *Immunology.* 121 : 314–327.

Lavine M.D and Strand M.R., 2002- Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochemistry And Molecular Biology.* 2002. 32(10): 1295-309.

Lemaitre B., 1999-La drosophile : un modèle pour l'étude de la réponse immunitaire innée, *médecine/sciences*, 15 : 15-22.

Li Q.X., Chang C.L., 2016- Basil (*Ocimum basilicum* L.) Oils. These University of Hawaii. Chapter 25. Pp : 231-238.

Lieutier F., 2004- Host Resistance to Bark Beetles and its Variations. Kluwer Academics Publishers, Dordrecht. Jactel H., Petit J., Desprez M.L., Delzon S., Piou D., Battisti A and Koricheva J., 2011- Drought effects on damage by forest insects and pathogens: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 18 : 267–276.

Lima, J. A., Gavioli, I. L.C., Barbosa C.M.P., Berndt A. Gimenes F. M.A and Paz C.C.P., 2013- Soybean silage and sugarcane tops silage on lamb performance. *Ciênc. Rural*, 43 (8): 1478-1484.

Ling E and Yu X.Q., 2006- Cellular encapsulation and melanization are enhanced by immulectins, pattern recognition receptors from the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *Dev Comp Immunol.* 30 (3): 289-99.

Ling E., Shirai K., Kanekatsu R and Kiguchi K., 2005- Hemocyte differentiation in the hematopoietic organs of the silkworm, *Bombyx mori*: prohemocytes have the function of phagocytosis. *Cell Tissue Res.* 320(3):535-43.

Ling E., Yu X.Q., 2006- Hemocytes from the tobacco hornworm *Manduca sexta* have distinct functions in phagocytosis of foreign particles and self dead cells. *Developmental and Comparative Immunology* 30 : 301–309.

Liu Y., Leigh J.W., Brinkmann H., Cushion M.T., Rodriguez N., Philippe H.E and Lang B.F., 2009- Phylogenomic Analyses Support the Monophyly of Taphrinomycotina, including *Schizosaccharomyces* Fission Yeasts. *Mol. Biol. Evol.* 26 (1) : 27–34.

López, C., Carballal, M.J., Azevedo, C and Villalba, A., 1997- Enzyme characterisation of the circulating haemocytes of the carpet shell clam *Ruditapes decussatus* (Mollusca: Bivalvia). *Fish Shellfish Immunol.* 7 :595–608.

Louni D., 1994- Les forêts algériennes Laboratoire de biosystématique et d'écologie méditerranéenne Université d'Aix-Marseille 1 Case 42 1 bis F.S.T. Saint Jérôme 13397 Marseille cedex 20.

Loustalot M., 2007- Compte rendu du culture cellulaire. Licence Professionnelle en Biotechnologies, Techniques et Applications en Biologie Cellulaire et Moléculaire, p 16.

Lucchesi M.E., Chemat F and Smadja J., 2004- Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography*, 1043 : 323–327.

Lucchesi M.L., 2005- Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse, Université de la réunion, pp 147.

Lucia A., Juan L.W., Zerba E.N., Harrand L., Marcó M and Masuh H.M., 2012- Validation of models to estimate the fumigant and larvicidal activity of Eucalyptus essential oils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res*, 110:1675–1686.

M

Mavrouli M.D., Tsakas S., Theodorou G.L., Lampropoulou M., Marmaras V.J., 2005- MAP kinases mediate phagocytosis and melanization via prophenoloxidase activation in medfly hemocytes. *Biochimica et Biophysica Acta* 1744 : 145 – 156.

M'hirit O., 1999- Le cèdre de L'atlas a travers le réseau Silva Mediterranea « cèdre » Bilan et perspectives. forêt méditerranéenne. Coordonnateur du réseau "cèdre" Ministère chargé des Eaux et Forêts Rabat-Chellah-Maroc.

Maedeh M., Hamzeh I., Hossein D., Majid A and Karimi R. R., 2011-Bioactivity of essential oil from *Satureja hortensis* (Lamiaceae) against three stored-product insect species. *African Journal of Biotechnology*. 10 (34) : 6620-6627.

Mahajan R.V., Saran S., Kameswaran K., Kumar V and Saxena R.K., 2012- Efficient production of L-asparaginase from *Bacillus licheniformis* with low-glutaminase activity: Optimization, scale up and acrylamide degradation studies. *Bioresource Technology* 125 : 11–16.

Mahilrajan S., Nandakumar J., Kailayalingam R., Manoharan N.A and SriVijeindran S., 2014- Screening the antifungal activity of essential oils against decay fungi from palmyrah leaf Handicrafts. *Biological Research*, pp 47:35.

Maiamy J., Carr J.P., Klessig D.F and Raskin I., 1990- Salicylic Acid: A Likely Endogenous Signal in the Resistance Response of Tobacco to Viral Infection. *Sciences*, 250 : 1-2.

Makhaik M., Naik S.N and Tewary D.K., 2005- Evaluation of anti-mosquito properties of essential oils. *Journal of Scientific & Industrial Research* 64 :129-133.

Mangalika P.R., Kawamoto T., Nakaguchi A.T and Iwabuchi K., 2010- Characterization of cell clusters in larval hemolymph of the cabbage armyworm *Mamestra brassicae* and their role in maintenance of hemocyte populations. *Journal of Insect Physiology*, 56 : 314–323.

Martin J.C., 2007- Méthodes de lutte contre la chenille processionnaire du pin en forêt. Régions corse, Languedoc- Roussillon, Paca et Rhône- Alpes. Département de la santé des forêts Information technique N° 57. Echelon technique Sud – Est.

Martin J.C and Bonnet C., 2008- Les moyens de lutte disponibles et à venir en milieu forestier et urbain. In : Colloque Insectes et changement climatique. Micropolis, Aveyron. France.

Martin J.C., Jambois A., 2016- Protection des arbres et des personnes contre les nuisances causées par la processionnaire du pin. Analyse Socio-économique des Impacts de la Recherche Publique Agricole. *Sciences et impact*, p 16.

Martin J.K., 2018- Connaître et gérer la processionnaire du pin tout en préservant l'environnement. INRA UEFM Journées Techniques CS3D Saint Malo. *Sciences et impact. Entomologie et Forêt Méditerranéenne Centre de recherche PACA.*

Martin J.K., 2007- Futura nature science: Le cycle biologique de la processionnaire du pin. Dossier la processionnaire du pin. INRA. *Planet*. pp. 35.36.

Mastore M., Brivio M.F, 2008- Cuticular surface lipids are responsible for disguiseproperties of an entomoparasite against host cellular responses. *Developmental and Comparative Immunology*, 32:1050–1062.

Matsumura, F., 1985- Toxicology of insecticides. *Second Edition*. Plenum Press. New york and London. Library of Congress Cataloging in Publication Data, p 612.

Mayer F., 2012- Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles, Etude de cas en maison de retraite. Thèse Université de Lorraine, p 107.

Mehoua M.S., 2014-Abondance saisonnière de la pyrale des dattes (*Ectomyelois ceratoniae* Zeller., 1839), bioécologie, comportement et essai de lutte. Thèse Université Mohamed Khider Biskra, p 125.

Mehri M., 2008- Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse université de Toulouse, p 249.

Meistera M., Hetru C and Hoffmann A., 2000- The Antimicrobial Host Defense of *Drosophila*. Origin and Evolution of the Vertebrate Immune System, p 20..

Mezali M., 2003. Rapport sur le secteur forestier en Algérie. 3ème session du forum des Nations Unis sur les forêts, 9 p.

Miresmailli S., Bradbury R and Isman M.B., 2006-Comparative toxicity of (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and blends of its major constituents against (*Tetranychus urticae* Koch) (Acari: Tetranychidae) on two different host Plants. *PestManag Sci*62:366–371.

Montoya R and Robredo F., 1972-*Thaumetopoea pinivora*, la processionaria de verrano. *Bol. DE LA Estacion Central de Ecologia*, I (2).

Demolin G., Frerot B., Chambon J.P and Martin J.C., 1994-Reflexions biosystematiques sur toutes les processionnaires du genre *Thaumetopoea* Lep *Thaumetopoeidae*, Considérées comme ravageurs importants des cedres *cedrus Libani* Barel et *Cedrus Atlantica* Manetti sur le pourtour du bassin méditerranéen. *Ann. Rech. For. Maroc*, T(27), 577-591.

