

Evaluation du pouvoir insecticide de deux mimétiques de l'hormone de mue (Halofénozide et Méthoxyfénozide) sur les stades immatures de *Lymantria dispar*, principal défoliateur du chêne-liège

Mohamed Laid Ouakid^a, Yasmine Adjami^a, Waffa Habbachi^a, Rym Ghanem^a, Hiba Daas^a, Abdelkrim Tahraoui^a

Résumé : La spongieuse *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Lymantriidae) est l'un des plus importants ravageurs des subéraies. Il apparaît de manière cyclique et provoque de graves défoliations du chêne-liège. En Algérie, *L. dispar* a été signalé depuis 1925 et la lutte contre ce défoliateur majeur s'appuie essentiellement sur des insecticides chimiques. Dans cette étude, nous avons évalué l'effet insecticide du halofénozide et du méthoxyfénozide contre les larves de *L. dispar*. Ces deux molécules appartiennent à une nouvelle génération de régulateurs de croissance des insectes qui imitent les hormones de mue ou ecdystéroïdes. Le Halofénozide est actif contre les Lépidoptères et les Coléoptères, le méthoxyfénozide est spécifique aux Lépidoptères. Le traitement des larves de *L. dispar* nous a permis de déterminer la toxicité et le mode d'action de ces deux insecticides et d'examiner son action différée sur la fécondité des adultes issus du traitement des larves. Nous avons calculé aussi les paramètres toxicologiques, comme on a mis en évidence un effet différé sur la fécondité et la fertilité, avec apparition de formes aberrantes de larve et d'adulte.

Mots-clés : *Lymantria dispar*, Algérie, Halofénozide, Méthoxyfénozide, Toxicité, Développement

Insecticidal effect of halofenozide and methoxyfenozide in different stages of *Lymantria dispar*, an important cork oak defoliator

Abstract: The gypsy moth *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Lymantriidae) is one of the most notorious pests of hardwood trees. It appears in cyclic way and provokes serious defoliations of the cork oak. In Algeria, *L. dispar* is reported since 1925 and the control of this defoliator consists of chemical insecticides and/or biological control tools. In this project we evaluated halofenozide and methoxyfenozide against larvae of *L. dispar*. These two molecules are member of a new generation of insect growth regulators that mimic the natural insect moulting hormones or ecdysteroids. Halofenozide is active against Lepidoptera and Coleoptera, while methoxyfenozide is more specific for Lepidoptera. We determined the toxicity and mode of action of these two insecticides by treatment of the larvae of *L. dispar*. In intoxicated larvae typical morphological aberrations during moulting/metamorphosis were observed leading to death. In addition, we noted in the surviving adults a strong negative effect on the fecundity and fertility. The results are discussed in relation to the susceptibility of the different stages of *L. dispar*.

Keywords: *Lymantria dispar*, Algeria, Halofenozide, Methoxyfenozide, Toxicity, Development

Halofenozid ve metoksifenozydün önemli bir mantar meşesi yaprak zararlısı olan *Lymantria dispar*'ın farklı evrelerinde insektisidal etkisi

Özet: Ağaç zararlısı *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Lymantriidae), set ağaçlar için en zararlı böceklerden biridir. Bu zararlı, periyodik olarak ortaya çıkmakta ve mantar meşesinin yapraklarına ciddi zararlar vermektedir. Cezayir'de, *L. dispar* 1925 yılından bu yana bildirilmektedir ve bu yaprak zararlısıyla mücadele kapsamında kimyasal insektisitler ve/veya biyolojik mücadele araçları kullanılmaktadır. Bu projede, *L. dispar* larvalarına karşı halofenozid ve metoksifenozyd kullanımını değerlendirdik. Bu iki molekül, doğal böcek tüy değiştirme hormonları veya ecdisteroidleri taklit eden yeni nesil böcek büyüme düzenleyicileri arasında yer almaktadır. Halofenozid Lepidoptera ve Coleoptera türlerine karşı etki gösterirken, metoksifenozyd Lepidoptera'ya karşı daha etkilidir. *L. dispar* larvalarına bu iki insektisidi uygulayarak toksisitesi ve etki mekanizmasını belirledik. Insektisid uygulanan larvalar tipik olarak tüy değiştirme esnasında ölümle sonuçlanan morfolojik sapmalar/ metamorfoz

