

IOBC / WPRS

Working group “ Integrated Protection in Oak Forests ”

OILB / SROP

Groupe de travail “ Protection Intégrée des Forêts de Chênes ”

Proceedings of the meeting

Comptes rendus de la réunion

at/à

Hammamet (Tunisia)

4-8 octobre 2004

Edited by

C. Villemant & Mohamed Lahbib Ben Jamāa

**IOBC wprs Bulletin
Bulletin OILB srop**

Vol. 28 (8), 2005

The content of the contributions is in the responsibility of the authors.

The IOBC/WPRS Bulletin is published by the International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants, West Palearctic Regional Section (IOBC/WPRS)

Le Bulletin OILB/SROP est publié par l'Organisation Internationale de Lutte Biologique et Intégrée contre les Animaux et les Plantes Nuisibles, section Regionale Ouest Paléarctique (OILB/SROP)

Copyright: IOBC/WPRS 2005

The Publication Commission of the IOBC/WPRS:

Horst Bathon
Federal Biological Research Center
for Agriculture and Forestry (BBA)
Institute for Biological Control
Heinrichstr. 243
D-64287 Darmstadt (Germany)
Tel +49 6151 407-225, Fax +49 6151 407-290
e-mail: h.bathon@bba.de

Luc Tirry
University of Gent
Laboratory of Agrozoology
Department of Crop Protection
Coupure Links 653
B-9000 Gent (Belgium)
Tel +32-9-2646152, Fax +32-9-2646239
e-mail: luc.tirry@ugent.be

Address General Secretariat:

INRA – Centre de Recherches de Dijon
Laboratoire de recherches sur la Flore Pathogène dans le Sol
17, Rue Sully, BV 1540
F-21034 DIJON CEDEX
France

ISBN 92-9067-180-5

Web: <http://www.iobc-wprs.org>

Introduction

Since 1993, our working group « Integrated Protection in Oak Forests » gathered scientists who attempted to evaluate the current decline situation of oak forests in the Mediterranean region and better recognize the inducing factors and their complex interactions¹. The fourth meeting of our group, in Tunisia, was subsidized by the INRGREF (Institut National de Recherche en Génie Rural, Eaux et Forêts, Tunisie), the DGF (Direction Générale des Forêts, Tunisie), the ATTF (Association Tunisienne des Techniciens Forestiers) and the MNHN (Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France). About 120 participants from 8 countries (Algeria, France, Iran, Italy, Morocco, Portugal, Spain, Tunisia) attended to the meeting.

Like the previous meetings¹, the fourth aimed at assessing the actual phytosanitary situation of European and Mediterranean oak stands and sharing the results of recent work. 35 oral communications and 22 posters were presented during the sessions which included: phytosanitary status of the oak forests; biology and impact of xylophagous pests; biology and impact of pathogenous fungi; natural enemies, biological and integrated control of phyllophagous insects; forest management; cork production and forest fires; oak forest fauna.

An excursion was organized the last day in the region of Tabarka (north-western Tunisia). It included a guided tour of Tunisian cork oak stands and visits to a tree nursery and a forest reserve.

Six communications concerned current research involving scientists of several Mediterranean countries: preservation and recovery of cork-growing areas (Sardinia, Tunisia), bioecology of the xylophagous pest *Platypus cylindrus* (Morocco, Portugal), declining factors in cork oak stands (Morocco and Portugal, Algeria and France), bioecology of *Lymantria dispar* (Morocco, Portugal, France, Tunisia), cork oak seedling production at out-soil culture (Tunisia, Algeria). Several new collaborative projects were also discussed; they notably concerned: pathogenous fungi (Tunisia, Sardinia, Portugal), *Platypus cylindrus* infestation (Tunisia, Sardinia, Morocco, Portugal), *Lymantria dispar* (Tunisia, Algeria, Morocco, Portugal, France) and impact evaluation of forest decline factors (Sardinia, Tunisia, Portugal, Algeria).

Special thanks are due to Mohamed Lahbib Ben Jamâa and the staff of the INRGREF, for their role in the organization of the meeting. Their enthusiasm and willingness made the manifestation a success. Thanks are also due to Mme Palczewski for corrections of the manuscripts and abstracts in English.

Claire Villemant
Convenor of the Working Group

¹ Luciano, P. ed. 1995: Integrated Protection in Cork-Oak Forests. Proceedings of the IOBC study group meeting. Tempio Pausania, Italy, 15-17 September 1994. IOBC/wprs Bulletin 18(6): 114 pp.

Villemant, C. ed. 1998: Integrated Protection in Cork-Oak Forests. Proceedings of the IOBC study group meeting. Rabat-Salé, Morocco, 26-29 October 1998. IOBC/wprs Bulletin 22(3): 198 pp.

Villemant, C. & Sousa, E. eds. 2002. Integrated Protection in Oak Forests. Proceedings of the IOBC working group meeting. Oeiras, Portugal, 1-4 October 2001. IOBC/wprs Bulletin 25(5): 177 pp.

Introduction

Depuis 1993, notre groupe de travail « Protection intégrée des forêts de chênes » rassemble des chercheurs qui s'efforcent d'évaluer l'importance de l'actuel dépérissement des chênaies en région méditerranéenne et de mettre en évidence les principaux facteurs impliqués et la complexité de leurs interactions. Le quatrième meeting du groupe, en Tunisie, a été soutenu financièrement par l'INRGREF (Institut National de Recherche en Génie Rural, Eaux et Forêts, Tunisie), la DGF (Direction Générale des Forêts, Tunisie), l'ATTF (Association Tunisienne des Techniciens Forestiers) et le MNHN (Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France). Environ 120 personnes venues de 8 pays (Algérie, Espagne, France, Iran, Italie, Maroc, Portugal, Tunisie) ont participé à cette manifestation.

Comme pour les précédents¹, l'objectif de ce meeting était de faire le bilan de la situation sanitaire des chênaies européennes et méditerranéennes et de présenter les résultats de recherche les plus récents. 35 communications orales et 22 posters ont été présentés durant les sessions qui concernaient : l'état phytosanitaire des chênaies; la biologie et l'impact des insectes xylophages; la biologie et l'impact des champignons pathogènes; la lutte biologique et intégrée contre les insectes phyllophages ; les ennemis naturels ; l'aménagement forestier; la production de liège et les feux de forêts; la faune des subéraies et iliaies.

Six communications ont présenté les résultats de travaux réalisés grâce à une collaboration entre chercheurs de plusieurs pays méditerranéens ; elles concernaient : la préservation et la régénération des subéraies (Sardaigne, Tunisie), la bioécologie du xylophage *Platypus cylindrus* (Maroc, Portugal), les facteurs favorisant le déclin des subéraies (Maroc et Portugal, Algérie et France,), la bioécologie de *Lymantria dispar* (Maroc, Portugal, France, Tunisie), la culture du chêne-liège hors sol (Tunisie, Algérie). Plusieurs nouveaux projets de collaboration ont été également proposés, concernant notamment : les champignons pathogènes, (Tunisie, Sardaigne, Portugal), les infestations de *Platypus cylindrus* (Tunisie, Sardaigne, Maroc, Portugal), *Lymantria dispar* (Tunisie, Algérie, Maroc, Portugal, France) et l'évaluation de l'impact des principaux facteurs de déclin de la subéraie (Sardaigne, Tunisie, Portugal, Algérie).

Une excursion, organisée le dernier jour dans la région de Tabarka (nord-ouest de la Tunisie), a permis aux participants de découvrir les subéraies tunisiennes et de visiter une pépinière et une réserve forestière.

Nous devons un grand merci Mr. Mohamed Lahbib Ben Jamâa et toute l'équipe de INRGREF qui s'est impliquée avec beaucoup d'enthousiasme et de bonne volonté dans l'organisation de ce meeting. Nous remercions également Mme Palczewski qui a assuré la correction de l'ensemble des résumés et des manuscrits et en anglais.

Forêts de Chênes

Claire Villemant
Responsable du groupe de travail

¹ Luciano, P. ed. 1995 : Protection intégrée des subéraies. Actes du meeting du groupe d'étude de l'OILB .

Tempio Pausania, Italy, 15-17 Septembre 1994. IOBC/wprs Bulletin 18(6) : 114 pp.

Villemant, C. ed. 1998 : Protection intégrée des subéraies. Actes du meeting du groupe d'étude de l'OILB.

Rabat-Salé, Morocco, 26-29 October 1998. IOBC/wprs Bulletin 22(3) : 198 pp.

Villemant, C. & Sousa, E. (eds.) 2002 : Protection intégrée des forêts de chênes. Actes du meeting du groupe de travail de l'OILB. Oeiras, Portugal, 1-4 October 2001. IOBC/wprs Bulletin 25(5) : 177 pp.

List of participants

ABBAS Chaâbane	Institut Sylvo Pastoral. 8110 Tabarka. TUNISIA chaabane.abesse@iresa.agrinet.tn
ABDENBI Tahar	Agence Nationale de Protection de l'Environnement. TUNISIA fax : 216 71 848 069
ABID Habib	Direction Générale des Forêts. Rue Alain Savary, 1002 Belvédère, TUNISIA abid.a@francite.com
AGTAY Fatima	Ecole Normale Supérieure de Casablanca, Département de Biologie, BP 9172. Mers Sultan-Casablanca, MOROCCO halisou@techno.net.ma
AIFA Abdelaziz	Commissariat Régional pour le Développement Agricole. CRDA Kef, TUNISIA fax : 216 78 224 382
ALAOUI Foued	LERMAB, Laboratoire d'Etudes et de Recherche sur le Matériau Bois. UMR INRA 1093, UMR INRA/ENGREF/UHP Université H. Poincaré Nancy 1, Vandoeuvre les Nancy, FRANCE Aloui.Foued@lermab.uhp-nancy.fr
ARIBI Hassina	Institut National Agronomique, Entomologie Agricole et Forestière. Département de Zoologie Agricole. El-Harrach. ALGERIA aribi_hassina@yahoo.fr
ARIFIPOUR M ^{ad} Reza	Institute of Forests and Rangelands of Iran, Forest and Range Protection Research, P.O. Box 13185-116, Tehran, IRAN arefipour@yahoo.fr
ARNAUDIES Jacques	Institut Méditerranéen du Liège. 23, route du Liège. 66490 Vivès, FRANCE i.m.l.@voila.fr
ATAY-KADIRI Zineb	Faculté des Sciences de Rabat, Département de Biologie. BP 1014. 10050 Rabat-Agdal, MOROCCO atay@fsr.ac.ma
BAOUEB Riadh	Institut Scientifique, Département de Zoologie et d'Ecologie Animale. BP 703. Rabat-Agdal, MOROCCO rbaouab@yahoo.com
BARBOUCHE Naïma	Institut National Agronomique de Tunis. Rue Hédi Karray, 2049 Ariana, Tunis, TUNISIA fax : 71 752 897
BARGOUI Ahmed	Régie d'Exploitation Forestière. Rue Alain Savary, 1002 Belvédère, TUNISIA tel : 216 71 802 906
BARRON José Del Pozo	SFCYP. Direccion General de Medio ambiente. Avda de Portugal. Merida, O6800 Badajoz, SPAIN joseluis.pozo@aym.juntaex.es
BASTAOUI Kheira	Département de Foresterie, Université de Tlemcen, Faculté des Sciences. BP 119, RP, 13000 Imama-Tlemcen, ALGERIA k_bestouai@mail.univ-tlemcen.dz
BELHAJ Samir	Direction Générale des Forêts. Rue Alain Savary, 1002 Belvédère, TUNISIA tel : 216 71 801 922

BEN JAMAÂ Mohamed	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA benjamaa.lahbib@iresa.agrinet.tn
BEN MAHAMED Mongi	Direction Générale des Forêts. Rue Alain Savary, 1002 Belvédère, TUNISIA tel : 216 71 891 141
BEN SALEM Zouheir	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA Zouheir_bs@yahoo.fr
BEN YAHIA Kaouther	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA benyahia.kaouther@iresa.agrinet.tn
BENIA Farida	Institut National Agronomique, Entomologie Agricole et Forestière El Harrach-Alger, ALGERIA fbenia@yahoo.fr
BERRAIES Hédi	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA berraies.hedi@iresa.agrinet.tn
BOUCHAOUR-DJABEUR	Université de Tlemcen, Faculté des Sciences, Département de Sabeha Foresterie. BP 119, RP, 13000 Imama-Tlemcen, ALGERIA wissam2005@caramail.com
BOUHRAOUA Rachid	Département de Foresterie, Université de Tlemcen, Faculté des Sciences. BP 119, RP, 13000 Imama-Tlemcen, ALGERIA rt_bouhraoua@univ-tlemcen.dz
BOUKRIS Mekki	Faculté des Sciences de Sfax. BP 802, 3018 Sfax, TUNISIA fax : 00 216 74 274 437
BOURGOUIN Daniel	Direction Départementale de l'Agriculture et de la Forêt, Pyrénées- Orientales. FRANCE Daniel.bourgouin@agriculture.gouv.fr
BOUSAID Mohamed	Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie, TUNISIA fax : 216 71 704 329
BOUZID Ahmed	CITET. Boulevard de l'Environnement, 1080 Tunis, TUNISIA fax : 216 71 771 210
BRAGANÇA Helena	Departamento de Protecção Florestal, Estação Florestal Nacional, Quinta do Marques. P-2780 Oeiras, PORTUGAL helena.braganca@efn.com.pt
CARREDA S.	Departimento Protezione delle Pianta Sezione di Patologia vegetale, Università degli Studi, Facoltà di Agraria. Via E. De Nicola 9. 07100 Sassari, ITALY pcorda@uniss.it
CARBONESCHI Anna	Stazione Sperimentale del Sughero. Via Limbara 9. I-07029 Tempio Pausania, ITALY sperimentalebiofor@tiscalinet.it
CHENINI Faïçal	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA chenini.fayçal@iresa.agrinet.tn
CORDA Piero	Departimento Protezione delle Pianta Sezione di Patologia vegetale, Università degli Studi, Facoltà di Agraria. Via E. De Nicola 9. 07100 Sassari, ITALY pcorda@uniss.it