Morsli S., 2005- Ecologie des pontes et des nids de la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* SCHIFF (Lep, *Thaumetopoidae*) dans le cédrie du parc national de Chérea, et dans la pinède de la région de Djelfa, p 63.

Mortureux M., 2012-Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif aux Méthodes alternatives au traitement chimique des processionnaires du pin et du chêne en conditions urbaines. Avis de l'Anses 2012-SA-0149. Maisons-Alfort.

Muller K., 2016- Influence de la plante hôte sur les performances sexuelles des mâles et conséquences sur le potentiel reproductif des femelles phytophages. Thèse université de Bourgogne, p 291.

Mumm R and Dicke M., 2010- Variation in natural plant products and the attraction of bodyguards involved in indirect plant defense. *Can. J. Zool.* 88 : 628-667.

Muyima N.Y.O., Zulu G., Bhengu T and Popplewell D., 2002- The potential application of some novel essential oils as natural cosmetic preservatives in an aqueous cream formulation. *Flavour Fragr. J*,17: 258–266.

N

Nakayama K., Nomoto A.M., Nishijima M and Maruyama T., 1997- Morphological and functional characterization of hemocytes in *Giant clam*. *Tridacna crocea*. *J Invertebr Pathol.* 69 (2): 105-11.

Nappi A.J., Frey F and Carton Y., 2005- *Drosophila* serpin 27A is a likely target for immune suppression of the blood cell-mediated melanotic encapsulation response. *Journal of Insect Physiology*,51 :197–205.

Nardi J.B., Pilas B., Ujhelyi E., Garsha K., Kanost M.R., 2003- Hematopoietic organs of *Manduca sexta* and hemocyte lineages. *Dev Genes Evol.* 213:477–491.

Nardi J.B., Gao C., Kanost M.R., 2001- The extracellular matrix protein lacunin is expressed by a subset of hemocytes involved in basal lamina morphogenesis. *J. Insect Physiol.* 47 : 997–1006.

Nardi J.B., Pilas B., Bee C.B., Zhuang S., Garsha K and Kanost M.R., 2006- Neuroglialpositive plasmatocytes of *Manduca sexta* and the initiation of hemocyte attachment to foreign surfaces. *Developmental and Comparative Immunology* 30,neuron-specific odor receptor expression. *PLoS Biol. Sciences of the United States of America* 98 : 10190–10197.

Ngamo L.S., Tamgno B.R., and Gandebe M 2016- Bioactivity of flours of seeds of leguminous crops *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris* and *Glycine max* used as botanical insecticides against *Sitophilus oryzae* Linnaeus (Coleoptera: Curculionidae) on sorghum grains. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 10(3): 919-927.

Nicole M.C., 2000- Les relations des insectes phytophages avec leurs plantes hôtes. *Bulletin de la société d'entomologie du Québec*. *Antennae*, 9 (1), pp 5-9.

Niimura Y., 2009-On the Origin and Evolution of Vertebrate Olfactory Receptor Genes: Comparative Genome Analysis Among 23 Chordate Species. *Genome. Biol. Evol.* 1(1): 34–44.

Nixon M and McCaw M., 2001- *The Compleat Distiller*. The Amphora Society PO Box 51-231 Pakuranga Auckland 1706 New Zealand, p 154.

Noel D., Bachere E and Mialhe E., 1994- Phagocytosis associated chemiluminescence of hemocytes in *Mytilus edulis* (Bivalvia). *Developmental and Comparative Immunology*,17 : 483-493.

O

Ohgushi H., Okumura M., Yoshikawa T., Inoue K., Senpuku N and Tama S., 1992-Bone formation process in porous calcium carbonate and hydroxyapatite. *Journal of Biomedical Materials Research*. 26 : 885-895.

Okoh O.O., Sadimenko A.A and Afolayan A.J., 2007-The effect of age on the yield and composition of the essential oils of *Calendula officinalis*. *J Appl Sci* 7:3806–3810.

Ottaviani E., 2005- Insect immunorecognition, *ISJ* 2: 142-151.

Ottaviani G., Maturri L., Mingrone R and Lavezzi, A.M., 2006. Hypoplasia and neuronal immaturity of the hypoglossal nucleus in sudden infant death. *J Clin Pathol*. 2006. 59(5): 497–500.

Ouakid M.L., 2006- Bioécologie de *Lymentria dispar* (Lepidoptera Lymendriidae) dans les subéries d'El Taref : Comportement alimentaire et essais insecticides, Thèse université Badji Mokhtar, Annaba, p 76.

P

Padré J., 1957- La Productivité des Forêts de Pin d'Alep en France. à la Ir^o Section de la Station de Recherches et Expériences forestières. De pin d'Alep en France, pp 368- 414.

Paillard C., Ashton-Alcox K.A and Ford S.E., 1996- Changes in bacterial densities and hemocyte parameters in eastern oysters, *Crassostrea virginica*, affected by juvenile oyster disease. *Aquatic Living Resources*. 1996. 9 (2): 114 -158.

Pandey A., Yoon H., Lyver E.R., Dancis A and Pain D., 2008- Identification of a Nfs1p-bound persulfide intermediate in Fe–S cluster synthesis by intact mitochondria. *Mitochondrion* 12 : 539–549.

Pandey M., Patel S.S and Gabriel A., 2012- Kinetic Pathway of Pyrophosphorolysis by a Retrotransposon Reverse Transcriptase. *PLoS ONE*. 1(1389), pp 1-11.

Pathak J.P.N., 1993- Insect Immunity. Series Entomologica, Book 48. Springer; Softcover reprint of the original 1st edition, pp 192.

Pauli A., 2011- Antimicrobial properties of essential oil constituents. *The international journal of aromatherapy*, 11 (3) : 1-8.

Pavela R., Kaffkov a K and Kumsta M., 2014- Chemical Composition and Larvicidal Activity of Essential Oils from Different Mentha L. and Pulegium Species against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae), 50 (1): 36–42

Persson M., Vey A and Soderhall K., 1986- Encapsulation of foreign particles in vitro by separated blood cells from crayfish, *Astacus leptodactylus*. Cell Tissue Res, 247:409 415.

Phasomkusolsil S and Soonwera M., 2011-Comparative mosquito repellency of essential oils against *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison) and *Culex quinquefasciatus* (Say) Asian Pac. J Trop Biomed, 1:113–118.

Pibiri M.C., 2005- assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse école polytechnique fédérale de Lausanne, p 177.

Picimbo J.F., 2002- Les péri-récepteurs Chimiosensoriels des insectes. Médecine sciences 18 : 94-1089.

Picimbon J.F., Dietrich K., Krieger J and Breer H., 2001- Identity and expression pattern of chemosensory proteins in *Heliothis virescens* (Lepidoptera, Noctuidae). Insect Biochemistry and Molecular Biology 31 : 1173–1181.

Pierron C., 1989- Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs. Thèse université de Lorraine, p 257.

Piochon M., 2008-Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne composition chimique, activités pharmacologique et hémi- synthèse. These université de Québec, Chicoutimi, p 213.

Poirot T., 2016- Bon usage des huiles essentielles, effets indésirables et toxicologique. Thèse université Lorraine, p 97.

Prabuseenivasan S., Jayakumar M and Ignacimuthu S., 2006- In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. BMC Complementary and Alternative Medicine, pp 6:39.

Prajapati V., Tripathi A.K., Aggarwal K.K and Khanuja S.P.S., 2005- Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. Bioresource Technology 96 :1749–1757.

Q

Quezel P and Barbero M., 1992-le pin d'Alep et les espèces voisines. Forêts méditerranéennes, pp 158-170.

Quezel P., 1980.Biogéographie et écologie des conifères sur le pourtour méditerranéen. Actualité d'écologie forestière. Édition Gautier-Villars, p 205-255.

Sghaier T., Ammari Y., 2002. Croissance et production du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) en Tunisie. Ecologia mediterranea, 38 (1) : 40-56.

R

Raffa K.F., Havill N.P and Nordheim E.V., 2002- How many choices can your test animal compare effectively? Evaluating a critical assumption of behavioral preference tests. Oecologia 133:422–429.

Rajendran S., Sriranjini V., 2008- Plant products as fumigants for stored product insect control. J Stored Prod Res, 44:126–135

Ratcliffe, N.A., 1993- Cellular defense responses of insects: unresolved problems. In: Beckage, N.E., Thompson, S.N., Federici, B.A. (Eds.), Parasites and Pathogens of Insects, vol. 1. Academic Press, San Diego, CA, pp. 267–304.