✉ ^a Laboratoire de Neuro-Endocrinologie Appliquée. Département de biologie, BP 12, Faculté de sciences, Université Badji- Mokhtar 23000 Annaba; Algérie

@ * **Corresponding author** (İletişim yazarı): ouakidmomo@yahoo.fr

✓ **Received** (Geliş tarihi): 01.11.2014, **Accepted** (Kabul tarihi): 30.06.2015



Citation (Atf): Ouakid, M.L., Adjami, Y., Habbachi, W., Ghanem, R., Daas, H., Tahraoui, A., 2016. Evaluation du pouvoir insecticide de deux mimétiques de l'hormone de mue (Halofénozide et Méthoxyfénozide) sur les stades immatures de *Lymantria dispar*, principal défoliateur du chêne-liège. Turkish Journal of Forestry, 17(Special Issue): 80-84. DOI: [10.18182/tjf.97406](https://doi.org/10.18182/tjf.97406)

gözlemlenmektedir. Ayrıca, hayatta kalan erişkinlerin doğurganlığı ve fertilitesi üzerinde güçlü bir negatif etki tespit ettik. Sonuçlar, *L. dispar*'ın farklı evrelerde duyarlılığı açısından irdelenmektedir.

Anahtar kelimeler: *Lymantria dispar*, Cezayir, Halofenozid, Kromafenozid klorofenapir fenisobromolat, Toksikite, Geliştirme

1. Introduction

L. dispar est un insecte aux facultés de survie et au potentiel biotique tout à fait remarquables. Ces propriétés lui permettent de s'adapter rapidement à des environnements très variés, et expliquent le succès de son expansion. Du fait même de ces adaptations, les modes de vie et les facteurs de régulation des populations diffèrent d'un endroit à l'autre, voire d'une forêt à l'autre. Les généralisations ne sont pas possibles et les recherches originales restent indispensables (Fraval, 1989).

C'est aux U.S.A que l'effort de recherche a été le plus important. Doane et McManus (1981), indiquent que *L. dispar* n'est pas du tout maîtrisé, que son expansion géographique se poursuit, que ses pullulations sont imprévisibles et surtout que les modifications que l'homme apporte à la forêt sont favorables au ravageur, aucun aspect ne peut être considéré comme connu.

Le siècle dernier a enregistré des progrès significatifs dans la synthèse des pesticides. Cependant, les insecticides synthétiques ont vite montré leur agressivité envers des organismes non visés dont les insectes utiles, les mammifères et l'homme, en plus de leur persistance dans la nature qui perturbe les équilibres écologiques. Ces dernières années de nouveaux insecticides sélectifs agissant sur les processus physiologiques ou sur des sites biochimiques d'insectes cibles sont apparus.

Cette nouvelle approche a permis l'apparition de composés qui affectent le processus de la régulation hormonale de la mue et du développement chez les insectes comme les agonistes de l'ecdysone, les mimétiques de l'hormone juvénile et les inhibiteurs de la synthèse de la cuticule (Ishaaya et al., 1994, Dhadialla et al., 1998, Oberlander & Silhacek, 1998). Tous ces nouveaux composés sont utilisés contre les déprédateurs des forêts (Retnakaran, 1976), et contre les Lépidoptères (Ishaaya, 1990). Ils sont utilisés avec succès sur les larves de *L. dispar*, dans les programmes de lutte contre ce défoliateur majeur (Berry et al., 1993).

Le présent travail a pour but d'évaluer l'activité insecticide du halofenozide et du méthoxyfenozide contre les larves de *L. dispar*. Ces deux molécules appartiennent à une nouvelle génération de régulateurs de croissance des insectes qui imitent les hormones de mue ou ecdystéroïdes et d'examiner leur action différée sur la fécondité des adultes.