DALY Hamed	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA dalyhassen.hamed@iresa.agrinet.tn
DELLAVALLE Irene	IPP. Istituto per la Protezione delle Piante Area della Ricerca del CNR di Firenze. Edificio E. Via Madonna del Piano. 50019 Sesto Fiorentino, Firenze, ITALY dellavalle@host.ipp.cnr.it
FAGGI Matteo	Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura. Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Via di Lanciola 12/A. 50125 Firenze, ITALY roversi@isza.it
FEKIH Ahmed Ridha	Direction Générale des Forêts. Rue Alain Savary. 1002 Belvédère, TUNISIA tel : 216 71 801 922
FEZZANI Tarrek	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA Tarek.fezzani@topnet.tn
FRAHTIA Khalida	Université Badji-Mokhtar, Département de biologie. B.P. 12, Annaba, ALGERIA kali184@caramail.com ; kali184@yahoo.fr
FRANCESCHINI Antonio	Dipartimento Protezione delle Piante Sezione di Patologia vegetale, Università degli Studi, Facoltà di Agraria. Via E. De Nicola 9. 07100 Sassari, ITALY afran@uniss.it
GARBI Mohamed Saïd	Commissariat Régional pour le Développement Agricole. CRDA Béja. TUNISIA tel : 216 78 457 618
GRANATA Giovani	Dipartimento di Scienze e Tecnologia Fitosanitarie. Università di Catania. Via S. Sofia, 100. 95123 Catania ITALY ggrana@mbx.unict.it
HAMADA Nabil	Direction Générale de l'Environnement et de la Qualité de la Vie, Ariana, TUNISIA fax : 216 71 703 340
HASNAOUI Brahim	Institut Sylvo-Pastoral. 8110 Tabarka, TUNISIA Hasnaoui.brahim@iresa.agrinet.tn
HASNAOUI Foued	Institut Sylvo-Pastoral. 8110 Tabarka, TUNISIA h_foued2003@yahoo.fr
HASSAINE Karima	Département de Foresterie, Université de Tlemcen, Faculté des Sciences. BP 119, RP, 13000 Imama-Tlemcen, ALGERIA hassaine69@hotmail.com
JELASSI Mohamed Lahib	Commissariat Régional pour le Développement Agricole. CRDA. Nabeul, TUNISIA fax : 216 72 285 321
JELLALI Mounir	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA jalleli.mounir@iresa.agrinet.tn
KHALDI Habelhamid	Direction Générale des Forêts. Rue Alain Savary, 1002 Belvédère, TUNISIA khaldi.abdelhamid@iresa.agrinet.tn
KHOUJA Mohamed	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA Khouja_medlarbi@yahoo.fr
KRIMI Zouleikha	Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, BP12 Imama, 13.000 Tlemcen, ALGERIA z_krimi@mail.tlemcen.dz

LAAMOURI Abdelwahed	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA laamouri.abdelwaheb@iresa.agrinet.tn
LAARIF Asma	Ecole Supérieure des Ingénieurs de l'Équipement Rural de Chott Mériem, TUNISIA laarif.asma@iresa.agrinet.tn
LASSOUED Ilhem	Direction Générale des Forêts. Rue Alain Savary, 1002 Belvédère, TUNISIA tel : 216 71 801 922
LETREUCH Assia	Département de Foresterie, Université de Tlemcen, Faculté des Sciences. BP 119, RP, 13000 Imama-Tlemcen, ALGERIA letreuch_assia@yahoo.fr
LINALDEDDU Benedetto	Departimento Protezione delle Piante Sezione di Patologia vegetale, Università degli Studi, Facoltà di Agraria. Via E. De Nicola 9. 07100 Sassari, ITALY afran@uniss.it
LUCIANO Pietro	Departimento Protezione delle Piante, Sezione Entomologia agraria Università degli Studi, Facoltà di Agraria. Via E. de Nicola 9. 07100 Sassari, ITALY pluciano@uniss.it
M'NARA Sofiane	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA mnara.sofiane@iresa.agrinet.tn
MAAMOURI Faouzi	WWF. Immeuble B. Sassi. Avenue Ahmed Khabthani. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA mfaouzi.wwf@Gnet.tn
MALEK Afif	Commissariat Régional pour le Développement Agricole. CRDA. Sousse, TUNISIA fax : 216 73 227 830
MARRAS Francesco	Departimento Protezione delle Piante, Università Sassari, Sezione di Patologia vegetale, Via E. De Nicola 9. I-07100 Sassari, ITALY fmarras@uniss.it
MARTIN Jean-Claude	Unité Expérimentale Forestière Méditerranéenne, INRA. Avenue A. Vivaldi. 84000 Avignon, FRANCE jean-claude.martin@avignon.inra.fr
MAZZAGLIA Angelo	Dipartimento Protezione delle Piante. Università degli Studi della Tuscia. v. S. Camillo de Lellis snc. 01100 Viterbo, ITALY fax : angmazza@unitus.it
MENAI Lemine	Commissariat Régional pour le Développement Agricole. CRDA. Manouba, TUNISIA fax : 33 71 624 402
MEROUANI Hachemi	Instituto Superior de Agronomia, Dep. Protecção de Plantas, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa Codex, PORTUGAL fax : 351 21 364 50 00 hmerouani@isa.utl.pt
MESLI Lotfi	Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, BP12 Imama, 13 000 Tlemcen, ALGERIA lomesli@yahoo.fr
MIRA Vidal Jose Luis	IVIA. Departamento de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) 46113 Moncada, Valencia, SPAIN jlmira@ivia.es
MOKHTAR Mohamed	Commissariat Régional pour le Développement Agricole. CRDA. Bizerte, TUNISIA fax : 216 72 591 322

MONTERO Concepcion	IVIA. Departamento de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) 46113 Moncada, Valencia, SPAIN jlmira@ivia.es
MOREIRA Anna Cristina	Estação Agronomica Nacional, Quinta do Marquês. 2780 Oeiras, PORTUGAL ac_moreira@softhome.net
MUTTO ACCORDI Sergio	Docente di Patologia Vegetale Forestale, Università di Padova. Campus di Agripolis, Viale dell'Università, 16-35020, Legnaro Padova, ITALY Sergio.muttoaccordi@unipd
NAILI Youssef	Commissariat Régional pour le Développement Agricole. CRDA. Séliana, TUNISIA fax : 216 78 871 009
NALDO Anselmi	Départimento di Protezione della Piante, Università degli Studi della Tuscia via S. Camillo De Lellis, 01100 Viterbo, ITALY anselmi@unitus.it
NASR Hafedh	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA nasr.hafedh@iresa.agrinet.tn
NIPOTI Paola	Dipartimento di Scienze e Tecnologia, Università degli Studi di Bologna. Fenin, 44. 40127 Bologna, ITALY fax: 39 05 12 09 14 45 pnipoti@agrsci.unibo.it
NOBREGA Filomena	Estação Florestal Nacional. Departamento de Protecção Florestal. Avenida da República. Quinta do Marquês. 2780-159 Oeiras, PORTUGAL Edmundo.Sousa@efn.com.pt
NOURI Mohamed	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA nouri.mohamed@iresa.agrinet.tn
NSIBI Rabeh	Commissariat Régional pour le Développement Agricole. CRDA. Jendouba, TUNISIA tel : 21678 603 426
OUAKID Mohamed Laid	Département de biologie animale, Faculté des Sciences, Université de Annaba, 23000 Annaba, ALGERIA ouakid@hotmail.com
PEYRE Serge	SPFS. Syndicat des Propriétaires Forestiers Sylviculteurs, Pyrénées- Orientales, FRANCE sdpfpo@wanadoo.fr
PIAZZETTA Renaud	Institut Méditerranéen du Liège. 23, route du Liège. 66490 Vivès, FRANCE institutduliege@free.fr
PINTUS Agostino	Stazione Sperimentale del Sughero. Via Limbara 9. 07029 Tempio Pausania, ITALY sperimentalebiofor@tiscalinet.it
RAHMOUNE Chaâbane	Département SNV, Faculté des Sciences, Université Mantouri. Route de Ain El Bey. 25000 Constantine, ALGERIA rahmoun@wissal.dz
REJAIBI Nourreddine	Office de Développement Sylvo-Pastoral du Nord-Ouest ODESYANO, Direction Régionale de Séjnane. Bêjâ, TUNISIA fax : 216 78 454 718
REJEB Mohamed Néjib	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA rejeb.nejib@iresa.agrinet.tn

REJEB Salwa	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA
RUIU PINO Angelo	Stazione Sperimentale del Sughero. Via Limbara 9. I-07029 Tempio Pausania, ITALY sperimentalebiofor@tiscalinet.it
SAADOUI Ezzeddine	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA saad_ezz@yahoo.fr
SANCHES Pena Gerardo	SPCAN. Dirección General Para La Biodiversidad. Gran Via San Francisco, 4. 28005, Madrid, SPAIN gerardo.sanchez@dgc.n.mma.es
SANTOS Lurdes	Estação Florestal Nacional. Departamento de Protecção Florestal. Avenida da República. Quinta do Marquês. 2780-159 Oeiras, PORTUGAL Edmundo.Sousa@efn.com.pt
SCHAFELLNER Chirista	Institute of Forest Entomology, Forest Pathology and Forest Protection. BOKU. University of Natural Resources and Applied Life Sciences. Hasenauerstraße 38, 1190 Vienna, AUSTRIA christa.schafellner@boku.ac.at
SECHI Clizia	Stazione Sperimentale del Sughero. Via Limbara 9. I-07029 Tempio Pausania, ITALY sperimentalebiofor@tiscalinet.it
SEDDIK Mohamed Néjib	Commissariat Régional pour le Développement Agricole. CRDA. Béjà, TUNISIA tel : 216 78 457 618
SEHAL Foued	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA
SELMi Hédi	Commissariat Régional pour le Développement Agricole. CRDA. Béjà, TUNISIA tel : 216 78 457 618
SERIDI Ratiba	Biologie végétale, Faculté des Sciences, Université de Annaba, 23000 Annaba, ALGERIA ratibaseridi@yahoo.fr
SERRA Giuseppe	Departimento Protezione delle Piante, Sezione Entomologia agraria, Università Sassari, Via E. De Nicola 9. 07100 Sassari, ITALY gserra@ssmain.uniss.it
SERRA Gianluca	Dipartimento di Scienze della Terra, Università di Cagliari, Via Trentino 51, 09127 Cagliari, ITALY Iserra@tiscali.it
SOLTANI Fathia	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA sfethis@yahoo.fr
SOUAYAH Naoufel	Laboratoire d'Ecologie et d'Amélioration Sylo-Pastorale. INRGREF & Faculté des Sciences de Gabès, Tunisie Naoufel.souayah@fsg.rnu.tn
SOUSA Edmundo	Departamento de Protecção Florestal, Estação Florestal Nacional. Avenida da República Quinta do Marques. P-2780 Oeiras, PORTUGAL dpf.efn@mail.telepac.pt
STITI Boutheina	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA stitib@yahoo.fr

SURACI Michele	Dipartimento Protezione delle Piante, Università degli Studi della Tuscia. Via S. Camillo de Lellis. 01100 Viterbo, ITALY angmazza@unitus.it
TABANI Roberto	Dipartimento Protezione delle Piante, Università degli Studi della Tuscia. Via S. Camillo de Lellis. 01100 Viterbo, ITALY angmazza@unitus.it
TIBERI Rizio	Università degli Studi di Firenze, Dipartimento di Biotecnologie agrarie, Sezione di Entomologia Generale e Applicata, Via Maragliano, 75-77. 50144 Firenze, ITALY rizio.tiberi@unifi.it
TOMASI Daniel	Dipartimento di Scienze della Terra, Università di Cagliari, Via Trentino 51. 09127 Cagliari, ITALY Iserra@tiscali.it
TOUATI Salaheddine	Commissariat Régional pour le Développement Agricole. CRDA. Bizerte, TUNISIA fax : 216 72 591 322
TOUMI Lamjed	Institut Sylvo-Pastoral. 8110 Tabarka, TUNISIA toumi.lamjed@iresa.agrinet.tn
TROUDI Amira	Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts, BP 10. 2080 Ariana-Tunis, TUNISIA
TURCO Elena	Dipartimento de Biotecnologie Agrarie, Sez. Patologia vegetale. P.le delle Cascine 28, 50144 Firenze, Italy elena.turco@unifi.it
VIEIRA Margarida	Direcção-Geral de Protecção das Culturas. Quinta Do Marquês 2780-155 Oeiras, PORTUGAL margaridav@dgpc.min-agricultura.pt
VILLEMANT Claire	Muséum National d'Histoire Naturelle, UMR 5202 CNRS-MNHN, CP 50. 45 rue Buffon. 75005 Paris, FRANCE fax: 33 1 40 79 36 99 villeman@mnhn.fr
YESSAD Sid Ahmed	Consultant privé. BELGIQUE sidyas@hotmail.com
ZARROUK Mohamed Ali	Direction Générale des Forêts. Rue Alain Savary, 1002 Belvédère, TUNISIA tel : 216 71 801 922