Ratcliffe, N.A., Leonard, C and Rowley, A.F., 1984. Prophenoxidase activation: nonself recognition and cell cooperation in insect immunity. Science 226, 557–559.

Ratcliffe, N.A., Rowley and A.F., 1979- Role of hemocytes in defense against biological agents. In: Gupta, A.P. (Ed.), Insect Hemocytes. Cambridge University Press, pp. 332–400.

Ratcliffe, N.A and Walters, J.B., 1983- Studies on the in vivo cellular reactions of insects: clearance of pathogenic and non-pathogenic bacteria in *Galleria mellonella* larvae. Journal of Insect Physiology 29 :407–415.

Raymond L., 2009- Chenille Processionnaire du pin. De fortes défoliations. Pas d'affolement! Point de la situation sur le Massif Landais hiver 2009-2010. Santé des Forêts Aquitaine et Midi-Pyrénées, pp 1-4.

Raymond M., 2005- L'Aromathérapie chez le nourrisson et le petit enfant. These université de Nantes. Novembre, p101.

Rheuben, M.B., 1992. Degenerative changes in the muscle fibers of *Manduca sexta* during metamorphosis. Journal of Experimental Biology 167: 91–117.

Rhodes M.J.C., 1994- Physiological roles for secondary metabolites in plants: some progress, many outstanding problems. *Plant Molecular Biology*, 24: 1-20.

Ribeiro C and Brehélin M., 2006. Insect haemocytes: What type of cell is that? *J. Insect Physiol.* 52, 417–429.

Ribeiro, C., Simoes, N and Brehelin, M., 1996. Insect Immunity: the haemocytes of the Armyworm *Mythimna unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae) and their role in defence reactions. *In vivo* and *in vitro* studies. *J. Insect Physiol.* 42 : 815–822.

Rigolot E and Fernandes P., 2005- Ecologie du pin maritime en relation avec le feu et gestion des peuplements pour leur protection contre les incendies. Le pin maritime en région méditerranéenne, pp 97- 110.

Rivière J., 2011- Les chenilles processionnaires du pin : Evaluation des enjeux de santé animale. Thèse université de Créteil. Avril 2011, p 206.

Rizwan Ul Haq., Sabi M.A and Rashid A., 2005- Toxicity of Nicotinyl Insecticides on the Haemocytes of Red Cotton Bug, *Dysdercus koenigii* (Fb.) (Pyrrhocoridae: Hemiptera). *Journal of agriculture and social sciences* 01(3) :239–241.

Robinet C., Rousset J and Roques A., 2013-Potential spread of the pine processionary moth in France: preliminary results from a simulation model and future challenges. *Annals of Forest Science.* 71:149–160.

Rolfand J and Siva-Jothy M.T., 2003. Invertebrate Ecological Immunology. *Science*, 301 : 472-475.

Ryan M.F and Byrne O., 1988- Plant insect coevolution and inhibition of acetylcholinesteras *Journal of Chemical Ecology*, 14(10) : 1965-1975.

S

Salhi S., Fadli M., Zidane L and Douira A., 2010- Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa*, 1: 133-146.

Santoyo I.G and Aguilar A.C., 2011- Phenoloxidase: a key component of the insect immune system. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 142: 1–16.

Sbajdji M 1997- Contribution à l'étude de la perte de croissance de (*Cedrus Atlantica*) Manetti suite aux attaques de la processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa Schiff*). Thèse école national d'agronomie INA, Alger, p 122.

Sbabdji M., Lambs L., Haddad A and Kadik B., 2015- effect of periodical defoliations by *thaumetopoea pityocampa* Schiff on Radial growth in cedar woodland in chréa Algéria. *Revue d'Ecologie (Terre et Vie)* 70 (4): 371-386.

Schmid-Hempel P 2005. Evolutionary ecology of insect immune defenses. *Annual Reviews Entomology. Annu Rev Entomol* 50 : 529-551.

Schoonhoven L.M., Loon J.J.A.V and Dicke M 2005- *Insect-Plant Biology*. Oxford biology, p 448

Seghiri R and Khouja M.L., 2009- Comportement des provenances de pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) dans le semi aride tunisien. Comportement des provenances de *P. halepensis* Mill. *Annales de l'INRGREF* 13 : 89-106

Seghiri R., 2008- Recherche et détermination structurale de Métabolites secondaires de *Linaria atlantica* bois et reut. Thèse université Mentouri, Constantine, p 142.

Sendi J.J., Ebadollahi A., 2014- Biological Activities of Essential Oilson Insects. *Essential Oils–II*, 37 : 130-150.

Sideri M., Tsakas S., Markoutsia E., Lampropoulou M., and Vassilis J. Marmaras., 2007- Innate immunity in insects: surface-associated dopa decarboxylase-dependent pathways regulate phagocytosis, nodulation and melanization in medfly haemocytes. *Immunology*, 123 :528–537.

Shan B., Cai Y.Z., Sun M and Coreke H., 2005- Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents. *J. Agric. Food Chem.*53, 7749-7759.

Shaaye E., Ravid U., Paster N., Juven B., Zisman U and Pissarev V., 1991- Fumigation toxicity of essential oils against four major stored product insects. *Journal of Chemical Ecology*, 17(03) :499-554

Silva W.J., Dória G.A.A., Maia R.T., Nunes R.S., Carvalho G.A., Blank A.F., Alves P.B., Marçal R.M and Cavalcanti S.C.H., 2008- Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: alternatives to environmentally safe insecticides. *Biores Technol*, 99:3251–3255.

Slansky F J.R and Rodriguez J.G., 1987- Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates. New York : Wiley, p 1016.

Smith V.J., Ratcliffe N.A., 1980- Cellular defense reactions of the shore Crab. *Carcinus maenas* : In vivo hemocytic and histopathological responses to injected Bacteria. *Journal of Invertebrate oathology* 35,65-74.

Smith, C.K.; Moore, C.A.; Alahi, E.N.; Smart, A.T and Hotchkiss, S.A. 2000. Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 168 :189-99. Piochon M., 2008- Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne composition chimique, activités pharmacologique et hémisynthèse. These université de Québec, Chicoutimi, Aout, p 213.

Soderhall K and Cerenius L., Role of the prophenoloxidase-activating system in invertebrate immunity. *Current Opinion in Immunology* 1998, 10:23-28.

Soltani N., Aribi N and Rizk G., 1988- Etude de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff (Lepidoptera, Notodontidae) et effets de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Annals Soc. ent. Fr. (NS)* 24(4) : 377-500.

Sonboli A., Babakhani B and Mehrabian A.R., 2006-Antimicrobial Activity of Six Constituents of Essential Oil from *Salvia*. *Antimicrobial Activity of Salvia Essential Oils*, pp 160-165.

Stam J.M., Kroes A., Li Y., Gols R., Loon J.J.V., Poelman E.H and Dicke M., 2014- Plant Interactions with Multiple Insect Herbivores: From Community to Genes. *Annu. Rev. Plant Biol.* 65:689–713.

Stamati P.N., Maipas S., Kotampasi C., Stamatis P and Hens L., 2016-Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture, *Front. Public Health* 4:148.

Stotz E.U., Kroymann J and Olds T.M., 1999- **Plant-insect interactions.** *Current Opinion in Plant Biology*, 2: 268-272.

Strand M.R and Pech L.L., 1995- Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. *Annu Rev Entomol.* 40: 31-56.

Strand, M.R., 2008- The insect cellular immune response. *Insect Sci.* 15, 1–14.

T

Theus S.A., Lau K.A., Tabor D.A., Soderberg L.S.F and Barnett G.B 1992- In vivo prenatal chlordane exposure induces development of endogenous inflammatory macrophages. *Journal of Leukocyte Biology*, pp 366-372.

Tojo, S., Naganuma, F., Arakawa and K., Yokoo, S., 2000- Involvement of both granular cells and plasmatocytes in phagocytic reactions in the greater wax moth, *Galleria mellonella*. *J. Insect Physiol.* 46 :1129–1135.

Turgeon M., 2001-Profil des produits forestiers, premières transformation des huiles essentielles, Ministère des Ressources naturelles Secteur des forêts. Direction du développement de l'industrie des produits forestiers, pp 1-21.

Tripathi., A.K., Upadhyay S., Bhuiyan M and Bhattacharya P.R., 2009- A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management, *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* 1(5) : 1-13.

V

Vet L.E.M and Dicke M., 1992- Department of Entomology, Wageningen Agricultural University, PO Box 8031, 6700 EH Wageningen, The Netherlands. *Annu. Rev. Entomol.* 37:141-72.