2. Matériel et méthodes

2.1. Elevage des chenilles

Un élevage de masse a été réalisé au laboratoire à partir des pontes prélevées dans les subéraies de l'Est Algérien en 2011. Les chenilles, placées dans des boîtes d'élevage de (30 x 20 x 15 cm) sont maintenues à une température de 26°C et une humidité relative de 75%, et nourries quotidiennement de feuilles fraîches de chêne-liège.

2.2. Les produits testés

Le méthoxyfenozide RH-2485 : Le méthoxyfenozide appartient à une classe chimique nouvelle d'insecticides. Cet insecticide est un agoniste de l'ecdysone qui contrôle une large gamme de larves des Lépidoptères à faible dose, il agit par ingestion, par contact et il peut agir aussi comme ovicide.

Le halofenozide RH 0345 : Le RH-0345 est le nom commun du N-butyl-N'-(4-chlorobenzoyl benzohydrazide) ; c'est un insecticide de nouvelle génération, de la classe des dibenzohydrazines ; agoniste des ecdystéroïdes qui perturbe le processus normal de la mue, il exerce une action active contre les Lépidoptères, Coléoptères, Homoptères et les Diptères (Smaghe & Degheele, 1995).

2.3. Protocole expérimental

Après des essais préliminaires, et à partir d'un produit commercial, nous avons retenus quatre concentrations pour nos expérimentations : 25 mg/l, 50 mg/l, 75 mg/l et 100 mg/l pour le halofenozide et le méthoxyfenozide. Chaque concentration est appliquée séparément à 3 séries de 15 larves (L2, L3, L4, L5) dans les 24h qui suivent la mue larvaire. Les larves du stade L1 n'ont pas fait l'objet de traitement du fait de leur extrême fragilité.

Le traitement est réalisé par pulvérisation jusqu'à ruissellement du produit sur des feuilles fraîches de chêne-liège. Des feuilles non traitées (aspergées d'eau) sont distribuées à une série de 15 larves servant de témoin. Après 24 heures, les feuilles traitées sont remplacées par des feuilles non traitées. La variable mesurée étant la mortalité journalière des chenilles. Les chenilles ont été maintenues en élevage jusqu'à la formation des chrysalides qui seront sexées et pesées, l'envol des adultes et la ponte. Les pontes feront mesurées dans leur plus grand diamètre et le nombre total d'œufs par ponte compté. On détermine aussi le nombre d'œufs viables par ponte, les œufs viables sont sphériques, turgescents, bien arrondis et l'embryon de la larve peut être visible à travers la coquille.

2.4. Analyse statistique

Le taux de mortalité larvaire corrigé selon Abbott (1925) donne une bonne indication de la toxicité réelle de la solution testée. Les taux de mortalité enregistrés pour les deux molécules des différentes concentrations utilisées sont normalisés par transformation angulaire, d'après les tables établies par Bliss (Fischer & Yates, 1957), font l'objet d'une analyse de la variance à un seul critère de classification. Le calcul de la plus petite différence significative (p.p.d.s) permet le classement des concentrations testées. Afin de caractériser le pouvoir insecticide de la molécule testée, nous avons déterminé la concentration létale 50% et 90% (DL 50, DL 90) selon le procédé mathématique de Finney (1971).

3. Résultats

3.1. Effet toxique direct

Activité insecticide du RH-0345 sur les larves de *L. dispar*

Les résultats du traitement des larves de tous les stades larvaires de *L. dispar* par le RH-0345 montrent un effet insecticide de cette molécule, les taux de mortalité peuvent atteindre 81% pour la concentration la plus élevée (Tableau 1). La mortalité des différents stades larvaires de *L. dispar* exposées au RH-0345 pendant 10 jours est significativement corrélée aux concentrations utilisées. Les paramètres toxicologiques sont consignés dans le tableau 2.

Activité insecticide du RH-2485 sur les larves de *L. dispar*

Les larves de tous les stades larvaires sont sensibles au RH-2485. Nous enregistrons des taux de mortalité pour les 4 concentrations utilisées, cette mortalité atteint 92% pour la concentration la plus élevée ce qui traduit un effet insecticide du produit utilisé (Tableau 3). La mortalité des différents stades larvaires de *L. dispar* exposées au RH-2485, pendant 10 jours, est significativement corrélée aux

concentrations utilisées. Les paramètres toxicologiques sont consignés dans le tableau 4.