Contents

Introduction	i
List of participants.....	iii
Contents.....	xi
Table des matières.....	xv
General mechanisms of sanitary alteration of cork oak stands in North Occidental Algeria	
<i>R.T. Bouhraoua, C. Villemant</i>	1
Inducing of physiological disturbance in cork oak stands: a synthesis of agent/host relations	
<i>E. de Sousa, Z. Atay-Kadiri</i>	9
Cork oak decline in the Bellif forest (Tunisia): characterization and impact assessment on cork thickness	
<i>M.L. Ben Jamâa, T. Sghaier, S. M'nara, M. Nouri, H. Sellemi</i>	17
Contribution to the study of cork oak decline in the Tabarka forest (Tunisia): relation between mineral nutrition and tree phytosanitary state	
<i>F. Hasnaoui , N. Rjéibia , C. Abbès , W. Yacoubi , B. Hasnaoui</i>	25
Characterization of senescence state of the Tunisian cork oak forest	
<i>R. Nsibi, N. Souayah, K.M. Larbi, A. Khaldi, A. Skhiri, S. Bouzid</i>	33
Oak forests decline in Iran	
<i>M.R. Arefipour, H. Askary, H. Yarmand, E.Sadeghi, A.N. Salary</i>	41
Creation of a monitoring network of the decline of cork oak stands in Sardinia and analysis of the first results	
<i>P.A. Ruiu, C. Sechi, B.T. Linaldeddu, A. Franceschini</i>	45
Variability of decline incidence on oak species growing in Sardinian cork oak stands	
<i>P.A. Ruiu, C. Sechi, B.T. Linaldeddu, A. Franceschini</i>	53
Analysis of decline incidence between unstripped and productive cork oaks	
<i>P.A. Ruiu, C. Sechi, B.T. Linaldeddu, A. Franceschini</i>	59
Design and development of a new methodology for inventory of areas affected by oak decline (<i>seca</i>) in Mediterranean areas	
<i>G. Sánchez, J. L. Del Pozo, M.J. Manzano</i>	65
Occurrence and distribution of fungal endophytes in declining cork oak forests in Sardinia (Italy)	
<i>A. Franceschini, B.T. Linaldeddu, F. Marras</i>	67
Epidemiological aspects of <i>Biscogniauxia mediterranea</i> in declining cork oak forests in Sardinia (Italy)	
<i>B.T. Linaldeddu, A. Franceschini, M.A. Pulina</i>	75

Growth of <i>Biscogniauxia mediterranea</i> and plant free amino acids: might correlation exist? E. Turco, I. Lozzi, L. Calamai, L. Marianelli, M. Campaioli, I. Dellavalle, P. Capretti, A. Ragazzi	83
Antagonism of endophytic fungi of <i>Quercus</i> towards <i>Biscogniauxia mediterranea</i> A. Mazzaglia, N. Anselmi, M. nasini	91
Correlation between the incidence of endophytic pathogenic fungi and oak decline in <i>Quercus ilex</i> L. forests after fire damages N. Anselmi, A. Mazzaglia	93
Preliminary in vitro investigation on the interactions among endophytic fungi isolated from <i>Quercus</i> spp. B.T. Linaldeddu, L. Maddau, A.o Franceschini	101
Natural durability of the European oak F. Aloui, B. Charrier, A. Merlin, B. George	103
Antagonistic agents of holm oak (<i>Quercus ilex</i> L.) in the Setif region (North-East of Algeria) F. Benia, M. Bounechada, M.A. Khellil	111
Principal diseases of the of cork oak and holm oak stands in Portugal M.L. Inácio, H. Bragança, H. Machado, J. Henriques, F. Moniz	113
Influence of some abiotic factors on cork and holm oak infection caused by <i>Phyto- phthora cinnamomi</i> A.C. Moreira	117
First report of <i>Phytophthora cinnamomi</i> associated with <i>Quercus ilex</i> L. in nurseries in Italy P. Nipoti, L. Flamini, A. M. Vettraino, M. Carboni, L. Pizzichini, S. Sandalo, A. Vannini	119
Implanting of two experimental plots to know the behavior of seven Mediterranean oaks in soils naturally infested by <i>Phytophthora cinnamomi</i> J.J. Tuset, C. Hinarejos, J.L. Mira, G. Sanchez, M. Prieto, A. Nuñez	121
Isolation of <i>Phytophthora cinnamomi</i> in several layers of soil profiles carried out in <i>Quercus</i> areas with oak decline symptoms J.J. Tuset, C. Hinarejos, J.L. Mira	123
Studies on virus infected cork oak (<i>Quercus suber</i> L.) F. Nóbrega, R. Vidal, R. Serrano, R. Sardinha, R.B. de Sousa	125
Fungus development, a factor limiting the long-term storage of cork oak acorns H. Merouani R. Trubat, M. J. Lourenço, T. Sampaio, M. L. Santos, J. Cortina, J. S. Pereira, M.H. Almeida	129
Comparison of the bio-ecology and behaviour of <i>Platypus cylindrus</i> F. (Coleoptera, Platypodidae) in Portuguese and Moroccan cork-oak stands E. de Sousa, M.L. Inácio, S. El Antry, M. Bakry, Z. Atay-Kadiri	137
Severe infestations of <i>Platypus cylindrus</i> Fabricius (Coleoptera Platypodidae) in Sardinian cork oak forests O.V. Cao, P. Luciano	145

Observations on <i>Lymantria dispar</i> (L.) latency phase in Tunisia S. Mnara, M.L. Ben Jamaâ, S. Nouira	147
The 2000-2003 gypsy moth gradation in Corsica: simplified sampling method of egg masses and evaluation of damage extension C. Villemant.....	155
Infestation maps and area treated against gypsy moth between 1990 and 2004 in the Mamora cork oak forest (Morocco) E. Basri, S. El Antry, Z. Atay Kadiri	163
Impact of natural enemies of gypsy moth eggs in the Mamora forest (Morocco) N. Benhsain, S. El Antry, Z. Atay Kadiri, E. de Sousa	169
Effects of extracts of plants associated with cork oak on the attraction of gypsy moth larvae M.L. Ouakid, J.-P. Farine, N. Soltani	171
Susceptibility of two gypsy moth populations to nuclear polyhedrosis virus A. Cerboneschi	179
Evaluation of a local strain of the entomopathogenous fungus <i>Metarhizium anisopliae</i> on <i>Lymantria dispar</i> larvae M.L. Ouakid, J.-P. Farine, N. Soltani	185
Three trophic level interaction: the influence of host plants on the performance of gypsy moth (<i>Lymantria dispar</i>) and its parasitoid, <i>Glyptapanteles liparidis</i> (Hymenoptera, Braconidae) C. Schafellner, W. Krämer, A. Schopf.....	193
Effects of two disparlure analogues on the EAG response in the gypsy moth A. Cerboneschi, R. Crnjar, A. Liscia, F. Maggiani, C. Masala, P. Solari, G. Sollai	201
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> against <i>Thaumetopoea processionea</i> L.: field trials in <i>Quercus cerris</i> L. woods P.F.Roversi, M. Faggi, P. Rumine	203
Influence of different host plants on the biology and behaviour of the green oak leaf roller, <i>Tortrix viridana</i> L.: first results R. Tiberi, D. Benassai, A. Niccoli	211
Efficacy of Foray 48B against <i>Tortrix viridana</i> L. (Lepidoptera Tortricidae) in a Sardinian pubescent oak forest G. Serra, A. Lentini, P. Luciano.....	219
Microbiological control of <i>Malacosoma neustrium</i> (Linnaeus) (Lepidoptera Lasiocampidae) infestations in Sardinia P. Luciano, A. Lentini, O.V. Cao	221
Analysis of the natural regeneration in Sardinian cork oak stands P.A. Ruiu, C. Sechi, A. Pintus	223
Adaptive variability of cork oak in Tunisia M.L. Khouja, A. Khaldi, H. Sellemi	231
Growth regeneration and analysis of cork oak (<i>Quercus suber</i>) trees in the Ain Snoussi forest, Tunisia B. Stiti, H. Sebei, A. Khaldi	237

Impact of fertilisation on cork oak stand recovery in Portugal <i>E. de Sousa, G. Oliveira, O. Correia, M.N. Santos, J. Marcelino</i>	245
Conservation and recovering of cork oak forests. First results of cooperation between Sardinia (Italy) and Tunisia <i>G. Serra, D. Tomasi, A. Khaldi, M. Nouri, L. Carta, S. Loddo, I. Camarda, M.N. Rejeb, A. Aru</i>	253
Fire impact on cork oak regeneration capacity in Kroumirie (Tunisia) <i>N. Souayah, R. Nsibi, M.L. Khouja, H. Rejeb, S. Bouzid</i>	261
Integrated management of cork oak forests in Tunisia: the case of the Sidi Barrak and Barbara hillside bassins <i>H. Abid</i>	269
West Algerian cork oak forests: an action plan contributing to integrated development <i>S. Bouchaour-Djabeur</i>	275
Sustainable pasture improvement in a Sardinian <i>Quercus suber</i> L. forest <i>F. Sanna, S. Maltoni, S. Caredda</i>	277
Cork-oak forest in the Ben Slimane region (Maroc): contribution of grazing in fauna diversity <i>F. Agtay</i>	279
Effect of the biologic post-fire ascent on the Rhopalocera population in cork oak forests of the El-Kala region (Algeria) <i>K. Frathia, S. Benyacoub</i>	283
<i>Calliptamus barbarus</i> diet in the Tlemcen mountains (Algeria) <i>L. Mesli, S.E. Doumandji, M.A. Khelil</i>	285
Conclusions and recommendation	287

Table des matières

Introduction	i
Liste des participants	iii
Contents.....	xi
Table des matières	xv
 Mécanismes généraux de l'altération sanitaire des peuplements de chêne-liège de l'Algérie nord-occidentale <i>R.T. Bouhraoua, C. Villemant</i>	1
Le déclenchement des perturbations physiologiques des peuplements de chêne-liège: une synthèse des relations agent/hôte <i>E. de Sousa, Z. Atay-Kadiri</i>	9
Le dépérissement du chêne-liège dans la subéraie de Béllif (Tunisie) : caractérisation et évaluation de son impact sur l'accroissement du liège <i>M.L. Ben Jamâa, T. Sghaier, S. M'nara, M. Nouri, H. Sellemi</i>	17
Contribution à l'étude du dépérissement du chêne-liège dans la forêt de Tabarka (Tunisie) : relations entre nutriments et état sanitaire des arbres <i>F. Hasnaoui, N. Rjéibia, C. Abbès, W. Yacoubi, B. Hasnaoui</i>	25
Caractérisation de l'état de sénescence de la subéraie tunisienne <i>R. Nibi, N. Souayah, K.M. Larbi, A. Khaldi, A. Skhiri, S. Bouzid</i>	33
Le dépérissement des chênaies en Iran <i>M.R. Arefipour, H. Askary, H. Yarmand, E. Sadeghi, A.N. Salary</i>	41
Création d'un réseau de surveillance du dépérissement des subéraies en Sardaigne et analyse des premiers résultats <i>P.A. Ruiu, C. Sechi, B.T. Linaldeddu, A. Franceschini</i>	45
Variabilité de l'incidence du dépérissement sur les trois espèces de chênes présentes dans les subéraies de Sardaigne <i>P.A. Ruiu, C. Sechi, B.T. Linaldeddu, A. Franceschini</i>	53
Analyse de l'incidence du dépérissement sur les chênes-lièges non démasclés et de production <i>P.A. Ruiu, C. Sechi, B.T. Linaldeddu, A. Franceschini</i>	59
Développement d'une nouvelle méthode d'inventaire des surfaces affectées par le dépérissement du chêne (<i>seca</i>) en région méditerranéenne <i>G. Sánchez, J. L. Del Pozo, M.J.é Manzano</i>	65
Présence et répartition des champignons endophytes dans les subéraies de Sardaigne (Italie) <i>A. Franceschini, B.T. Linaldeddu, F. Marras</i>	67

Etude épidémiologique de l'impact de <i>Biscogniauxia mediterranea</i> dans les subéraies déperissantes de Sardaigne (Italie) B.T. Linaldeddu, A. Franceschini, M.A. Pulina	75
Croissance de <i>Biscogniauxia mediterranea</i> et amino acides libres : sont-ils corrélés? E. Turco, I. Lozzi, L. Calamai, L. Marianelli, M. Campaioli, I. Dellavalle, P. Capretti, A. Ragazzi	83
Antagonisme des champignons endophytes des <i>Quercus</i> vis à vis de <i>Biscogniauxia mediterranea</i> A. Mazzaglia, N. Anselmi, M. Nasini	91
Relation entre la présence de champignons pathogènes endophytes et le dépérissement des chênes verts (<i>Quercus ilex</i> L.) après incendie N. Anselmi, A. Mazzaglia	93
Première investigation in vitro des interactions entre les champignons endophytes des chênes (<i>Quercus</i> spp.) B.T. Linaldeddu, L. Maddau, A.o Franceschini	101
Etude de la durabilité naturelle du chêne européen F. Aloui, B. Charrier, A. Merlin, B. George	103
Les agents biotiques antagonistes du chêne vert (<i>Quercus ilex</i> L.) dans la région de Sétif (Nord-Est algérien) F. Benia, M. Bounechada, M.A. Khellil	111
Les principales maladies des peuplements de chêne-liège et de chêne vert au Portugal M.L. Inácio, H. Bragança, H. Machado, J. Henriques, F. Moniz	113
Influence de différents facteurs abiotiques sur l'infection du chêne-liège et du chêne vert par <i>Phytophthora cinnamomi</i> A.C. Moreira	117
Première signalisation de <i>Phytophthora cinnamomi</i> dans les pépinières de <i>Quercus ilex</i> L. en Italie P. Nipoti L. Flamini, A. M. Vettrano, M. Carboni, L. Pizzichini, S. Sandalo, A. Vannini	119
Installation de deux sites expérimentaux pour étudier le comportement de sept chênes méditerranéens croissant dans des sols où <i>Phytophthora cinnamomi</i> est présent J.J. Tuset, C. Hinarejos, J.L. Mira, G. Sanchez, M. Prieto, A. Nuñez	121
Isolation de <i>Phytophthora cinnamomi</i> dans les profils de sols de chênaies présentant des symptômes de dépérissement J.J. Tuset, C. Hinarejos, J.L. Mira	123
Etude des virus du chêne-liège (<i>Quercus suber</i> L.) F. Nóbrega, R. Vidal, R. Serrano, R. Sardinha, R.B. de Sousa	125
Le développement de champignons, un facteur limitant la conservation à long terme des glands de chêne-liège (<i>Quercus suber</i> L.) H. Merouani R. Trubat, M. J. Lourenço, T. Sampaio, M. L. Santos, J. Cortina, J. S. Pereira, M.H. Almeida	129
Comparaison de la bio-écologie et du comportement de <i>Platypus cylindrus</i> F. (Coléoptère, Platypodidae) dans les subéraies portugaises et marocaines E. de Sousa, M.L. Inácio, S. El Antry, M. Bakry, Z. Atay-Kadiri	137