Vila R., Mundina, M., Tomi, F., FurSanR., Zacchino S., Casanova J and Canigüel S. 2002. Composition and antifungal activity of the essential oil of (*Solidago chilensis*). *Planta med.* 68, 164-167.

Piochon M., 2008-Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne composition chimique, activités pharmacologique et hémisynthèse. These université de Québec, Chicoutimi, p 213.

Vogelweith F., 2013- Effet de la plante hôte sur l'immunité des insectes phytophages : influence du cépage de vigne sur la capacité des vers de la grappe à se défendre contre des bio-agresseurs. Université de Bourgogne, p 230.

W

Wang Z., Lu A., Li X., Shao Q., Beerntsen B.T., Liu C., Ma Y., Huang Y., Zhu H and Ling E., 2011- A systematic study on hemocyte identification and plasma prophenoloxidase from *Culex pipiens quinquefasciatus* at different developmental stages. *Experimental Parasitology* 127 : 135–141

Warot S., 2006- Les Eucalyptus utilisés en Aromathérapie. Mémoire de fin de formation en Phyto-aromathérapie. Avril, p 31.
processionary-moth.

Webographie 01:<https://www.detentejardin.com/en-pratique/petite-faune/lamesange-bleue-3032>

Webographie02 : <https://www.aroma-zone.com/tous-nos-produits/extraits-naturels/huiles-essentielles.html>.

Webographie 03: <https://www.google.com/intl/fr/earth/>.

Webographie 04:<http://monographies.caci.dz/index.php?id=606>

White K.N and Ratcliffe N.A., 1982- The segregation and elimination of Radio and Fluorescent Labelled marine Bacteria from the Haemolymph of the shore crab (*Carcinus Maenas*). *J. mar. biol. Ass. U.K.* 62 :819-833

Whiteman N.K and Pierce N.E., 2008- Delicious poison: genetics of *Drosophila* host plant preference. *Trends Ecol Evol*, 23:473–8.

Dippel S., Kollmann M., Oberhofer G., Montino A., Knoll C., Krala M., Rexer K.H., Frank S., Kumpf R., Schachtner J and Wimmer E.A. 2016- Morphological and Transcriptomic Analysis of a Beetle Chemosensory System Reveals Gnathal Olfactory Center. *BMC Biology*, pp 14:90

Whiteman S.A., Serazetdinova L., Jones A.M.E., Sanders D., Rathjen J., Peck S.C and Maathuis F.G.M., 2008-Identification of novel proteins and phosphorylation sites in a tonoplast enriched membrane fraction of *Arabidopsis thaliana*. *Proteomics*8 :3536–3547

Williamson E.M., Priestley C.M and Burgess I.F., 2007- An investigation and comparison of the bioactivity of selected essential oils on human lice and house dust mites. *Fitoterapia* 78 : 521–525

Wink M., 2003- Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry* 64 : 3–19.

X

Xie Y., Hu B., Wen C and Mu S., 2011- Morphology and phagocytic ability of hemocytes from *Cristaria plicata*. *Aquaculture* 310 : 245–251

Y

Yamashita M and Iwabuchi K., 2001-Bombyx mori prohemocyte division and differentiation in individual microcultures. Journal of Insect Physiology 47 : 325–331

Z

Zamoum M., Guendouz H and Deia D., 2007-Structure des communautés des ennemis naturels de *Thaumetopoea pyticampa* (Lep., Thaumetopoeidae) sur pin d'Alep en Algérie subsaharienne. Entomologica, Bari, 40:139-151.

Zamoum ., 1986 Instruction technique, réseau d'avertissement contre la processionnaire du pin juif. INRF , pp14.

Zhang Q. H., Schlyter F., Battisti A., Birgersson G and Anderson P 2003-Electrophysiological responses of *Thaumetopoea pityocampa* females to host volatiles: implications for host selection of active and inactive terpenes. Pest Science 76 : 103–107.

Zhou J., Y J.Q and Chen Z., 2014-The perplexing role of autophagy in plant innate immune responses. Molecular plant pathology. 15(6) : 637–645

Zhu B. C.R., Henderson G., Chen F., Fei H and Laine R.A., 2001- Evaluation of Vetiver oil and seven insect-actie essential oils against the formosan subterranean termite Journal of Chemical Ecology, 27 (08) : 1617-1626.

RESUME

Thaumetopoea pityocampa est l'un des plus importants insectes nuisibles dans le Nord-Est algérien, la région méditerranéenne et le centre d'Europe. Ce ravageur a engendré ces dernières années des dégâts naturels et humains considérables, c'est également un problème de santé public.

Pour bien comprendre le comportement écologique de l'insecte et pour cerner son effet néfaste et diminuer ses défoliations, nous avons réalisé une étude basée principalement sur la structure immunitaire de l'insecte, sur son comportement alimentaire et sur l'effet de certaines huiles essentielles vis-à-vis de la mortalité des chenilles de différents stades larvaires.

Les cellules les plus abondantes dans l'hémolymphe de l'insecte sont les prohemocytes, les plasmocytes et les granulocytes, le nombre de ces cellules augmentent d'un stade larvaire à l'autre. Ces cellules participent à plusieurs réactions immunitaires. Elles sont repérées lors des observations microscopiques des différentes formes d'encapsulation, de phagocytose, de mélanisation et de nodulation cellulaire.

Le traitement toxicologique aux huiles essentielles indique une activité larvicide variable d'une molécule à l'autre. L'huile de Cèdre et l'huile d'Eucalyptus sont les molécules les plus toxiques pour les chenilles de *Thaumetopoea pityocampa*.

Le comportement alimentaire des chenilles est réalisé par l'étude de l'attractivité olfactive des larves de *Thaumetopoea pityocampa* vers les différentes espèces de pin et de cèdre. Nous enregistrons des préférences plus au moins significatives lors des différents tests.

Mots clé : *Thaumetopoea pityocampa* – Prohemocytes – Mélanisation – Encapsulation.

SUMMARY

Thaumetopoea pityocampa is one of the most important insect pests in the north-eastern of Algeria, the Mediterranean area and the central of Europe. This pest has caused a lot of natural and human damages in the last years, it is also a public health problem.

To understand the ecological behavior of the insect and to define its harmful effect and reduce its defoliation, we carried out a study based on the immune structure of the insect, on its nutritional behavior and on the effect of four essential oils on the mortality of the caterpillars during the larval stage of the insect.

The most abundant cells identified in the hemolymph of the insect are prohemocytes, plasmocytes and granulocytes, the cells abundance increases from each larval stage to the next one. These cells participate in all immune reactions. They are identified during microscopic observations of the most forms of encapsulation, phagocytosis, melanization and cell nodulation reactions.

Toxicological treatment with essential oils indicates larvicidal activity among the different oils used. Cedar and Eucalyptus oils are the most toxic insecticides for *Thaumetopoea pityocampa* caterpillars.

The feeding behavior of the insect is achieved by studying the olfactory attractiveness of *Thaumetopoea pityocampa* larvae using different species of pine and cedar. We record variable preferences during the various tests.

Keywords: *Thaumetopoea pityocampa* - Prohemocytes -Mélánisation - Encapsulation.

تعتبر الدودة الجرارة *Thaumetopoea pityocampa* واحدة من أهم الحشرات المضرّة بالبيئة في محيط دول البحر الأبيض المتوسط ووسط أوروبا. تسببت هذه الآفة البيولوجية في الكثير من الأضرار الطبيعية والبشرية في السنوات الأخيرة ، كما تعتبر مصدر البعض المشاكل الصحية للإنسان والحيوان. لفهم السلوك البيئي للحشرة والحد من تأثيرها الضار في الطبيعة ، حققنا هذا العمل الذي يقوم أساسا على دراسة الخلايا المناعية للحشرة، دراسة سلوك تغذية اليرقات وتأثير بعض الزيوت المستخلصة من النباتات على وفاة اليرقات من الأطوار المختلفة.

الخلايا الأكثر وفرة في الهيولة اللمفوية هي : *prohemocytes, granulocytes et plasmacytes*، شاركت هذه الخلايا في عدة استجابات مناعية ضد الأجسام الغريبة من خلال بعض التفاعلات المجهرية مثل التغليف ، البلعمة ، التلطيخ والعقيدات. تم دراسة سلوك تغذية الحشرة عن طريق دراسة جاذبية اليرقات بحاسة الشم نحو مختلف أنواع الصنوبر. قمنا بتسجيل تفضيلات متفاوتة أثناء الدراسة.