3.2. Effet toxique différé

Parallèlement à son action larvicide sur *L. dispar*, le RH-0345 agit sur certains paramètres du développement de l'insecte, comme le poids des chrysalides mâles et femelles, la taille de la ponte et le nombre d'œufs par ponte. Le taux d'œufs arrivant à maturité peut également être affecté. Chez les chrysalides femelles issues de larves traitées, on note également une diminution importante du poids corporel par rapport aux témoins ($t = 17,88$; $p < 0,0001$) (Tableau 5). La taille de la ponte, le nombre d'œufs par ponte et le nombre d'œufs non viables sont affectés dans le même sens. Les femelles adultes issues des larves traitées donnent des pontes significativement plus petites que celles issues des larves témoins ($t = 13,32$; $p < 0,0001$) et un nombre d'œufs significativement plus faible ($t = 12,08$; $p < 0,0001$). De plus, le nombre des œufs qui n'arrivent pas à maturité est significativement plus élevé que chez ceux pondus par des insectes non traités ($t = 17,49$; $p < 0,0001$) (Tableau 5). Nous n'enregistrons aucun effet toxique différé du méthoxyfénazole.

Tableau 1. Activité insecticide du RH-0345 en fonction de la concentration sur la mortalité corrigée (%) des différents stades larvaires de *L. dispar* après 10 jours de traitement

Stades	Doses testées				ANOVA	
	25 mg/l	50mg/l	75mg/l	100mg/l	F	P
L2	30	44	72	81	6.77	0.0020
L3	27	39	66	69	27.21	0.0007
L4	21	34	61	63	21.13	0.0007
L5	19	29	54	51	9.71	0.0078

Tableau 2. Paramètres toxicologiques du RH-0345 à l'égard des larves de *L. dispar*

Stades	Droites de régression	DL 50	Slope	IC 95%
L2	$Y = 0,72X + 0,23$ ($r = 0,71$)	$0,49 \cdot 10^3$	2,78	$(0,12 - 16,12) 10^3$
L3	$Y = 0,38X - 0,34$ ($r = 0,78$)	$1,12 \cdot 10^3$	4,26	$(0,49 - 34,11) 10^3$
L4	$Y = 0,90X + 1,12$ ($r = 0,81$)	$2,16 \cdot 10^3$	12,59	$(1,01 - 43,54) 10^3$
L5	$Y = 0,17X + 0,94$ ($r = 0,70$)	$7,59 \cdot 10^3$	16,32	$(2,98 - 2,98) 10^3$

Tableau 3: Effet insecticide du RH-2485 en fonction de la concentration sur la mortalité corrigée (%) des différents stades larvaires de *L. dispar* après 10 jours de traitement.

Stade	Doses testées				ANOVA	
	25mg/l	50mg/l	75mg/l	100mg/l	F	p
L2	42%	68%	81%	92%	15.75	0.0079
L3	37%	56%	73%	80%	40.72	0.0001
L4	31%	47%	66%	75%	53.51	0.0001
L5	24%	36%	48%	53%	29.26	0.0007

Tableau 4. Paramètres toxicologiques du RH-2485 à l'égard des larves de *L. dispar*

Stades	Droites de régression	DL 50	Slope	IC 95%
L 2	$Y=2,35x + 1,52$ ($r = 0,81$)	$0,52 \cdot 10^2$	6,31	$(0,34 - 8,53) 10^2$
L 3	$Y=1,58x + 0,26$ ($r = 0,89$)	$0,99 \cdot 10^2$	13,29	$(0,48 - 14,76) 10^2$
L 4	$Y=3,06x - 2,41$ ($r = 0,72$)	$2,51 \cdot 10^2$	14,12	$(0,98 - 21,1) 10^2$
L 5	$Y=2,75x-0,83$ ($r = 0,70$)	$5,26 \cdot 10^2$	20,43	$(1,95 - 26,59) 10^2$