Importante infestation de <i>Platypus cylindrus</i> Fabricius (Coleoptera Platypodidae) dans les subéraies de Sardaigne O.V. Cao, P. Luciano	145
Bilan des observations sur <i>Lymantria dispar</i> (L.) en phase de latence en Tunisie S. Mnara, M.L. Ben Jamaâ, S. Nouria	147
La gradation 2000-2003 du bombyx disparate en Corse : échantillonnage simplifié des pontes et étendue des défoliations C. Villemant.....	155
Cartographie des infestations de <i>Lymantria dispar</i> et superficies traitées contre le ravageur entre 1990 et 2004 en subéraie de la Mamora (Maroc) E. Basri, S. El Antry, Z. Atay Kadiri	163
Suivi de l'impact des ennemis naturels sur les pontes de <i>Lymantria dispar</i> dans une placette de la forêt de la Mamora (Maroc) N. Benhsain, S. El Antry, Z. Atay Kadiri, E. de Sousa	169
Effets des extraits de plantes associées au chêne-liège sur l'attraction en enceinte des chenilles de <i>Lymantria dispar</i> M.L. Ouakid, J.-P. Farine, N. Soltani	171
Sensibilité de deux populations de <i>Lymantria dispar</i> L. au virus de la polyédrose nucléaire A. Cerboneschi	179
Evaluation de l'activité entomopathogène d'une souche locale du champignon <i>Metarhizium anisopliae</i> sur les larves de <i>Lymantria dispar</i> M.L. Ouakid, J.-P. Farine, N. Soltani	185
Interaction tri-trophique : l'influence de la plante hôte sur les performances du bombyx disparate (<i>Lymantria dispar</i>) et de son parasitoïde, <i>Glyptapanteles liparidis</i> (Hymenoptera, Braconidae) C. Schafellner, W. Krämer, A. Schopf.....	193
Effet de deux analogues du disphalure sur l'électroantennogramme du bombyx disparate A. Cerboneschi, R. Crnjar, A. Liscia, F. Maggiani, C. Masala, P. Solari, G. Sollai	201
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i> against <i>Thaumetopoea processionea</i> L.: field trials in <i>Quercus cerris</i> L. woods P.F. Roversi, M. Faggi, P. Rumine	203
Influence de différentes plantes hôtes sur la biologie et le comportement de la tordeuse verte, <i>Tortrix viridana</i> L.: premiers résultats R. Tiberi, D. Benassai, A. Niccoli	211
Efficacité du Foray 48B sur <i>Tortrix viridana</i> L. (Lepidoptera Tortricidae) dans les chênaies pubescentes de Sardaigne G. Serra, A. Lentini, P. Luciano.....	219
Lutte microbiologique contre les infestations de <i>Malacosoma neustria</i> (Linnaeus) (Lepidoptera Lasiocampidae) en Sardaigne P. Luciano, A. Lentini, O.V. Cao	221

Analyse de la régénération naturelle des chênes dans les subéraies de Sardaigne <i>P.A. Ruiu, C. Sechi, A. Pintus</i>	223
Variabilité adaptative du chêne-liège en Tunisie <i>M.L. Khouja, A. Khaldi, H. Sellemi</i>	231
Evaluation de la régénération et analyse de la croissance du chêne-liège (<i>Quercus suber</i>) dans la forêt de Ain Snoussi, Tunisie <i>B. Stiti, H. Sebei, A. Khaldi</i>	237
L'effet de la fertilisation dans la récupération des peuplements de chêne-liège au Portugal <i>E. de Sousa, G. Oliveira, O. Correia, M.N. Santos, J. Marcelino</i>	245
Conservation et récupération des subéraies. Premiers résultats de la coopération entre Sardaigne (Italie) et Tunisie <i>G. Serra, D. Tomasi, A. Khaldi, M. Nouri, L. Carta, S. Loddo, I. Camarda, M.N. Rejeb, A. Aru</i>	253
Impact des incendies et capacité de régénération d'une forêt de chêne-liège en Kroumirie (Tunisie) <i>N. Souayah, R. Nsibi, M.L. Khouja, H. Rejeb, S. Bouzid</i>	261
L'aménagement intégré des forêts de chêne liège en Tunisie : cas des bassins versants de Sidi Barrak et Barbara <i>H. Abid</i>	269
Les subéraies de l'ouest algérien : réhabilitation et plan d'action pour une contribution au développement intégré <i>S. Bouchaour-Djabeur</i>	275
Amélioration durable du pâturage dans une subéraie de Sardaigne (Italie) <i>F. Sanna, S. Maltoni, S. Careda</i>	277
La subéraie en région de Ben Slimane (Maroc) : apport faunistique du pâturage <i>F. Agtay</i>	279
Effet de la remontée biologique post-incendie sur le peuplement de Rhopalocères des subéraies d'El-Kala (Algérie) <i>K. Frathia, S. Benyacoub</i>	283
Contribution à l'étude du régime alimentaire de <i>Calliptamus barbarus</i> dans les monts de Tlemcen (Algérie) <i>L. Mesli, S.E. Doumandji, M.A. Khelil</i>	285
Conclusions et recommandations	287

Mécanismes généraux de l'altération sanitaire des peuplements de chêne-liège de l'Algérie nord-occidentale.

Rachid Tarik Bouhraoua¹, Claire Villemant²

¹ *Université de Tlemcen, Faculté des Sciences, Département de Foresterie,
BP 119 RP Imama, 13000, Algérie*

² *UMR 5202 MNHN-CNRS, Département Systématique & Evolution, CP 50 Entomologie,
45 rue Buffon, F-75005, Paris, France.*

Résumé : Les mécanismes provoquant l'affaiblissement et le dépérissement des peuplements de chêne-liège ont été étudiés sur un réseau de 13 stations d'observation, installé dans 4 forêts du nord-ouest algérien. La vigueur des peuplements a été notée durant 4 années (1999-2002) à l'aide d'un indice de dépérissement (Id) calculé à partir des notes de défoliation attribuées aux arbres de chaque station. Le bilan des inventaires montre que l'état sanitaire varie selon les peuplements : ils sont affaiblis à M'Sila (Id= 2,0) en région littorale, dépérissants à Nesmoth (Id= 2,5) en montagne, mais relativement sains à Hafir-Zarieffet (Id= 1,5) à quelques exceptions près. Globalement, les indices varient faiblement d'une année à l'autre (CV=6%), montrant que le niveau de défoliation des arbres évolue peu au cours du temps. La dégradation lente des peuplements se manifeste selon les forêts après plusieurs saisons végétatives voire des décennies. Le « dépérissement aigu », qui apparaît partout de façon ponctuelle, affecte un petit nombre d'arbres (4% du total). Les analyses factorielles ont permis de sélectionner parmi 15 facteurs biotiques et abiotiques ceux qui semblent jouer un rôle essentiel dans le processus de dépérissement : facteurs édaphiques (texture du sol), climatiques (pluies annuelles), sylvicoles (embroussaillage, densité du peuplement), entomologiques (2 types de xylophages dont *Platypus cylindrus*) et anthropiques (surpâturage).

Mots-clés : dépérissement, chêne-liège, nord-ouest algérien, xylophages, climat, sylviculture.

Introduction

Le problème de la dégradation sanitaire des écosystèmes forestiers (feuillus et conifères) est connu depuis la fin du 19^{ème} siècle. Il s'est accru dans de nombreux pays au début du siècle dernier, en Europe notamment, mais aussi en Amérique du Nord. L'apparition de phénomènes plus spectaculaires connus sous le nom de « déclin » ou « dépérissement » n'a pris un caractère vraiment inquiétant qu'au début des années 1980 (Delatour, 1983 ; Bonneau & Landmann, 1988). Cette dégradation, caractérisée par des anomalies diverses, a été signalée pour la première fois par Falck (1924 in Delatour, 1983) puis, plus tard, par de nombreux autres auteurs comme Chararas (1980) ou Lohéle (1988 in Sousa, 1996). Plusieurs facteurs défavorables ont été impliqués dans ce processus qui présente souvent deux phases : une phase d'affaiblissement suivie d'une phase de dépérissement proprement dit.

Dans la région méditerranéenne occidentale, les forêts, de chêne-liège en particulier, ne font pas exception à la règle mais sont affectées avec une intensité variable selon les pays. Alors que les mécanismes à l'origine de l'altération physiologique des arbres ne sont pas encore bien élucidés, les symptômes et les agents responsables du dépérissement sont au contraire bien connus. Leur description a fait l'objet de nombreux travaux, notamment ceux de Nageleisen et al. (1990) en France, Sousa (1995) au Portugal, Bakry & Abourouh (1995) au Maroc et Franceschini et al. (1999) en Sardaigne.

Nous proposons ici, à partir de nos propres observations, un modèle conceptuel détaillant les mécanismes généraux susceptibles d'intervenir lors du processus de dégradation des subéraies de l'ouest algérien et qui prend en compte l'ensemble des facteurs directement impliqués.

Matériel et méthodes

Les mécanismes intervenant dans les phénomènes d'affaiblissement et de dépérissement des peuplements de chêne-liège ont été étudiés à partir d'un réseau constitué de 13 stations d'observation, implanté en 1999 dans 4 forêts du nord-ouest algérien. Le choix des forêts, stations et arbres a fait l'objet d'un précédent article (Bouhraoua et al., 2002).

Caractérisation des stations

Pour caractériser au mieux les peuplements, nous avons effectué différents relevés décrivant soit les stations (géographie, topographie, pédologie, floristique, sylviculture et climat) soit les arbres-échantillons (données dendrométriques et d'exploitation).

Evaluation de la vitalité des arbres et des peuplements

La méthode adoptée pour apprécier la vigueur des arbres et l'état général des peuplements repose essentiellement sur deux examens : de la cime et du tronc. L'état de la cime est le plus souvent pris en compte pour apprécier la vitalité des arbres de nombreuses essences forestières, feuillues ou résineuses (Becker, 1987 ; Bonneau & Landmann, 1988) ; l'examen consiste à évaluer à vue la proportion de feuillage perdu ou non reconstitué, qu'on appelle « défoliation » (DSF, 1991 ; Nageleissen et al, 1990). Le niveau de défoliation comprend 4 classes correspondant à 4 catégories sanitaires (Tab.1).

La note de défoliation a été relevée chaque année (1999-2002) en été, entre mi-juin et fin juillet, soit après l'achèvement de la feuillaison et de l'élongation des feuilles. L'état général du peuplement a été apprécié par un indice de dépérissement « Id » qui prend en compte le niveau de défoliation de tous les arbres observés. Il est calculé d'après la formule de Bouvarel (1984) pour le sapin et l'épicéa et modifiée pour le chêne-liège.

$$Id = \frac{(n_1. P_1) + (n_2. P_2) + n_3. P_3 + (n_4. P_4) + (n_5. P_5)}{N}$$

où n_i est le nombre d'arbres de la classe i de défoliation, P_i le Poids de la classe i (1 si $i=1$, 2 si $i=2$ etc.) et N l'effectif total d'arbres observés dans la station.

Selon les valeurs de cet indice, on distingue 3 niveaux de dépérissement (Tab.1)

Tableau 1: Classes de défoliation, indice de dépérissement et principales catégories sanitaires des arbres et des peuplements.

Statut sanitaire des arbres			Statut sanitaire des peuplements	
Classes de défoliation	(%) feuillage perdu	Catégories sanitaires	Indice de dépérissement	Niveau de dépérissement
1	< 25	sain	Id < 1,5	non dépérissant ou sain
2	30-60	affaibli	1,6 < Id < 2,0	début de dépérissement
3	65-95	dépérissant	2,1 < Id < 2,5	dépérissement assez grave
4	100	mort	Id > 2,6	dépérissement grave

Le second examen consiste à observer de la surface du tronc, sur une hauteur ne dépassant pas 3 mètres, pour mettre en évidence la présence de trous d'insectes xylophages mais aussi de crevasses, dont la densité est relevée sous forme de notes.

Traitements des données

Pour mieux comprendre la relation existant entre la détérioration de l'état sanitaire des peuplements des 13 stations et les différents paramètres du milieu susceptibles d'être défavorables aux arbres, nous avons soumis à une AFC un tableau du relevé de 15 variables biotiques et abiotiques dans chaque station (Tab.2). L'analyse a été réalisée à l'aide du logiciel statistique R (version 1.41 pour Windows) disponible sur Internet (<http://cran.r-project.org/>).