كما أظهرت المعاملة السمية بالزيوت المستخلصة نتائج متفاوتة من مادة إلى أخرى. أكدت هذه الدراسة ان زيت الأرز وزيت الأوكالبتوس أكثر الزيوت السامة بالنسبة لليرقات.

الكلمات المفتاحية: *Thaumetopoea pityocampa*، الخلايا الكيمائية ، التبلور ، التغليف.



Technologies and Materials for Renewable Energy, Environment and Sustainability, TMREES18, 19–21
September 2018, Athens, Greece

Identification and Quantification of the Most Abundant Hemocytes in the Pine Processionary Caterpillar; *Thaumetopoea pityocampa* (Notodontidae)

Boudjahem Ibtissem^{a*}, Brivio Fransisco Maurizio^B, Berchii Selima^C, Mastore Maristella^D and Aouati Amel^c.

a Laboratory of Biosystematics and Ecology of Arthropods, *b* Laboratory of Comparative Immunology and Parasitology - DiSTA - University of Insubria – Varese Italy, *c* Higher National School of Biotechnology – Constantine, Algeria

Abstract

Thaumetopoea pityocampa is an important pine pest in the Mediterranean basin and central Europe. The insect is a butterfly, whose larvae are called pine processionary caterpillars. To understand the resistance mechanism of the insect in order to proceed of its control and to diminish their effect in nature, it was necessary to study of the immune system and reactions of the larva in different stages. The aim of our work is to identify the hemocytes formula of the caterpillar during the larval stages L2, L3, and L4, as well as the quantification of the different cells during each stage. After extraction of the hemolymph by centrifugation, the cells were placed in culture medium and then incubated. Microscopic observation has shown that prohemocytes population appear early in hemolymph, they differentiate into plasmatocytes and granulocytes during the advanced stages. However, the quantification process (THC), carried out in a Malassez counting chamber has shown that granulocytes are the most abundant cell population in the hemolymph of the insect larvae. To investigate the role of hemocytes in immune responses, we have co-incubated *T. pityocampa* cells with bacteria, entomopathogenic nematodes, and synthetic beads. Both humoral and cellular encapsulation processes have been observed early in larval stages, all hemocytes seem to be involved in the formation of nodules and capsules against bacteria and microbeads. At the opposite, entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) were not recognized and encapsulated, but their presence can strongly damage host hemocytes.

© 2019 The Authors. Published by Elsevier Ltd.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Selection and peer-review under responsibility of the scientific committee of Technologies and Materials for Renewable Energy, Environment and Sustainability, TMREES18.

Key words: *Thaumetopoea pityocampa*, prohemocytes, plasmatocytes, granulocytes, encapsulation.

* Corresponding author. Tel.: +0-000-000-0000 ; fax: +0-000-000-0000 .

E-mail address: boudjahemibtissem@gmail.com

1. Introduction :

Insect's immunity consists of both, humoral and cellular reactions[4]. The humoral reactions include the production of antibacterial, peptides and enzymatic complex of coagulation or melanization in hemolymph[21] and [19]. In contrast, cellular reactions consist of hemocytes-mediated immune responses, representing by the activity of circulating cells in different forms such a phagocytosis, nodule formation and encapsulation [16].

The phagocytosis is a process aimed to eliminate foreign particles, usually single cells, as bacteria or protozoa; the process follows few steps: recognition, attachment, pseudopodia formation, engulfing and finally intracellular lysis of foreign body [3]. If not-self invasions carried out by larger organisms, encapsulation takes place, thus the formation of a multilayered capsule of hemocytes that surround the foreign organism occasionally. Host hemocytes can also form nodules to entrap groups of bacteria; this reaction is conventionally named nodulation [11].

Thaumetopoea pityocampa, also known as pine processionary, is a moth of the Notodontidae family; this insect is an important pine forest pest in Europe and in all Mediterranean area[20]. The Lepidopteran insect is also characterized by the presence of different populations of hemocytes freely circulating in the hemolymph, they mediate all the cellular reactions, comprising phagocytosis of small microorganisms and formation of nodules and capsule around foreign particles. Considering the remarkable development of experimental methods to collect cells and to classify the different hemocyte types [6] and in order to understand the immune system of *T. pityocampa*, an accurate identification of hemocytes sub-populations is an essential starting point to study of immune processes.

Our main goal is to study the hemocytes formula of *Thaumetopoea pityocampa*, firstly by proceeding the cells quantification in the hemolymph during the larval life, then by the identification of cells populations in each instar. Moreover, we have started to investigate some humoral and cellular reactions of the insect studying different immunological and cellular responses in larval stage when in absence and presence of entomoparasitic nematode (*Steinernema*), (*Escherichia coli*) as a bacteria or synthetic microbeads.

2. Material and methods

2.1. Hemolymph collection

Processionary moth larvae were been checked to select the healthy and bigger ones; we used about 10 to 15 larvae in each instar. Before proceed to the centrifugation, larvae were washed with ethanol extensively (several times) to sterilize them. Small larvae were been injured, by cutting the lower and the tail regions, and were placed inside a *double Eppendorf system* built with two different Eppendorf tubes (the big outside and the small inside). The small was previously perforated at the bottom to allow the hemolymph to flow out in the bigger tube, but retaining the fragments of the larvae body.

Centrifugations were been made at 1200 rpm in a refrigerated eppendorf centrifuge model (5804R centrifuge, for 10 minutes at 10°C). From late instar larvae, we extracted the haemolymph by puncturing the ventral side of the insect. After centrifugation, hemocytes from 2nd, 3rd and 4th instars, cells were been collected and separated from the humoral fraction of the haemolymph. Hemocytes were cultured in Grace Medium, and then observed by phase contrast light microscopy.

2.2. Culture medium conditions

After centrifugation, humoral fraction was collected and discarded; pelleted cells were washed with grace insect medium. The procedure was repeated twice to avoid contamination of tissues or cells debris. Hemocytes were suspended in a complete culture medium (10% fetal calf serum, 1% antimycotic antibiotic, 1% glutamine in Grace Medium). The cells were cultured in 96 Micro well plates (cluster cell cultures, flat bottom, Iwaki). And kept at 25-26 °C in a moistened incubator (Cellstar) without CO₂. As reported in literature the most common populations of insect hemocytes are pro-hemocytes, granulocytes, plasmatocytes, spherulocytes, and oenocytoids[16].

2.3. Immune reactions and Light microscopy

For the observation, we used an inverted phase contrast light microscopy (Olympus IX51, Olympus INC), to investigate the cell-mediated responses and immunity reactions of *T. pityocampa* hemocytes against not-self reactions. Different responses have been monitored such as, the ability to encapsulate insects parasite, the bacteria nodulation focusing on the ability of the cells to recognize and encapsulate abiotic material (synthetic microbeads).

2.4. Total haemocytes count

The total haemocytes count (THC) is a measure of the concentration and abundance of haemocytes inside the hemolymph (cells/ml). For observation, we used light microscopy to identify and quantify the cells in hemolymph. An estimation of cells number from 2nd, 3rd and 4th larval instar, was calculated. The granulocyte cell number (THCg) can be estimated from the THC (cells/ml). Aliquots of hemocytes were used to determinate the granulocytes percentage in larval hemolymph; observation was realized on counting grids by adding a small quantity of hemolymph to a hemacytometer slider (Malassez). The cell formula in the 2nd instar was less abundant, this is why the dilution of the hemocytes was not necessary. The number of cells from the three instars was estimated in about 100 cubics. The percentage of hemocytes types were calculated, we also estimated the (THC) of all cells and for each hemocyte. A comparison between the (THC) of different stages was assessed.

2.5. Statistical analysis

We use analysis of variance (ANOVA) on XLStat, to investigate the differences between the cells quantification in each stage in order to identify the rhythm of their development along the larval stage. A comparison of the (THC) of different cells in each *Thaumetopoea pityocampa* instar has been also estimated.

3. Results

Since the first microscopic observations, many forms and cell aggregation were observed in *Thaumetopoeapityocampa* hemolymph. In early stages, cells abundance was less developed. Those forms increased in size and number along larval development of the larvae (Fig 1).