Tableau 5. Acticité différée du RH 0345 sur le développement de *L. dispar*

Traitement	Poids des chrysalides mâles (mg)	Poids des chrysalides femelles (mg)	Taille des pontes (cm)	Nombre total d'œufs/ ponte	Nombre d'œufs non viables/ ponte
Témoin	350,00±25,00	1210,00±70,00	3,53±0,75	225,67±92,15	30,42±4,52
Traité L3	120,00±18,00	270,00±40,00	1,11± 0,37	62,00±23,30	56,00±12,12
Traité L4	192,00±15,00	587,00±21,00	2,14±0,3	122,8±37,10	102,8±31,53

4. Discussion

Nos résultats montrent qu'il existe un effet insecticide des deux produits halofénozide (RH- 0345) et methoxyfenozide (RH2485) à l'égard des larves du deuxième et du troisième stade de *L. dispar*, qui se traduit par une mortalité en fonction des concentrations utilisées. Cette mortalité peut atteindre 80 % des larves traitées par les deux molécules. Cet effet persiste au quatrième stade où nous enregistrons un taux de mortalité maximal de 100 % pour toutes les concentrations élevées. Les larves du cinquième stade traitées avec les insecticides présentent une mortalité moyenne assez élevée.

Pendant la dernière décennie, RH-5849, RH-5992 (tébufénozide) et RH-2485 (méthoxyfenozide) ont été découverts et considérés comme les premiers ecdystéroïdes agonistes non stéroïdaux menant à une nouvelle classe de régulateurs de croissance d'insecte, à savoir les benzoylhydrazines, qui incitent la mue précoce et incomplète dans plusieurs ordres d'insecte, particulièrement chez les Lépidoptères (Soltani et al., 2001). Ces composés augmentent l'activité contre les Lépidoptères et les Coléoptères, principalement par l'induction de mue précoce mortelle (Smagghe et al., 1994 ; Dhadialla et al., 2005). Le RH0345 (halofénozide), nouveau ecdystéroïde agoniste non stéroïdal qui développé par la compagnie « Rohm et Haas » (Smagghe *et al*, 1994), a été considéré comme le plus sélectif de sa classe d'insecticides chez les Coléoptères (Darvas et al., 1992).

Les larves (L₃ et L₄) de *Culex pipiens* traitées au RH 0345 présentent une mortalité importante bien que les larves L₃ soient plus résistantes à l'action du RH 0345 que les larves L₄. L'effet du RH 0345 sur les larves du 4^{ème} stade de *Culex pipiens* montre un taux de mortalité de 65% à une dose de 26 µg/l (Boudjelida et al., 2005).

Notre étude montre aussi qu'il existe des papillons malformés issus des larves L₄ et L₅ de *L. dispar* traitées au RH -0345. Les mâles se présentent avec des ailes réduites et sont incapable de voler. Pour les femelles, elles sont soit complètement exuviées mais présentant des ailes réduites qui paraissent comme des demi – ailes, soit complètement exuviées ayant des ailes très réduites (ébauches d'ailes) ce qui leur donne l'aspect d'une femelle presque aptère. Le développement nymphal est bloqué, les individus mi larve mi chrysalide sont de couleur noire avec une consistance dure du corps et partiellement exuvié. La partie antérieure est nymphale tandis que la partie postérieure reste larvaire (chenilles incapables de se chrysalider et meurent à ce stade).

Chez les individus d'*Ephestia kuehniella* (Zeller) traités au RH-0345, on a observé des malformations chez les adultes notamment au niveau des ailes qui sont soit incomplètement exuviées, soit malformées (Ouadi & Nencib, 1998). Des anomalies similaires ont été rapportées dans d'autres travaux chez de nombreuses espèces

d'insectes (Oberlander et al., 1995; Smagghe et al., 1996). Le RH 0345 affecte, aussi, la croissance et le développement des larves *Culex pipiens* (Boudjelida et al., 2005). L'effet insecticide du RH-0345 étant établi, il semble que c'est l'effet différé sur la reproduction, la fertilité et le développement en général de *L. dispar* qui mérite une étude approfondie.