Tableau 2 : Codes et modalités et des variables retenues pour l'AFC

Variables	Code	Nombre et descriptif des modalités
Circonférence (cm)	Cir	5 : 1(<70), 2(70-109), 3(110-149), 4(150-189), 5 (>189)
Nombre d'écorçages	Neç	5 : 1 (aucun), 2 (1 écorçage), 3 (2 écorçages), 4 (3 écorçages), 5 (>4)
Coefficient écorçage	Ceç	5 : 1 (aucun), 2 (< 1,5), 3 (1,5-2,4), 4 (2,5-3,4), 5 (> 3,4)
Ancienneté écorçage	Aeç	5 : 1 (aucun), 2 (2-5 ans), 3 (6-9ans), 4 (10-13 ans), 5 (14-19 ans)
Profondeur du sol	Prs	2 : 1 (< 60 cm), 2 (> 60 cm)
Texture du sol	Tex	3 : 1 (sableux), 2 (sablo-limoneux à sablo-argileux), 3 (argilo/limono-sableux)
Indice dépérissement	Idp	4 : 1 (< 1,5), 2 (1,6-2), 3 (2,1-2,5), 4 (> 2,6)
Pluies annuelles *	Pla	3 : 1 (< 400 mm), 2 (400-500 mm), 3 (> 500 mm)
Sous-bois	Sbs	5 : 1 (nul), 2 (réduit), 3 (moyen), 4 (dense pénétrable), 5 (dense, impénétrable)
Densité peuplement	Den	3 : 1 (faible), 2 (moyenne), 3 (forte)
Incendies	Inc	2 : 1 (aucun passage visible), 2 (un passage visible)
Concurrence	Ces	4 : 1 (nulle), 2 (faible), 3 (moyenne), 4 (forte).
Trous de pénétration	Trp	3 : 1 (faible), 2 (moyen), 3 (abondant)
Trous sortie insectes	Trs	3 : 1 (faible), 2 (moyen), 3 (abondant)
Déhiscence du liège	Deh	6 : 1 :(nulle), 2(1-10%), 3(11-25%), 4 (26-50%), 5 (51-75 %), 6 (>75)

Résultats et discussion

Caractéristiques des stations d'observation

Les peuplements des stations sont naturels, excepté ceux de St5 (à Hafir), St12 et St13 (à Nesmoth), où les arbres proviennent de reboisements effectués respectivement dans les années 1920 et 1940. Ce sont des vieilles futaies d'aspect jardiné en général, ou de taillis sous futaie issu des souches ayant rejeté après les coupes d'assainissement faites en 1984 (St11). Les peuplements sont purs ou parfois mélangés avec du pin d'Alep (St3, St4 et St8), du chêne zeen (S6 et S11) ou du chêne vert (S9). Le sous-bois, abondant dans quelques stations St3, St4 et St11, est ailleurs réduit ou absent. Les incendies ont parcouru plusieurs fois le massif forestier de Hafir-Zarieffet où les derniers passages ont été enregistrés en 1994. Ailleurs, ils sont très rares.

Evaluation de la vitalité des arbres et des peuplements

La synthèse des résultats des 4 années de relevés effectués dans les peuplements de chêne-liège de chaque forêt montre que l'état sanitaire varie beaucoup d'une forêt à l'autre. Une certaine hétérogénéité stationnelle est en outre visible au sein de chacune des forêts (Fig.1).

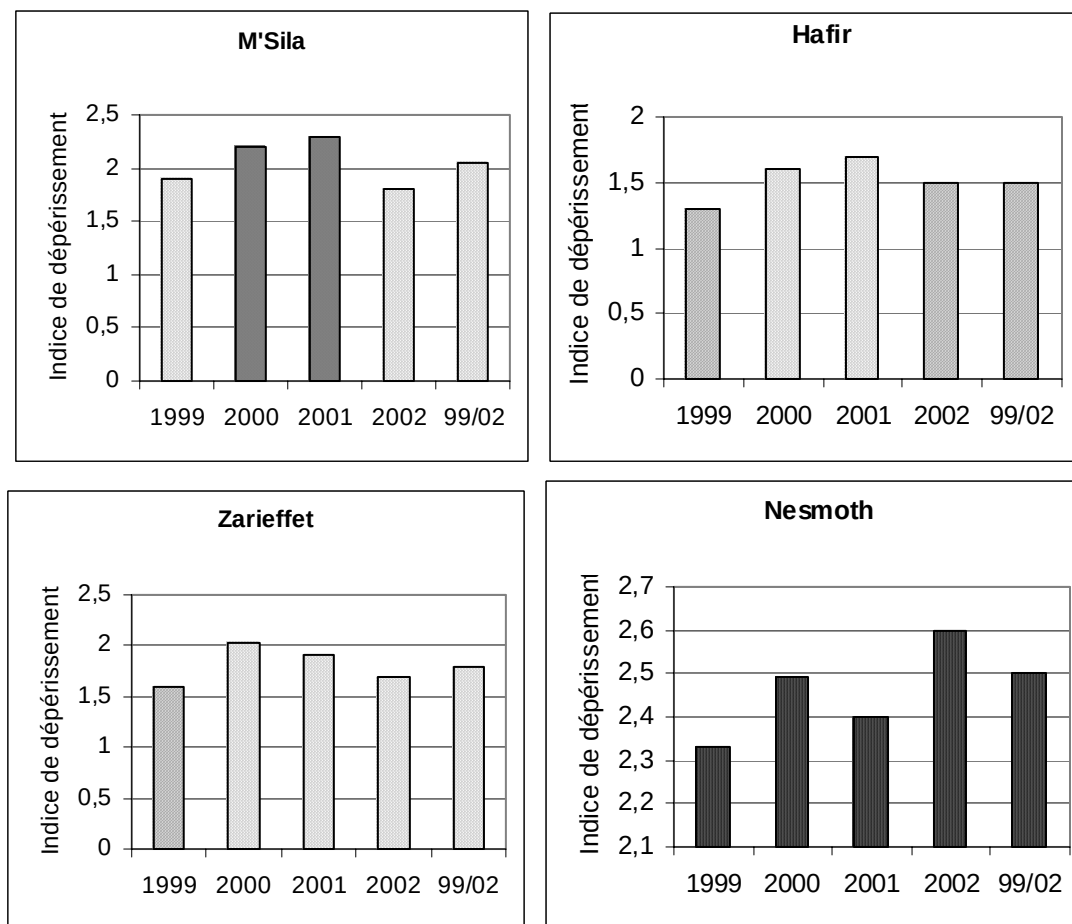


Figure 1 : Evolution annuelle et moyenne sur 4 ans (99-02) de l'indice de dépérissement des peuplements de chêne-liège pour l'ensemble des stations de chacune des 4 forêts.

En région littorale (M'Sila), sous un bioclimat semi-aride, les peuplements sont en général affaiblis ou en début de dépérissement ($Id=2,0$) et les stations envahies de sous-bois ou de pin d'Alep sont plus dépérissantes que les autres ; les valeurs de l' Id y sont donc plus élevées. En montagne, le statut sanitaire des peuplements est très contrasté. Ils sont dépérissants à Nesmoth ($Id=2,5$) et relativement sains à Hafir-Zariéffet ($Id=1,5$), exceptés quelques sites montrant des signes d'affaiblissement plus marqué.

Globalement, l'état général de tous ces peuplements varie peu d'une année à l'autre ($CV=6\%$), ce qui souligne la lente évolution du niveau de défoliation des arbres au cours du temps. Néanmoins, une légère progression de cet indice a été observée en 2000 et en 2001 dans la majorité des forêts, mettant en évidence une dégradation plus sévère mais temporaire de l'état sanitaire des peuplements.

Caractéristiques du phénomène d'affaiblissement et de dépérissement

Dans l'état actuel de nos observations, nous pouvons mettre en avant quelques particularités du phénomène de dépérissement observé dans l'ouest algérien. L'analyse de l'évolution de la défoliation sur l'ensemble des arbres montre que la majorité (65%) présente des fluctuations pluriannuelles correspondant souvent à leur passage d'une classe de défoliation à l'autre. Une évolution à sens unique dans le sens d'une amélioration ou d'une dégradation est relativement peu fréquente. La vitesse de dégradation des peuplements est donc lente et correspond à un « dépérissement chronique », qui semble se manifester après plusieurs saisons végétatives en

climat semi-aride (M'Sila, Nesmoth) voire après des décennies en climat sub-humide (Hafir-Zarieffet). Le « dépérissement » aigu », qui apparaît partout de façon ponctuelle, affecte une faible proportion d'arbres (4% du total) ; plus de la moitié d'entre eux poussent en zone littorale, les autres se répartissant entre les 3 forêts de montagne.

Les symptômes de la dégradation sanitaire des arbres correspondent le plus souvent à la mort de rameaux et de branches périphériques, à une elongation réduite des pousses qui donnent des feuilles chétives, et à l'absence de débourrement. Ils se manifestent à des époques différentes selon le type de dépérissement et les forêts, mais le plus souvent en été.

Principales causes explicatives du phénomène d'affaiblissement et de dépérissement

Les relations entre 15 variables écologiques et forestières et les 13 stations d'observation ont été analysées à l'aide d'une AFC (Fig. 2). Dans le premier plan factoriel, deux groupes de stations se distinguent en fonction de leur état sanitaire. Le premier groupe, qui comprend les peuplements dont l'état sanitaire est le meilleur (stations St5 à St10), s'oppose nettement aux peuplements plus affaiblis le long de l'axe 1 (stations St1, St2, St12, St13) et/ou de l'axe 2 (St11, St12, St13) qui présentent un indice de dépérissement (Idp) élevé (>1,5).

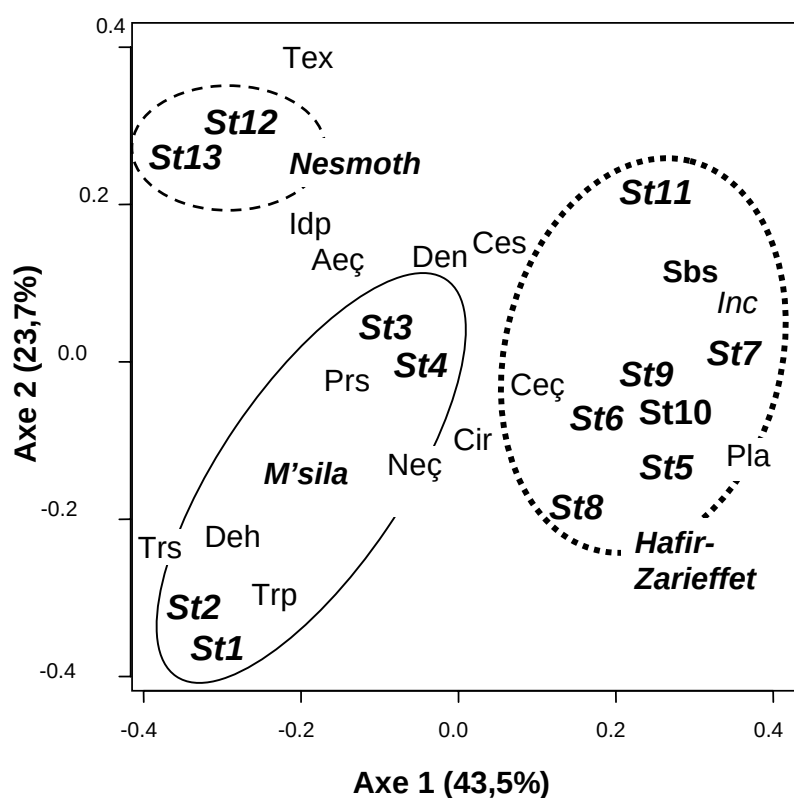


Figure 2: Projection des variables écologiques et forestières et des 13 stations d'observation sur le premier plan de l'AFC (variables écologiques : cf. Tab. 1)

Parmi les facteurs contribuant fortement aux axes et associés aux peuplements les plus dégradés, nous pouvons citer :

- un sol de texture (Tex) superficielle fine limono- ou argilo-sableuse : cas des stations St11, St12 et St13 ;
- la présence d'un abondant cortège de xylophages secondaires dont on repère les trous de sortie (Trs) (cas de *Stromatium fulvum*), ou les trous de pénétration (Trp) (cas de *Platypus*

- cylindrus*). Ces insectes sont particulièrement abondants dans les stations St1 et St2 et plus encore dans les stations S12 et S13 ; leurs attaques ont un impact négatif non seulement sur la qualité du liège dont elles favorisent la déhiscence mais aussi sur la santé des arbres.
- une pluviométrie annuelle déficitaire (< 400 mm) particulièrement faible à M'Sila (St1 à St4) et à Nesmoth (St12 et St13), où le chêne-liège reçoit une quantité de pluies inférieure à sa limite de tolérance. Les stations en bon état sanitaire (Hafir-Zarieffet) sont au contraire associées, sur l'axe 1, à des valeurs élevées de la pluviométrie annuelle (Pla).
 - la présence d'un sous-bois abondant (Sbs) parfois impénétrable (St11) entraînant une forte concurrence entre les arbres pour l'eau et les éléments minéraux. La même relation entre densité du sous-bois et dépérissement se retrouve sur l'axe 3 de l'AFC pour les stations St3 et St4.

Processus de dégradation de l'état sanitaire des arbres

A la lumière de nos premiers résultats (Bouhraoua, 2003) et des facteurs d'affaiblissement mis en évidence, nous avons tenté de concevoir, pour chacune des forêts étudiées, un modèle d'évolution du processus de dégradation des peuplements de chêne-liège.

M'Sila (stations 1-4) : La cause première de l'affaiblissement des peuplements de M'sila semble être liée à la succession de cycles d'années sèches, notamment à partir des années 60. L'affaiblissement des arbres du au déficit hydrique a été accentué par une série de facteurs défavorables comme la texture sableuse du sol en profondeur, un embroussaillage important et un peuplement très dense. L'intervention simultanée de ces trois facteurs a entraîné à plus ou moins long terme un affaiblissement plus marqué des peuplements des stations 3 et 4 en particulier. Les peuplements affaiblis sont devenus plus vulnérables à l'installation et la multiplication de parasites de « faiblesse », notamment des xylophages. Certains de ces agresseurs, tel *Platypus cylindrus*, se seraient installés précocement tandis que la majorité des autres, dont *Stromatium fulvum*, seraient intervenus tardivement. L'action de ces insectes et les mauvaises conditions de levée du liège ont provoqué un dépérissement irréversible des arbres et la mort de certains d'entre-eux.

Hafir-Zarieffet (stations 5-11) : Dans ce massif, l'état sanitaire de la plupart des peuplements étudiés est satisfaisant, grâce à une abondante pluviométrie annuelle (Pla > 600 mm). Seule la station 11 montre des signes d'affaiblissement. Elle est la seule des stations étudiées dans ce massif dont les horizons superficiels ont une texture argilo-sableuse. Cette texture, en favorisant le ruissellement des eaux de pluie, entraîne une diminution des réserves d'eau emmagasinées dans le sol. Ces réserves, déjà insuffisantes pour les arbres, sont en outre en partie utilisées par le sous-bois trop abondant. Les arbres les plus dépérissants sont colonisés par *Platypus cylindrus* dont les attaques finissent par provoquer leur mort.