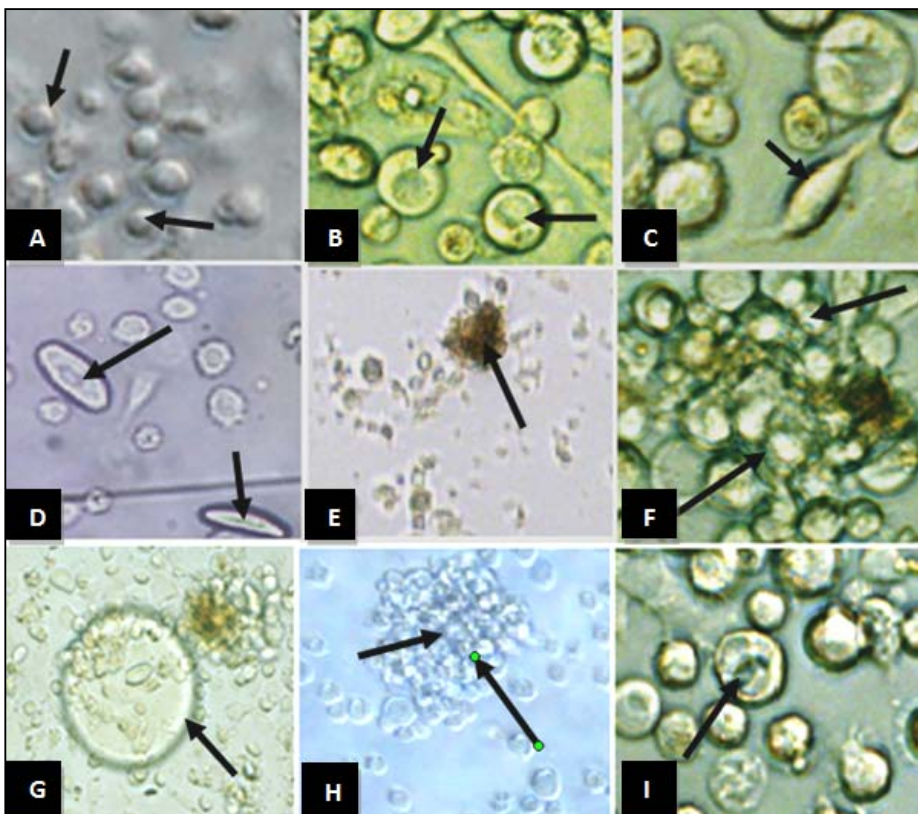


Fig. 1. Morphology of different types of Hemocytes, extracted from *T. pityocampa* larvae. Insect immunocompetent cells were purified from larvae hemolymph. (A) Prohematocytes, (B) Granulocytes, (C) Plasmatocyte, (D) Oenocytoids, (E) cellular debris, (F) cellular aggregation (G: 40x10). (G) Microbeaud, (H) Nodulation forms (G: 10x10) (I) Cell in mitotic features (G: 40x10)

3.1. Identification and quantification of cells

The total count of haemocytes in haemolymph of L₂ stage larvae was approximately of (75 x 10²)cells/ml, the number increased constantly to (250 x 10³)cells/ml in L₃ and to (63 x 10⁴) cells/ml in the L₄ stage. Granulocytes were the most abundant hemocytes observed in *T. pityocampa* hemolymph, from the 2nd to the 4th instar (Tab).

Table : Total cells abundance in different instars of *Thaumetopoeapityocampa*

| Instars | 2 nd instar | 3 rd instar | 4 th instar |
|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Cells/ml of hemolymph | 75 x 10 ² | 250 x 10 ³ | 63 x 10 ⁴ |

In the last instar, The most abundant cells are granulocytes, their HTC was about 208x10³ t cells / ml of hemolymph, followed by plasmatocytes that recorded an HTC equal to (113 x 10) cells / ml. The cells that recorded less abundance in the last development larval stage of *T. pityocampa* are prohemocytes with an HTC estimated at to (130 x 10) cells / ml of hemolymph. (fig. 2). We have demonstrated that the most important cells identified are Pro-hemocytes, plasmatocytes and granulocytes. Oenocytoidswere observed in 2nd instar, (fig. 1), their form was large, round and often contain granules. Their number was instable in the first instars. They were observed only in the first instars, they completely disappeared in the last instars(fig. 2). Cells evolution is estimated along the larval stage and compared between each one (fig. 2). The variance analyse of each value showed that all cells quantification increase significantly along the larval stage development (ANOVA, p < 0.05)

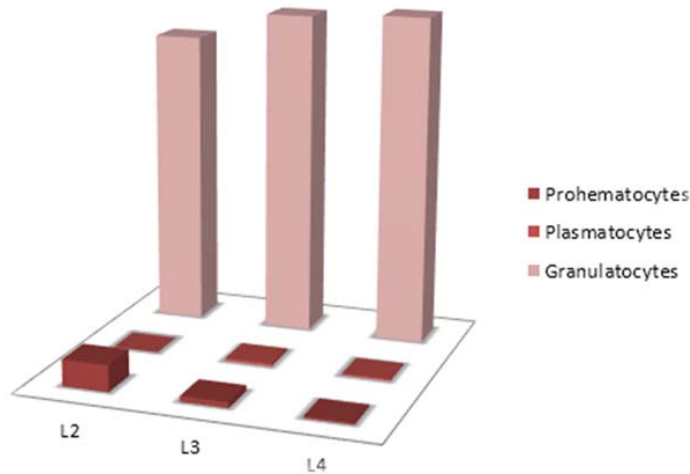


Fig. 2. Proportional counts Ratio of *Plasmatocyte*, *Granulocyte* and *Prohemocyte* and comparison of each instar level of each hemocyte in hemolymph of *thaumetopoeapityocampa* larvae.

3.2. Pro-hemocytes

They were the smallest cells found in hemolymph of *Thaumetopoeapityocampa*. They are described as precursor of all the immunocompetent cells in the early developmental stages, (fig. 1). These cells develop to plasmatocytes or granulocytes in late instars and their shape varied between oval or elongated profiles. Prohemocytes represent the 10% of all the Hemocytes of the first larval instar of *T. pityocampa*, and their number decrease in the last instars (fig. 3)

3.3. Granulocytes

They were rounded, or irregularly shaped cells. The nucleus was also generally a central position in the cytoplasm (fig. 1. a). The plasma emitted pseudopodia and filopodia in order to encapsulate foreign bodies. Granulocytes were the main cells in haemolymph of *T. pityocampa*, they represented 80-90% of total hemocytes population (fig. 3)

3.4. Plasmatocytes

were large spindle-shaped cells, which when adherent in culture plates, showed cell protrusions, such as pseudopodia and filopodia (fig. 1. c).

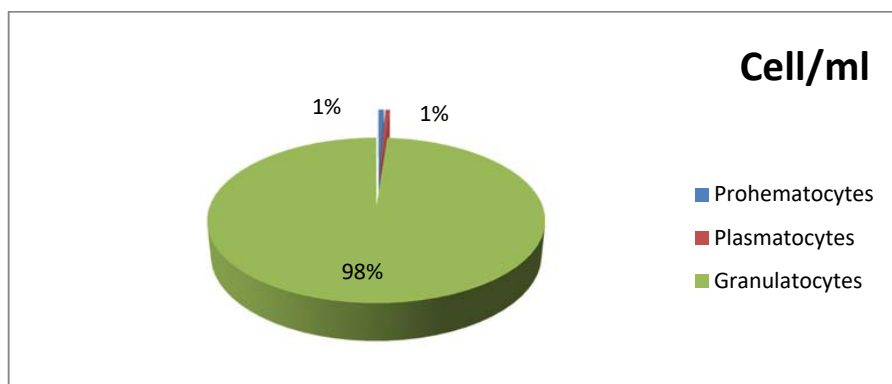


Fig. 3. Proportional HTC : Cells number per 1 ml of hemolymph of different hemocytes of *Thaumetopoeapityocampa* larvae in the last instar.

3.5. Encapsulation and phagocytosis

The hemocytes were examined by microscopy. Plasmatocytes, followed by pro-hemocytes were the most common cells in this insect. Pro-hemocytes were identified by their small size (fig. 1). When in culture medium, most of cell population identified participated with granulocytes in encapsulation processes, (fig. 4. b) forming a multilayered capsule around foreign bodies. Plasmatocytes were also involved in phagocytosis of bacteria. In *T. Pityocampa*, plasmatocytes represented 10-20% of total hemocytes (fig. 2).