Références

- Abbott, W.B., 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18, 265-267.
- Berry, R.E., Moldenke, A.F., Miller, J.C, Wernz, J.G., 1993. Toxicity of Diflubenzuron in larvae of Gypsy moth (Lepidoptera : Lymantriidae): Effects of host plant. *Ann. Entomol. Soc. of Amer.*, 86, 809-814.
- Boudjelida, H., Bouaziz, A., Soin, T., Smagghe, G., Soltani, N., 2005. Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*. *Pest. Biochem. Physiol.*, 83, 115 – 123.
- Darvas, B., Polgar, L., Dinan M.H.T., Eross, K., Wing, K.D., 1992. Developmental disturbance in different order caused by an ecdysteroid agonist, RH-0345. *J. Econ. Entomol.*, 85, 2107-2112.
- Dhadialla, T.S., Carlson, G.R., Ledip., P., 1998. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *A. Rev. Entomol.*, 43, 545.
- Dhadialla, T.S., Retnakaran, A., Smagghe, G., 2005. Insect growth- and development- disturbing insecticides; in Gilbert L- I., Latrouk., Gill S. K. (eds), *Compr. Mol. Insect Sci.*, 6, 55- 116.
- Doane, C.C., McManus, M.C., 1981. The Gypsy moth research toward integrated management. USDA, For. Serv. Techn. Bull. 1584, Washington, pp.557.
- Finney, D.J., 1971. Probits analysis, 3rd ed. – London, Cambridge University Press, pp.333.
- Fischer, R.A., Yates, F., 1957. Statistical tables for biological, agricultural and medical research. 5th Edition. Olivier and Boyd, London, pp. 64-66.
- Fraval, A., 1989. *Lymantria dispar*. Actes Editions, Rabat, Maroc, pp.220.
- Ishaaya, I., Decock, A., Degheele, D., 1994. Pyriproxyfen, a potent suppressor of egg hatch and adult formation of the greenhouse whitefly (Homoptera:Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.*, 87, 1185-1189.
- Oberlander, H., Silhacek, D., Porcheron, P., 1995. Non steroïdal ecdysteroïdagonists : tools for study of hormonal action. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 28, 209-23.
- Oberlander, H., Silhacek, D., 1998. New perspectives on the mode of action of benzoylphenyl urea insecticides. *In: Ishaaya, I., Degheele, D. (Eds), Insecticides with novel modes of action: Mechanism and application.* Springer, Berlin Heidelberg New York, pp. 92-105.

- Ouadi, C., Nencib, S., 1998. Evaluation d'un nouvel agoniste des ecdystéroïdes : le tébufenozide(RH 5992) chez *Ephestia kuehniella*. Mémoire de D.E.S en Biologie animale, Univ. Annaba, Algérie, pp.31.
- Retnakaran, A., 1976. Application of dimilin effectively controls forest tent caterpillar populations and affords foliage protection. *Biol. Mon. Res.*, 32, 26-27.
- Smaghe, G., Degheele, D., 1994. Action of a novel nonsteroidal ecdysteroidal ecdysteroid mimic, tebufenozide (RH-5992), on insects of different orders. *Pest. Sci.*, 42, 85-92
- Smaghe, G., Degheele, D., 1995. Selectivity of monoestéroïdal ecdystéroïd agonist RH 5849 and RH5992 to nymphs and adults of predatory soldier bugs, *Podisus nigrispinus* and *P. maculiventris* (Hemiptera; Pentatomidae). *J. Econ. Entomol.*, 88: 40-45.
- Smaghe, G., Salem, H., Tirry, L., Degheele, D., 1996. Action of novel insect growth regulator tebufenozide on cuticule formation in *Spodoptera exigua*: an ultrastructural approach. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 32, 121-134.
- Soltani, N., Aribi, N., Berghiche, H., Lakbar, C., Smaghe, G., 2001. Activity of RH0345 on ecdostéroïdal production and cuticole secretion in *Tenebrio molitor* pupae in vivo and in vitro. *Pest. Biochem. Physiol.*, 72, 83-90.