Nesmoth (stations 12-13) : Dans cette forêt, où les pluies sont faibles (< 400 mm), la perte d'eau par ruissellement due à la texture fine limono-sableuse est accentuée par le damage du sol provoqué par le surpâturage. L'affaiblissement des peuplements résulte de la diminution des réserves d'eau du sol et de la sécheresse prolongée. Ce déficit hydrique se manifeste souvent par un affaiblissement marqué évoluant vers un dépérissement proprement dit. Cette situation sanitaire a favorisé comme ailleurs la pullulation d'insectes xylophages qui provoquent des mortalités moins importantes que celles dues aux champignons racinaires.

Conclusion

Dans les conditions actuelles de nos recherches, on peut dire que l'état général des peuplements de chêne-liège de la région n'est pas stable mais subit au contraire des fluctuations annuelles peu sensibles se manifestant par le passage fréquent des arbres d'une classe de défoliation à l'autre. Le phénomène d'affaiblissement ainsi enregistré évolue

lentement dans la majorité des forêts, et les déficits foliaires observés sont la conséquence de phénomènes relativement anciens. La lenteur du processus d'affaiblissement suggère que cet écosystème a acquis une forme de « résistance » vis à vis des multiples facteurs écologiques adverses. Parmi ces derniers, citons principalement l'absence de sylviculture appropriée (absence de débroussaillage, de coupes d'assainissement, d'éclaircies), qui a favorisé l'installation et la pullulation d'agents biotiques causant la mort des arbres tels que *Platypus cylindrus* et les trachéomycoses.

La mortalité des arbres, qui ne dépasse pas en moyenne 1% par an, affecte plus les zones à ambiance « semi-aride » telles que le massif M'Sila. Il s'impose par conséquent de porter une intention toute particulière à la protection de cet écosystème déjà fragile par l'application d'une sylviculture appropriée associée à des programmes de réhabilitation visant à une relance éventuelle de la production de liège, en quantité comme en qualité.

Références

- Bakry, M. & Abourouh, M. 1995 : Dépérissement du chêne-liège au Maroc : Etats des connaissances et perspectives. – IOBC/wprs Bull. 18 (6) : 50-56.
- Becker, M. 1987 : Bilan de santé actuel et rétrospectif du Sapin (*Abies alba* Mill.) dans les Vosges. Etude écologique et dendrochronologiques. – Ann. Sci. For. 44 (4) : 379-402.
- Bouhraoua, R.T. 2003 : Situation sanitaire de quelques forêts de chêne-liège de l'Ouest algérien : étude particulière des problèmes posés par les insectes. – Thèse d'état, Département de Foresterie, Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, 290 p.
- Bouhraoua, R.T., Villemant, C., Khelil, M.A. & Bouchaour, S. 2002 : Situation sanitaire de quelques subéraies de l'ouest algérien : Impact des xylophages. Integrated Protection in Oak Forests. – IOBC/wprs Bull. 25(5) : 85-92.
- Bonneau, M. & Landmann, G. 1988 : Le dépérissement des forêts en Europe. – La Recherche, 205 (19) : 1542-1556.
- Bouvarel, P. 1984 : Le dépérissement des forêts attribué aux dépôts atmosphériques acides. – Rev. For. Fr. 34 (3) : 173-180.
- Chararas, C. 1980 : Etude écophysiological des scolytidae parasites des conifères. I : les Scolytidae spécifiques de *Cedrus atlantica*. – Ann. Rech. Forest. Maroc, 20 : 207-266.
- DSF. 1991 : Le dépérissement du chêne-liège (*Quercus suber* L.). – Information Santé des Forêts, 7 Janvier 1991, 3 p.
- Delatour, C. 1983 : Les dépérissements de chênes en Europe. Rev. For. Fr. – IOBC/Wprs Bull. 35(4) : 255-281.
- Franceschini, A., Corda, P., Maddau, L., Sechi, C. & Ruiiu, P.A. 1999 : Manifestations de dépérissement du chêne-liège en Sardaigne. – IOBC/wprs Bull. 22 (3) : 1-3.
- Sousa, E.M.R., 1995 : Les principaux ravageurs du chêne-liège au Portugal. Leurs relations avec le déclin des peuplements. – IOBC/wprs Bull. 18(6) : 18-23.
- Sousa, E.M.R., 1996 : Contribution à l'étude de la biologie de population de *Platypus cylindrus* (Coleoptera, Platypodidae) dans les peuplements de chêne-liège au Portugal. – Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard, Lyon, 163 p.
- Nageleissen, L.M., Maugard, F., Mirault, J. & De Villebonne, D. 1990 : Les dépérissements d'essences feuillues. La Santé des forêts (France) en 1990. – Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, Paris : 22-25.

General mechanisms of sanitary alteration of cork oak stands in North Occidental Algeria.

Abstract: The mechanisms inducing the weakening and decline of cork oak stands were studied in a 13 station network set up in 4 north-occidental Algerian forests. The stand vigour was assessed during 4 years (1999-2002) using a decline index (Id) based on the tree defoliation notes recorded in each station. The survey showed that the tree sanitary state varied according to the stands, which are weakened in the M'sila forest (Id=20) near the cost-line, declining in the Nesmoth forest (Id= 2,5) in the mountains, but quite healthy in the Hafir-Zarieffet forest (Id= 1,5). Globally, decline indices varied only slightly from year to year (CV=6%), showing that the tree defoliation level evolved in the course of time. The stand decline slowly spread in the forests after several vegetative seasons even decades. The "sharp decline", which occurred locally, only concerned a few number of trees (4%). A factorial analysis testing the relation between sanitary state of the sites and 15 antagonist factors, evidenced that several of them played a major role in the decline process: soil factors (texture), climate (annual rains), silviculture (undergrowth and stand density), insect pests (2 types of xylophagous species among which *Platypus cylindrus*) and human impact (overpasture).

Key words: decline, cork oak, north-western Algeria, xylophagous insects, climate, silviculture.

Le déclenchement des perturbations physiologiques des peuplements de chêne-liège: une synthèse des relations agent/hôte

Edmundo De Sousa ¹, Zineb Atay Kadiri ²

¹ INIAP–Estação Florestal Nacional; Departamento de Protecção Florestal,
Quinta do Marquês 2780 Oeiras, Portugal. edmundo.sousa@efn.com.pt

² Faculté des Sciences Université Mohamed V, Agdal, Rabat, Maroc

Résumé: Depuis le début des années 1980, le déclin généralisé des subéraies a induit une réduction graduelle de l'aire de répartition du chêne-liège, de la densité des peuplements et de la production annuelle du liège dans toute la région méditerranéenne. Plusieurs hypothèses ont été formulées pour expliquer ce phénomène dont l'ampleur varie avec les facteurs de l'environnement, les caractéristiques du site, du peuplement et les agents biotiques. Il est clairement établi qu'il n'existe pas de modèle général unique, mais plusieurs situations de déclin spécifiques. Les subéraies méditerranéennes sont en effet soumises à des contraintes écologiques variées et de plus en plus exposées à l'action de l'homme. Nous proposons ici une stratégie d'évaluation globale du problème dans le cadre d'études pluridisciplinaires, réalisées au niveau de chaque écosystème à l'aide de méthodologies communes.

Mots-clés: *Quercus suber*, bassin méditerranéen, dépérissement, facteurs

Introduction

Les forêts méditerranéennes couvrent environ 81 millions d'hectares (9,4% de la superficie forestière mondiale) et sont constituées d'une mosaïque d'essences forestières, principalement des feuillus (environ 60%) (Mugnossa et al., 2000). Certaines ont une importance écologique fondamentale. C'est le cas des subéraies qui occupent 2,2 millions d'ha : 33% au Portugal, 23% en Espagne, 1% en France, 10% en Italie, 15% au Maroc, 21% en Algérie et 3% en Tunisie. Ces forêts produisent une grande quantité de liège (environ 300 millions de kg par an) dont 87% vient d'Europe (55% du Portugal, 28% d'Espagne, 1% de France et 3% d'Italie) et le reste d'Afrique du Nord (4% du Maroc, 6% d'Algérie, 3% de Tunisie (Lopes, 1996).

Mais l'importance économique de la subéraie ne se limite pas à la seule production de liège. En effet, les fruits et le feuillage, qui nourrissent le bétail, et les dépôts de bois issus de la taille, qui sont utilisés pour la production du bois de chauffage ou du charbon, sont une ressource fondamentale pour certaines communautés rurales. Le sous-bois est très riche en plantes aromatiques et médicinales et constitue en outre un support pour la faune cynégétique.

Etat actuel du déclin du chêne liège dans la région méditerranéenne

Les forêts méditerranéennes sont menacées de disparition à raison de 1,2% de perte de surface par an. Les subéraies sont un des écosystèmes les plus fragiles du fait de la pression de nombreux facteurs, dont l'impact est accentué par l'activité humaine. Les symptômes de dépérissement les plus caractéristiques sont les défoliations sévères, une croissance anormale des bourgeons proventifs et l'apparition d'exsudations sur le tronc. Ce phénomène est devenu manifeste au cours des années 1980, même si des affaiblissements localisés étaient déjà connus auparavant. Durant la même période, on a observé un déclin similaire d'autres

essences forestières (*Quercus* spp., *Abies* spp., *Picea* spp., *Pinus* spp., *Fagus* spp., *Castanea sativa*) en Europe et en Amérique du Nord (Bonneau & Guy, 1985). Depuis lors, deux préoccupations majeures retiennent l'attention des gestionnaires forestiers: la confirmation et quantification du déclin et l'identification des facteurs responsables.

Evaluation de l'impact du phénomène et quantification de son extension

Des évaluations quantitatives du déclin du chêne liège ont été réalisées un peu partout dans la région méditerranéenne. La réduction graduelle de l'aire de *Quercus suber* L., de la densité des peuplements et de la production du liège ont été constatés au Portugal, en Espagne (Gottaredona, 1992), en France (Mirault, 1996), en Italie (Franceschini et al., 1999) et dans les pays du Maghreb : Maroc, Tunisie et Algérie (El Yousfi, 1995 ; Ben Jamaa & Hasnaoui, 1996). Au Portugal, Mendes (1996) a signalé une réduction de la production de liège durant les périodes 1970-78, 1979-87 et 1988-96 qui a atteint respectivement 89%, 73% et 69% de la production des années 1961-69. La situation est aussi alarmante au Maroc où les subéraies du nord ouest ont été réduites de 30% au cours des 15 dernières années (Graf et al., 1992). En Italie, Luciano & Prota (1995) ont signalé une diminution de 40 à 60% de la production de liège dans les peuplements ayant subi une défoliation sévère (supérieure à 50%).

Une évaluation globale de l'extension spatiale des dégâts s'avère malgré tout difficile et ne reflète pas la réalité, car les méthodes utilisées varient selon les pays et les objectifs visés. C'est le cas par exemple des données relatives à l'extension et l'intensité du déclin : au Portugal, les taux de mortalité du chêne-liège (de 3% à 13%) et le pourcentage d'arbres affaiblis (de 12% à 97%) varient ainsi selon le peuplement considéré et les méthodes utilisées. Ces méthodes correspondent à deux types fondamentaux d'évaluation : celles concernant de grandes superficies et celles obtenues sur des parcelles de dimensions réduites. Les premières (p. ex. analyse dichroïque par photo-interprétation, photographie aérienne I.R. en fausse couleur) permettent seulement la détection des surfaces affectées par le dépérissement, alors que les secondes permettent d'identifier sur le terrain tous les symptômes d'affaiblissement des arbres, ce qui aboutit à des évaluations plus pessimistes de l'extension du dépérissement.

D'autre part, certains auteurs ont rapporté que le déclin n'apparaît pas de façon aléatoire mais en relation étroite avec la localisation des peuplements. Ainsi, au Portugal, d'après une étude réalisée sur 200 000 ha de subéraie, on a constaté qu'un grand nombre d'arbres affectés se trouvent dans les vallées et sur les versants exposés au sud.

Évaluation des causes potentielles du déclin

Les efforts pour évaluer les causes du dépérissement du chêne liège, dans toute la région méditerranéenne, se sont intensifiés ces dernières années. Parmi les facteurs multiples potentiellement responsables du déclin, certains facteurs biotiques et abiotiques ont été clairement reconnus comme ayant un rôle direct ou indirect dans tout le processus.

On admet toutefois qu'il existe une relation indéniable entre le déclin et l'augmentation des populations des agents nocifs, malgré le manque de données sur les mécanismes à l'origine des processus séquentiels provoquant l'affaiblissement des arbres.

Les principaux agents abiotiques

Plusieurs facteurs abiotiques ont été identifiés, notamment:

- une déficience hydrique du sol (Méthy et al., 1996; Oliveira et al., 1992), qui est la conséquence d'une réduction des précipitations printanières (David et al., 1992).
- une insuffisance ou l'excès de certains éléments chimiques dans le sol (Bernardo et al., 1992; Huber, 1978; Sousa et al., 2000). Au Portugal, le déclin se manifeste sur des sols à pH de tendance acide, ayant une faible concentration en potassium, calcium, manganèse ou présentant des valeurs élevées d'aluminium et de zinc (Cabral & Lopes, 1992).

- l'intervention humaine associée au déliègeage excessif (qui induit des perturbations physiologiques de l'arbre), ainsi qu'à l'ouverture ou à la destruction du sous-bois ; outre un accroissement de l'érosion, elle entraîne de nouvelles conditions environnementales, telles qu'une élévation de la température et une réduction de la teneur en eau (Sousa, 1995).

Les facteurs biotiques associés au déclin du chêne liège sont essentiellement des insectes ravageurs (Chadigan 1990, Villemant & Fraval, 1991, Hamdaoui, 1994; Sousa, 1995) ou des maladies cryptogamiques (Brasier et al., 1992; Franceschini et al., 1993 ; Bakry & Abourouh 1995). Les données sur les bactéries, les virus et les nématodes restent très rares. Ragazzi (1992) a identifié quelques microorganismes liés au déclin d'autres espèces de *Quercus*. Quant aux nématodes, Tomiczek (1992) a signalé la présence de *Bursaphelenchus fraudulentus* (Rühm) J. B. dans le tronc et les branches de *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. et de *Q. robur* L. liée à des symptômes de déclin. Au Portugal, Roca & Bravo (1997) indiquent la présence de *Xiphinema dissimile* Cobb. sur *Quercus* sp.