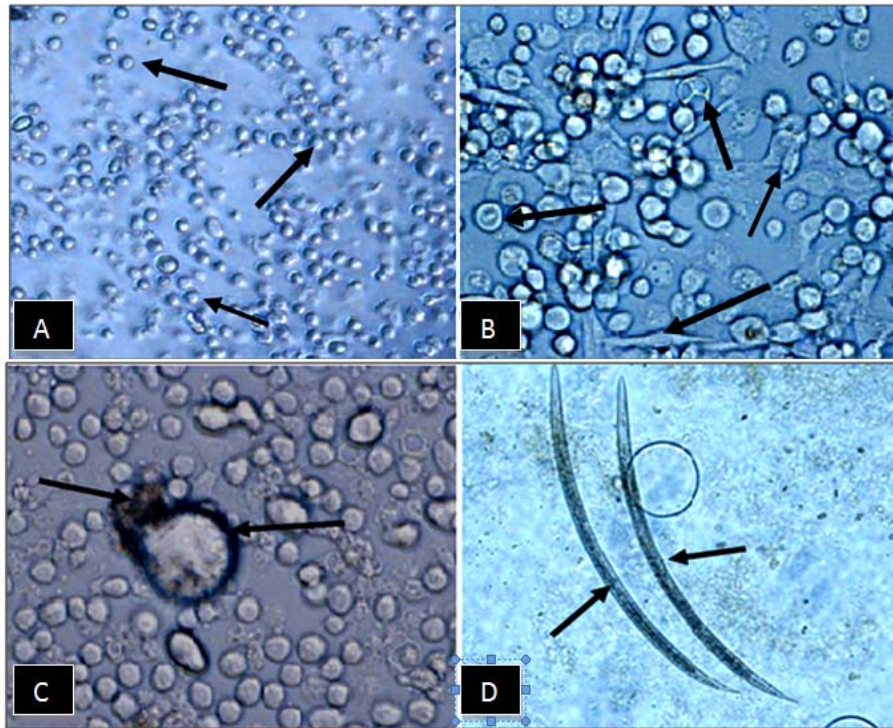


Fig.4. Phase-contrast microscopy showing different immunity reactions of cells of *Thaumetopoea pityocampa*. (A) Hemocytes morphology before being added to the culture medium (G: 10x10); (B) Cells morphology in grace medium (G: 40x10). (C) Nodulation: Hemocytes forming nodules and encapsulation around Bacteria Incubation (G: 40x10) (D) Parasites "*Steinernimacarpocapsae*" added to the medium, (G: 10x10).

In the assays with bacterial cells, used as not-self target, granulocytes contacted rapidly the microorganisms then they participated to phagocytosis processus in the medium (fig. 4). To investigate in deep the cellular encapsulation responses, parasites and free living nematodes were added at various times to cells medium culture of *T. pityocampa*. The ability of hemocytes populations to recognize and encapsulate worms was investigated. A considerable number of granulocytes reach the body- surface of free-living nematodes and bacteria; plasmatocytes also participate and completed the capsule. The profile of pro- hemocytes and plasmatocytes significantly changed after immune challenges (fig. 5. c).

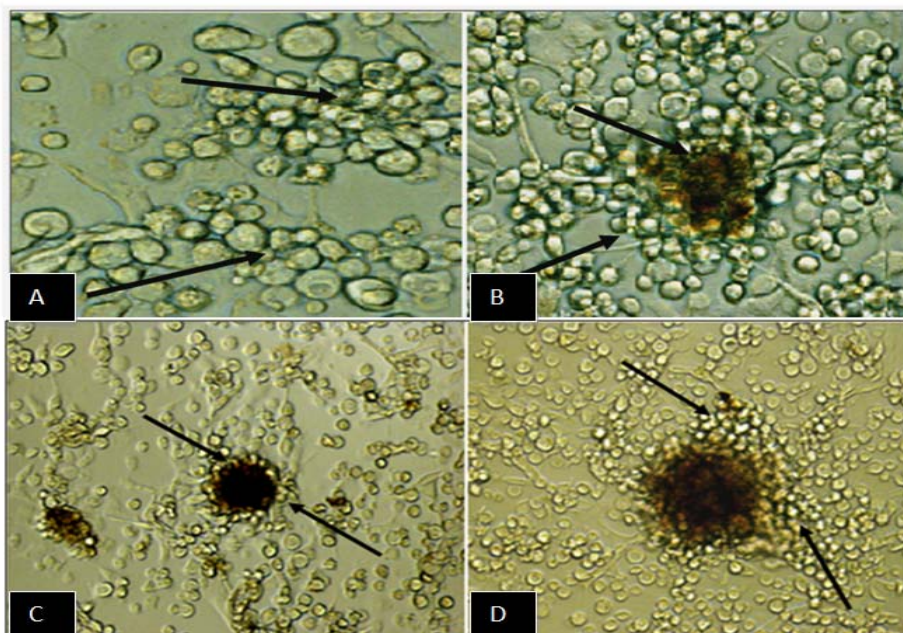


Fig.5. Phase-contrast microscopy showing different encapsulation reactions of in hemolymph of *Thaumetopoea pityocampa*. (A) Cells aggregation (G:40x10). (B) start of debris aggregation forming a simple humoral encapsulation (G:40x10). (C) humoral encapsulation (G:40x10). (D) Different cells aggregate around humoral fraction forming cellular encapsulation. (G: 10x10).

Humoral melanisation is a humoral immune response, which, in this case, cooperates with immuno-competent cells, by melanin synthesis and deposition, in the isolation of foreign elements from the host body. Insects use also melanisation to limit parasites trophic exchanges, enclosing the foreign target inside a hardened proteinaceous capsule. The microscopic observation of cells challenged with either bacteria or latex microbeads demonstrated that mainly plasmatocytes were able to phagocytise both beads and bacteria (fig. 4. c).

Aggregation of latex particles were not observed at any experimental time. Humoral encapsulation was the usually observed before cellular encapsulation, the debris in the hemolymph surround the nematode and the bacteria, cellular encapsulation appears later.

4. Discussion

In insects, immune resistance to diseases and infections is characterized by different immune reactions such as: phagocytosis, nodulation, encapsulation and melanisation [26]. Hemocytes are the main elements of cell-mediated immunity in insects [25]. They are able to phagocyte and eliminate both biotic particles, such as bacteria, and abiotic targets, such as synthetic beads [16]. In literature, haemolymph in many insects' species such coleopteran and lepidopteran are characterised by the presence of several cell types: prohemocytes, plasmatocytes, granulocytes, oenocytoids and adipo-hemocytes [24], [10], [1] and [14]. Many of these cells types have been also identified in *Thaumetopoea pityocampa* haemolymph. The most represented cells identified are prohemocytes, plasmatocytes and granulocytes.

The observation from 2nd to the 4th larval instar was successful and showed that pro-hemocytes and granulocytes were the most abundant cells. The plasmatocytes were present in the later stages (fig. 1. c). In the 2nd instar, pro-haemocytes were recognized by their small round shape; they represented only 8% of the cells observed, their number increased remarkably in the 3rd instar (fig. 2) and was unchanged in the last larval instar; which confirms that the pro-haemocytes differentiated to plasmatocytes and granulocytes after 2 days of incubation. The regular microscopic observation demonstrated that most of pro-haemocytes of the larvae, developed and transformed into plasmatocytes and granulocytes (fig. 1).

In *T. pityocampa*, plasmatocytes were recognizable by their elongated shape and pseudopodia (fig. 1. c), and the cell number increases during the larval stages. These cells represent the main cells in hematopoietic tissues in larvae and adults of *Carabus Lefebvrei* (Coleoptera, Carabidae) [7]. Functionally, as cells, they could be compared to macrophages of vertebrates. In our study, granulocytes were detected by their round shape (fig. 1. b). With 90%, they are the most abundant cells observed in each stage. Phagocytosis is the process used by immunocompetent cells to engulf particles and microorganisms [13] to be eliminated. In invertebrate, granulations are known to be the main cell type responsible for phagocytosis process and nodulation of foreign targets [5] and [12]. In the 4th instar, the main cells types and their capability to aggregation have been identified; the haemocytes retained their ability to react and encapsulated either synthetic microbeads or free-living nematodes (fig. 4. c). At this stage the larva reached immunity maturity.

So, at this instar humoral and cellular encapsulation, phagocytosis and nodules, have been observed in the presence of target (fig. 5) In other insects, different types of haemocytes could also perform phagocytosis, such as pro-haemocytes of *B. Mori larvae* [17] and oenocytoids of the grub *Cetonischema aeruginosa* [8]. The granulocytes of *P. Xylostella* are the only cells responsible of encapsulation.