Il demeure cependant quasiment impossible d'identifier des situations de déclin dues uniquement aux agents biotiques, car la plupart des cas correspondent à des modèles phytosanitaires complexes. De plus, il est clairement établi qu'un seul agent biotique ne peut être responsable du dépérissement du chêne-liège. Au Portugal, par exemple, les attaques de défoliateurs tels que *Lymantria dispar* (L.), *Euproctis chrysorrhoea* L. et *Tortrix viridana* L., qui étaient très importantes au cours de la période 1940-1960, ont été graduellement remplacées par celles de coléoptères comme *Platypus cylindrus* F. et *Coroebus undatus* (F.).

Par ailleurs, les situations semblent différer selon les pays. Ainsi, au Maroc les défoliateurs, particulièrement *L. dispar*, continuent d'être associés au dépérissement du chêne-liège alors que l'on constate une nette augmentation des attaques de *P. cylindrus* et de *Cerambyx cerdo* L. (El Antry, 1994, Hamdaoui, 1994). De même, en Italie, les défoliations dues à *L. dispar* continuent d'être associées au déclin du chêne liège (Luciano & Prota, 1995).

Quand aux champignons pathogènes, on signale les attaques de *Armillaria* sp., *Phytophthora cambivora* (Petri) Buism., *P. cinnamoni* Rands, *Endothiella gyrosa* Sacc., *Biscogniauxia mediterranea* De Not. Kuntze (= *Hypoxylon mediterraneum*), *Botriosphaeria stevensii* Shoemaker - f. anamorphe *Diplodia mutila* Fr. apud. Mont., *Corineum nodomium* (Tul.) Griff. & Maube et *Ophiostoma* spp.

Cependant, les résultats obtenus jusqu'ici n'expliquent pas de manière satisfaisante l'origine exacte et les causes spécifiques du phénomène de dépérissement des subéraies.

Les interactions entre facteurs

Les évaluations partielles qui prennent en considération un seul facteur associé au dépérissement ne sont pas susceptibles d'expliquer toute la complexité du phénomène. Par conséquent, la stratégie la plus valable est de considérer que le déclin du chêne-liège est un processus graduel faisant intervenir plusieurs facteurs, de façon séquentielle ou simultanée (Tab. 1). Cette situation peut provoquer des perturbations dans l'équilibre dynamique de l'écosystème forestier qui induisent l'apparition de situations à risque.

Les facteurs de prédisposition sont ceux qui opèrent d'une manière continue sans interruption pendant de longues périodes et qui entraînent l'affaiblissement graduel des arbres sans pour autant provoquer l'apparition de symptômes. Puis interviennent les facteurs de déclenchement, qui agissent de façon ponctuelle en réduisant la capacité de défense des arbres et créent ainsi des conditions favorables à l'action des facteurs d'accélération (tels que les attaques de certaines espèces de champignons ou d'insectes).

Plusieurs tentatives ont été faites pour trouver des associations entre différents facteurs (écologiques, facteurs sociaux et de l'exploration, agents nocifs, législation et intervention de l'état). L'attitude simpliste qui consiste de rechercher des relations directes de cause à effet a été progressivement remplacée par des études systématiques de chaque situation dans le cadre

Tableau 1. Principaux facteurs associés au déclin des peuplements de chêne-liège

Facteurs de prédisposition	Facteurs de déclenchement	Facteurs d'accélération
- exploitation intensive des ressources - gestion incorrecte - pâturage intensif - céréaliculture intensive - perturbations au niveau du sol (érosion, chimie du sol, acidification) - utilisation de grandes machines agricoles	- défoliateurs - sécheresses - déliègeage excessif - taille intensive des arbres	- insectes xylophages et xylomycétophages - champignons pathogènes

de l'écosystème dans son ensemble. Des travaux ont été ainsi entrepris sur l'effet du déficit hydrique, de la composition chimique du sol, du comportement des agents nocifs et de l'augmentation de la sensibilité de l'hôte (Jacobs et al., 1992). Il semble qu'une corrélation étroite existe entre le régime hydrique et la fréquence et l'intensité des attaques des agents biotiques (Luisi et al., 1992). Par ailleurs, quelques données ont été obtenues sur les relations existant entre les insectes et les champignons, en particulier pour *P. cylindrus* (Platypodidae), car plusieurs espèces de champignons associées à l'insecte ont été identifiées au Maroc et au Portugal. Certains, comme *Cephalosporium* sp., *Nodulisporium* sp., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Raffaelea ambrosiae* Arx & Henneb., *Fusarium* sp. et *Graphium* sp., sont susceptibles d'être pathogènes pour le chêne-liège (Sousa et al., 1997; Sousa & Guedes, 1999).

Des études sur les relations entre l'insecte et l'arbre hôte ont été également réalisées, notamment sur les stratégies de colonisation d'un ravageur donné ou les caractéristiques de l'arbre qui favorisent particulièrement son attaque. Dans le cas de *P. cylindrus*, on a montré l'existence d'une sélection spécifique en fonction des caractéristiques sylvoles de l'arbre ou du peuplement hôte.

Les stratégies à adopter

A partir des travaux existants, on peut tirer au moins deux conclusions consensuelles : le déclin évident de la subéraie d'une part et l'identification des facteurs impliqués d'autre part. Cependant le travail est loin d'être achevé compte tenu du dynamisme de l'écosystème et des nombreuses perturbations auxquelles sont soumis les peuplements de chêne-liège. La souplesse de la réponse aux changements de l'équilibre plante/sol/eau demeure très limitée.

L'affaiblissement indéniable des peuplements forestiers du bassin méditerranéen est lié à l'action et l'interaction de plusieurs facteurs biotiques et abiotiques (Fig. 2) qui entraînent, directement ou indirectement, une diminution progressive de la vigueur des arbres. Ce phénomène entraîne une réduction de leur capacité de défense, créant les conditions favorables à l'installation d'agents biotiques tels que les insectes xylophages et les champignons pathogènes.

Une compréhension globale du problème nécessite une approche pluridisciplinaire pour chaque situation, en élaborant un projet bien équilibré qui intègre des groupes de recherche sur la gestion de la forêt.

Il est nécessaire d'analyser les situations dans un cadre multidisciplinaire, après l'intégration de toutes les connaissances et l'élaboration de stratégies communes, notamment :

- l'uniformisation des méthodes d'évaluation des dommages dans tous les peuplements de chêne-liège méditerranéens et la quantification des dégâts dans l'espace ou dans le temps.

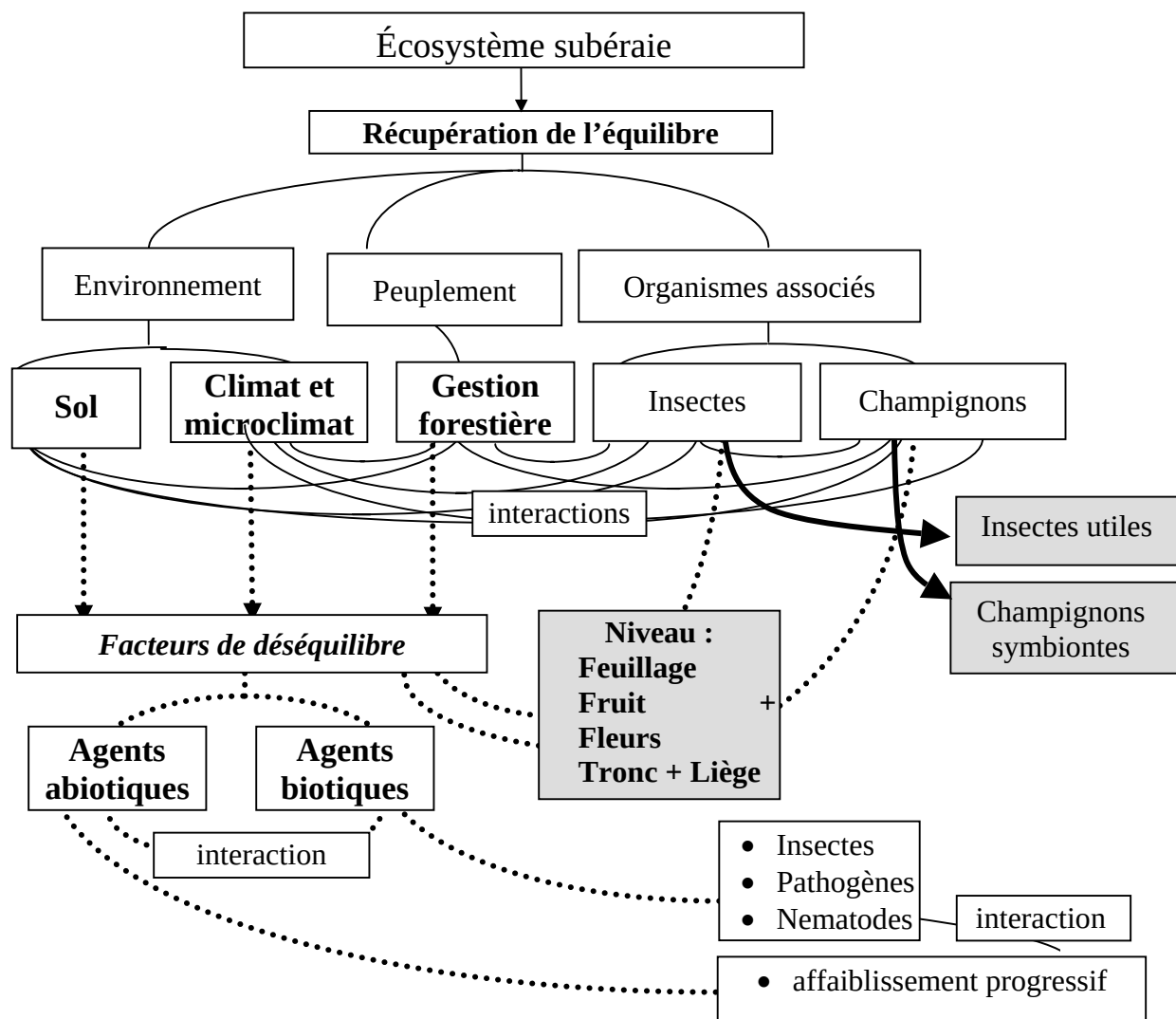


Figure 1. Les facteurs-clés de la régression du chêne-liège dans le bassin méditerranéen

- la création , au niveau du bassin méditerranéen, d'une base de données relative aux différents facteurs (biotiques, abiotiques, sylvicoles, sociaux) impliqués dans le dépérissement des subéraies.
- la détection et la caractérisation des agents biotiques potentiellement ravageurs ou pathogènes (insectes, champignons, virus, bactéries et nématodes).
- la recherche pour chaque agent de l'existence potentielle de sous-espèces ou de races régionales à l'aide des nouvelles techniques employées en systématique (morphologiques, physiologiques et moléculaires).
- l'évaluation de l'influence de chacun des agents dans le système insectes/champignons/hôte/environnement.
- l'identification des interactions entre les facteurs biotiques et abiotiques du dépérissement dans chaque système spécifique.
- l'étude du comportement des différents agents nocifs selon différentes situations de régime hydrique et de fertilité du sol.
- l'étude des insectes comme vecteurs de champignons, bactéries, virus, etc.
- l'étude de la mycoflore associée au liège et l'évaluation des conséquences éventuelles de sa présence sur la qualité des bouchons.

- l'analyse des relations entre l'attaque des agents nocifs et les mécanismes de défense de l'arbre.
- la réalisation d'essais (in vitro et en conditions naturelles) pour l'évaluation de l'action pathogène de chaque organisme.
- la détection et la caractérisation des substances, toxiques pour l'hôte, provenant de l'activité métabolique des champignons.
- l'évaluation du rôle précis des ravageurs et des maladies dans la séquence des facteurs intervenants dans le processus de déclin du chêne-liège.
- l'étude du cycle biologique et de la dynamique des populations des agents biotiques.
- la détermination d'indices de risque et l'établissement de programmes de protection intégrée spécifiques à chaque peuplement.
- l'établissement de stratégies à l'échelle de la région méditerranéenne (à court, moyen et long terme) en vue de la protection et la conservation de cet écosystème.
- le rétablissement de la fertilité du sol et l'étude de l'effet de la fertilisation dans l'amélioration de la subéraie.
- l'étude des champignons symbiotiques, la sélection d'ectomycorhizes (mycorrhisation contrôlée) et l'évaluation de l'influence de ces associations sur l'état de santé des arbres.

Il serait intéressant de profiter de l'intérêt politique et socio-économique dont témoigne l'Europe envers la région méditerranéenne et de la mise en place d'une nouvelle politique européenne concernant les recherches concernant la protection et la conservation de l'environnement, et la gestion durable des ressources forestières méditerranéennes. En effet, les stratégies de sylviculture pourront favoriser la réhabilitation de ces écosystèmes forestiers en réduisant leur vulnérabilité face aux facteurs biotiques et abiotiques antagonistes. Cependant, ces stratégies de protection et de conservation ne peuvent être limitées au maintien des forêts dans leur état actuel. Il est nécessaire d'expérimenter des méthodes de gestion appropriées permettant une bonne conservation du rôle écologique fondamental de la forêt. Les procédures de protection à adopter exigent une meilleure compréhension de la biologie et des cycles de vie des nombreux insectes et microorganismes pathogènes qui vivent aux dépens de ces écosystèmes.