Another study suggests that in mammals, macrophages, neutrophils and monocyte were the cells involved in phagocytosis [15] and [22]. While in *Manduca sexta* and *Blattella germanica*, encapsulation was also realised by granulocytes [9] and [18]. In some cases, the bacteria clearance involved both phagocytosis and process of nodulation. Concerning molluscs, all hemocytes participate to realise phagocytosis of different particles, such as bacteria, protozoan parasites, and latex beads. All hemocytes participate to realise phagocytosis of different particles, such as bacteria, protozoan parasites, and latex beads. [23] and [2].

5. Conclusion and Acknowledgements

Knowledge of the cell population in *T. pityocampa* is important for analyzing immune processes and to develop strategies for fight this pest insect that causes both damage to plants and for human health. The most cells identified are there participated of all immunity reactions process. After adding parasites and nematode, humoral and cellular reactions were more observed in all stages. Immunity of *Thaumetopoea pityocampa* is developed in the last instars then in the primary ones. The work was supported by the immune and parasitology laboratory in Italy.

6. References:

- [1] Arnold JW and Hinks CF 1976. Haemopoiesis in Lepidoptera. The multiplication of circulating haemocytes. *Revue Canadienne De zoologie* **54**: 1003-1012.
- [2] Balouet G, Poder M and Cahour A 1983 Haemocyte parasitosis: morphology and pathology of lesions in the French flat oyster, *Ostrea edulis*. *L Aquaculture* **34**: 1-14.
- [3] Bayne CJ 1900. Phagocytosis and non-self recognition in invertebrates. *Bio Science* **40** pp: 723.
- [4] Blandin S and Levashina EA 2004. Thioester-containing proteins and insect immunity. *Mol Immunol* **40**: 903-908.
- [5] Da Silva JB, de Albuquerque CMR, de Araujo EC, Peixoto CA and Hurd HH 2000. Immune defense mechanisms of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) against *Candida albicans*. *Journal Of Invertebrate Pathology*, **76**: 257-262.
- [6] Gardiner EMM and Strand MR 1999. Monoclonal antibodies bind distinct classes of hemocytes in the moth *Pseudoplusia includes*. *Insect Physiology*, **313**: 117-127.
- [7] Giglio A, Battistella S, Talarico FF, Brandmayr TZ and Giulianini PG 2008. Circulating hemocytes from larvae and adults of *Carabus (Chaetocarabus) lefebvrei* Dejean 1826 (Coleoptera, Carabidae): cell types and their role in phagocytosis after in vivo artificial non-self-challenge. *Micron* **39**: 552-558.
- [8] Giulianini PG, Bertolo F, Battistella S, and Amirante GA 2003. Ultrastructure of the hemocytes of *Cetonischema aeruginosa* larvae (Coleoptera: Scarabaeidae): involvement of both granulocytes and oenocytoids in in vivo phagocytosis. *Tissue Cells*, **35**: 243-251.
- [9] Han SS and Gupta AP 1989. Arthropod immune system. III. Septate junctions in the hemocytic capsule of the german cockroach, *Blattella germanica* (Diptera: Blattellidae). *Tissue and Cell* **20**: 629-634.

- [10] Hartenstein V 2006. Blood cells and blood cell development in the animal kingdom. *Annu Rev Cell Dev Biol* **22** : 677-712.
- [11] Herbinier J 2005. Contribution à la mise en évidence des effecteurs impliqués dans l'immunité innée d'*Armadillidium vulgare*, crustacé isopode terrestre infecté par une bactérie du genre *Wolbachia*. Thèse. pp. 9-10.
- [12] Jiravanichpaisal P, Lee BL and Soderhall K. 2006. Cell-mediated immunity in arthropods: hematopoiesis, coagulation, melanization and opsonisation. *Immunobiology*, **211** :213-236.
- [13] Jutras I and Desjardins M 2005. Phagocytosis: at the crossroads of innate and adaptive immunity. *Annu Rev Cell Dev Biol*, **21** : 511-527.
- [14] Kaaya GP and Ratcliffe N A. 1982. Comparative study of hemocytes and associated cells of some medically important dipterans. *J Morphol*, **173** : 351-365.
- [15] Lamprou I, Mamali I, Dallas K, Fertakis V, Lampropoulou M and Marmaras VJ 2007. Distinct signalling pathways promote phagocytosis of bacteria, latex beads and lipopolysaccharide in medfly haemocytes. *Immunology*, **121** : 314-327.
- [16] Lavine MD and Strand MR 2002. Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochemistry And Molecular Biology*, **32** (10): 1295-1309.
- [17] Ling E, Shirai K, Kanekatsu R and Kiguchi, K. 2005. Hemocyte differentiation in the hematopoietic organs of the silkworm, *Bombyx mori*: prohemocytes have the function of phagocytosis. *Cell Tissue Res*, **320** (3): 535-543.
- [18] Ling E and Yu XQ 2006. Cellular encapsulation and melanization are enhanced by immulectins, pattern recognition receptors from the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *Dev Comp Immunol* **30** (3): 289-299.
- [19] Lowenberger C 2011. Innate immune response of *Aedes aegypti*. *Insect Biochem Mol Biol*, **31** (3): 219-229.
- [20] Martin JK 2007. Futura nature science: Le cycle biologique de la processionnaire du pin. Dossier la processionnaire du pin. INRA. Planet. pp. 35.36.
- [21] Meister M 2000. The antimicrobial host defence of *Drosophila*. *Curr Top. Microbiol Immunol*, **248** : 17-36.
- [22] Ottaviani G, Maturri L, Mingrone R and Lavezzi, A.M. 2006. Hypoplasia and neuronal immaturity of the hypoglossal nucleus in sudden infant death. *J Clin Pathol* **59** (5): 497-500.
- [23] Paillard C, Ashton-Alcox KA and Ford SE 1996. Changes in bacterial densities and hemocyte parameters in eastern oysters, *Crassostrea virginica*, affected by juvenile oyster disease. *Aquatic Living Resources*, **9** (2): 114-158.
- [24] Rowley AF and Ratcliffe NA 1981. Insects. *Invertebrate Blood Cells*. Academic Press, London. pp. 421-488.
- [25] Rolffand J and Siva-Jothy MT 2003. Invertebrate Ecological Immunology. *Science*, **301** : 472-475.
- [26] Schmid-Hempel P 2005. Evolutionary ecology of insect immune defenses. *Annual Reviews Entomology*. *Annu Rev Entomol* **50** : 529-551.

Année universitaire : 2019/2020

**Présentée par : Melle
Boudjahem ibtissem**

Intitulé : Bioécologie de la processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Lepidoptera* ; *Thaumetopoeidae*) dans la région de Guelma. Effet de certaines molécules sur la formule hémocytaire

Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en Sciences

RESUME

Thaumetopoea pityocampa est l'un des plus importants insectes nuisibles dans le Nord-Est algérien, la région méditerranéenne et le centre d'Europe. Ce ravageur a engendré ces dernières années des dégâts naturels et humains considérables, c'est également un problème de santé public.

Pour bien comprendre le comportement écologique de l'insecte et pour cerner son effet néfaste et diminuer ses défoliations, nous avons réalisé une étude basée principalement sur la structure immunitaire de l'insecte, sur son comportement alimentaire et sur l'effet de certaines huiles essentielles vis-à-vis de la mortalité des chenilles de différents stades larvaires.

Les cellules les plus abondantes dans l'hémolymphe de l'insecte sont les prohemocytes, les plasmocytes et les granulocytes, le nombre de ces cellules augmente d'un stade larvaire à l'autre. Ces cellules participent à plusieurs réactions immunitaires. Elles sont repérées lors des observations microscopiques des différentes formes d'encapsulation, de phagocytose, de mélanisation et de nodulation cellulaire.

Le traitement toxicologique aux huiles essentielles indique une activité larvicide variable d'une molécule à l'autre. L'huile de Cèdre et l'huile d'Eucalyptus sont les molécules les plus toxiques pour les chenilles de *Thaumetopoea pityocampa*.

Le comportement alimentaire des chenilles est réalisé par l'étude de l'attractivité olfactive des larves de *Thaumetopoea pityocampa* vers les différentes espèces de pin et de cèdre. Nous enregistrons des préférences plus au moins significatives lors des différents tests.

Mots clés : *Thaumetopoea pityocampa*, prohemocytes, mélanisation, Encapsulation.

Laboratoire de recherche de : Biosystematique et Ecologie des Arthropodes