Références

- Bakry, M. & Abourouh, M. 1995: Dépérissement du chêne-liège au Maroc: état des connaissances et perspectives d'intervention. – IOBC/wprs Bull. 18 : 50-55.
- Ben Jamaa, M. L. B. & Hasnaoui, E. 1996: Le dépérissement du chêne liège (*Quercus suber* L.) en Tunisie. – In : Colloque national sur le dépérissement des forêts au Maroc, Rabat, Résumés des communications.
- Bernardo, A., Gomes, A.A., Evaristo, I., Tinoco, I. & Saraiva, A. 1992: Um exemplo de mortalidade de montado de sobre na região do Cercal-Herdade da Cordeira. – In: 2^e Encontro sobre os montados de sobre e azinho, Évora : 238-247.
- Bonneau, M. & Guy, L. 1985: Le dépérissement des forêts. – La Forêt Privée 166 : 21-33.
- Brasier, C. M., Ferraz, J.E.P.; Moreira, A.C. & Kirk, S. 1992: High mortality of cork oak in Portugal associated with *Phytophthora cinnamomi*. – Proceedings of an international congress "Recent advances in studies on oak decline". Selva di Fasano (Brindisi), Italy : 461-462.
- Cabral, M.T. & Lopes, F. 1992: Determinação das causas da morte do sobreiro nos concelhos de Santiago do Cacém, Grândola e Sines. Relatório síntese. – Estação Florestal Nacional, 76.

- Chadigan, M. 1990: Etude des facteurs du dépérissement du chêne-liège associés à l'installation des xylophages en forêt de la Mamora. – Mem. D.E.S Ecologie animale, Faculté des sciences, Rabat.
- David, T.S., Cabral, M. T., Sardinha, R.M.A. 1992: A mortalidade dos sobreiros e a seca. – Finisterra 27 : 17-24.
- El Antry, S. 1994: Le Grand Capricorne du chêne-liège. – In: Ravageurs et maladies des forêts au Maroc, eds El Hassani, Graf, Hamdaoui, Harrachi, Messaoudi, Mzibri and Stiki, D.P.V.C.T.R.F.: 119-121.
- El Yousfi, M. 1995: Les contraintes exercées sur le chêne-liège au Maroc. Exemple de la Mamora. – IOBC/wprs Bull. 18 : 43-49.
- Franceschini, A., Marras, F. & Sechi, C. 1993: Funghi segnalati sulla quercia da sughero (*Quercus suber* L.). – Collana Biologica n° 3, Sassari, Italy.
- Franceschini, A., Corda, P., Maddau, Sechi, C. & Ruiu, P. A. 1999: Manifestations de dépérissement du chêne liège en Sardaigne (Italy). – IOBC/wprs Bull. 22 : 1-3.
- Gotarredona, C. 1992: Estado fitosanitário de las masas forestales de Quercineas en los espacios naturales de Andalucía. – In: Actas simposio mediterraneo sobre regeneration del monte alcornocal, Merida, Évora, Sevilha : 191-195.
- Graf, A., Basri, E. & Bakry, 1992: Cork oak decline in Morocco. – In: Proceedings of an international congress "Recent advances in studies on oak decline", Selva di Fasano (Brindisi), Italy : 475.
- Hamdaoui, M. 1994: Les défoliateurs. Le Bombyx disparate. – In : Ravageurs et maladies des forêts au Maroc, eds. El Hassani, Graf, Hamdaoui, Harrachi, Messaoudi, Mzibri and Stiki, D.P.V.C.T.R.F.: 91-96.
- Huber, D.M. 1978: Disturbed mineral nutrition. – In : Plant pathology, an advanced treatise Vol. III, eds. Warstfall & Cowling, Academic Press, New York : 163-178.
- Jacobs, K. A., Alvarez, I. F. & Luque, J. 1992: Association of soil, site and stand factors with decline of *Quercus suber* in Catalonia, Spain. – In: Proceedings of an international congress "Recent advances in studies on oak decline", Selva di Fasano (Brindisi) Italy : 193-203.
- Lopes, F. 1996: O sobreiro e a cortiça. – Revista Florestal 9 : 2.
- Luciano, P. & Prota, R. 1995: Insect pests in Sardinia cork oak forests. – IOBC/wprs Bull. 18: 1-7.
- Luisi, N., Manicone, R.P., Sicoli, G. & Lerario, P. 1992: Pathogenicity tests of fungi associated with oak decline on *Quercus* spp. seedlings grown at different water regimes. – Proceedings of an international congress "Recent advances in studies on oak decline", Selva di Fasano (Brindisi), Italy: 85-91.
- Mendes, A.M.S.C. 1996: Tendência da evolução da economia do sector da cortiça em Portugal. – In: Cork oak and cork, ed. Pereira : 469-492. Instituto Superior de Agronomia. Oficinas gráficas. Lisboa.
- Méthy, M., Damesin, C. & Rambal, S. 1996: Drought and photosystem. II activity in two mediterranean oaks. – Ann. Sci. For. 53 : 255-262.
- Mirault, J. 1996: État de santé des forêts méditerranéennes françaises: cas du chêne-liège, du pin d'alep et du cèdre de l'Atlas. – In : Colloque sur le dépérissement des forêts au Maroc, Rabat, Résumés des communications.
- Mugnossa, G. Scarascia, Oswald, H., Piussi, P. & Radaglou, K. 2000: Forests of the Mediterranean region: Gaps in knowledge and research needs. – For. Ecol. Manag. 132 : 97-109.
- Oliveira, G., Correia, O.A., Martins-Loução, M.A. & Catarino, F.M. 1992: Water relations of cork oak (*Quercus suber* L.) under natural conditions. – Vegetatio 99-100 : 199-208.

- Ragazzi, A. 1992: The role of microorganisms virus and MLO in oak decline: present knowledge in Europe and future prospects. – In: Proceedings of an international congress “Recent advances in studies on oak decline”, Selva di Fasano (Brindisi) Italy : 11-21
- Roca, F. & Bravo, M.A. 1997. Multivariate analysis of *Xiphinema diversicaudatum* and some related species (Nematoda: Longidoridae). – Fund. Appl. Nematol. 20 : 357-369.
- Santos, M.N.S., Machado, M.H., Bragança, M.H., Ramos, H.P., Sousa, E.M.R. & Tomaz, I. 1998: Micoflora associated with cork oak (*Quercus suber* L.) in Portugal. – IOBC/wprs Bull. 22 : 25-28.
- Sousa, E.M.R. 1995: Les principaux ravageurs du chêne-liège au Portugal. Leurs relations avec le déclin des peuplements. – IOBC/wprs Bull. 18 : 18-23.
- Sousa, E.M.R.S.; Tomáz, I.I.; Moniz, F.A. & Basto, S. 1997: La répartition spatiale des champignons associés à *Platypus cylindrus* Fab. (Coleoptera: Platypodidae). – Phytopath. Medit., 36 : 145-153.
- Sousa, E.M.R. & Guedes, M.E. 1999: Some fungi associated with *Platypus cylindrus* (Coleoptera: Platipodidae) on *Quercus suber*: toxicity bioassays. – In: Physiology and genetics of tree-phytophage interactions, eds Lieutier, Wattsonv & Wagner : 273-286. INA Editions, Paris.
- Sousa, E.M.R., Pinto, J.C., Santos, M.N.S., Gomes, A.A. & Bonifácio, L. 2000: Association of soil, macro and micronutrients and cork oak decline in Portugal. – In: "Recent advances on oak health in Europe", eds Oszako and Delatour : 215-218, Forest Research Institute, Warsaw.
- Tomiczek, C. 1992: Sapwood nematodes in diseased oak stands in Austria. – In: Proceedings of an International Congress “Recent advances in studies on oak decline” Selva di Fasano (Brindisi) Italy : 521.
- Villemant, C. & Fraval, A. 1991: La Faune du chêne-liège. – Actes Editions, Rabat : 336 p.

Inducing of physiological disturbance in cork oak stands: a synthesis of agent/host relations

Abstract: Since the beginning of the 80's, a generalized decline of cork oak stands was observed; resulting in the Mediterranean area, in a gradual reduction of the cork oak distribution area, stand density and annual cork production. Several hypotheses were formulated to explain this phenomenon, whose incidence was associated with environmental and site variables, stand characteristics and biotic agents. Therefore, no general decline model can be established. However, several specific models must be developed, since cork oak stands in the Mediterranean basin undergo various ecological constraints and are exposed to intense human intervention. A strategy is proposed for a global evaluation of the problem within the framework of multi-disciplinary studies which will be implemented at each ecosystem level, using common methodologies.

Key words: cork oak, Mediterranean basin, decline, factors

Le dépérissement du chêne-liège dans la subéraie de Béllif (Tunisie) : caractérisation et évaluation de son impact sur l'accroissement du liège

Mohamed Lahbib Ben Jamâa¹, Tahar Sghaier¹, Sofiane M'nara¹, Mohamed Nouri¹, Hédi Sellemi²

¹ INRGREF, Tunis ; ² Subdivision Forestière de Nefza

Résumé : La situation phytosanitaire de la subéraie de Bellif, au nord-ouest de la Tunisie et l'impact du dépérissement sur l'accroissement du liège ont été évalués. Les caractéristiques dendrométriques (hauteur totale de l'arbre et du fût, diamètres du tronc à 1,30 m et du houppier) et d'exploitation (démasclage, épaisseur du liège) ont été relevées sur 172 arbres. Cette vieille futaie est dominée par des arbres élancés, à large tronc, à l'état végétatif moyen. Les arbres ont en moyenne 8,81 m de haut, 1 m de circonférence, avec un fût de 4,3 m de haut et un houppier de 5,4 m de diamètre, ce qui offre de grandes possibilités de production de liège. L'épaisseur moyenne du liège est de 2,91 cm. Plus de 59% des arbres étudiés ont été démasclés dont 17% présentent des cicatrices faites lors du déliègeage (3 par arbre en moyenne). La croissance en épaisseur du liège est corrélée positivement à la circonférence du tronc des arbres. 6 facteurs affectent significativement la production de liège : dessèchement des rameaux, chancre carbonéux du tronc et des branches, écoulement noirâtre, l'éclatement de l'écorce, présence de pourriture ou de cavités et état sanitaire. Certains facteurs entraînent une perte de croissance en épaisseur du liège de 40% par rapport à la moyenne générale.

Mots clés : chêne-liège, dépérissement, perte d'accroissement du liège, Tunisie

Introduction

Le chêne-liège est l'essence forestière la plus importante pour l'économie de la Tunisie grâce à la qualité et la valeur de son écorce, le liège. Comme pour la majorité des pays subéricoles, le liège est en effet le principal produit forestier du pays. Sa valeur apparaît dans le bilan financier de l'année 2003, où l'exploitation du liège a généré une recette de l'ordre de 5 000 000 dinars, soit 50 % de la recette nationale des produits forestiers (REF, 2003).

Au cours des dernières décennies, la production de liège a régressé de façon remarquable. Cette diminution est due essentiellement à une réduction de la superficie de la subéraie (47,5%), à la pression humaine, aux incendies, aux attaques d'insectes et de champignons et au dépérissement (Ben Jamâa & Hasnaoui, 1996). Les plus anciens dégâts attribués au dépérissement dans la subéraie tunisienne ont été signalés en 1967, mais sans précision quant à leur nature (Delaunay, 1969). Depuis 1988, de nouveaux cas ont été notés sur l'ensemble des peuplements; ils se caractérisent le plus souvent par un dessèchement complet ou partiel de plusieurs arbres. La situation devient inquiétante pendant les périodes de sécheresse, comme durant la sécheresse de 1988-1990 où plus de 60 000 arbres sont morts dans la seule subéraie de Aïn Draham (Ben Jamâa & Hasnaoui, 1996). Actuellement, le pourcentage des subérais touchés par le dépérissement varie de 8 à 10% selon les années et les localités (Aloui, 2002 ; Brinsi, 2004). Bien qu'en Tunisie le déclin du chêne-liège ne soit pas aussi alarmant que celui d'autres subérais comme celle de la Mamora au Maroc (Bakry & Abourouh, 1995), ce phénomène risque de s'amplifier et devenir préoccupant dans les années à venir. Si l'on se base sur l'état phytosanitaire du feuillage, on peut dire que les subérais tunisiennes se comportent bien, mais une observation plus fine au niveau des

branches et du tronc montre la présence de dégâts très inquiétants, pouvant affecter aussi bien l'avenir des arbres que la production du liège en quantité comme en qualité.

Le dépérissement du chêne-liège est un phénomène général et préoccupant, non seulement en Tunisie mais aussi dans la plupart des pays méditerranéens, comme le confirment les travaux du groupe de travail « Protection intégrée des forêts de chênes », créé en 1993, qui tentent d'évaluer l'importance du dépérissement et d'éclaircir son étiologie dans l'ensemble de l'aire géographique du chêne-liège (Luciano, 1995 ; Villemant, 1999 ; Villemant & Sousa, 2002). Parmi les symptômes du dépérissement on note : chute et jaunissement du feuillage, dessèchement et nécroses au niveau des branches, chancres, déformations, écoulements d'un liquide noirâtre et pourritures au niveau des troncs (Bakry & Abourouh, 1996 ; Bakry et al., 1999 ; Franceschini et al., 1999, 2002 ; Ardizzoni et al., 2002 ; Ragazzi et al., 2002 ; Sechi et al., 2002). Par ailleurs, aucun travail n'a été effectué à notre connaissance pour évaluer l'impact du dépérissement sur la production du liège.

Nous présentons dans cet article une évaluation de la situation phytosanitaire d'une forêt de chêne-liège tunisienne (Bellif) et de l'impact du dépérissement sur la croissance en épaisseur du liège.

Matériel et méthodes

Site d'étude

Le travail a été mené dans la forêt de Bellif, qui s'intègre dans la chaîne montagneuse des Mogods au nord-est de la Tunisie. Cette forêt, qui couvre environ 3 181 ha, est divisée en deux séries (Bellif I et Bellif II). Elle est dominée par le chêne-liège qui représente plus de 70% de la superficie arborée, à côté d'autres essences comme le pin pignon (4 à 11%) et l'eucalyptus (4%), et du maquis arboré (13 à 29%). Les sols de la forêt sont dominés par des textures fines (argiles du flysch oligocène et argiles calcaires de l'éocène).

La région relève de l'étage bioclimatique humide inférieur à hiver doux. La pluviométrie annuelle dépasse les 800 mm et la température moyenne est de 17,4°C. La température moyenne du mois le plus froid (7°C) est enregistrée en février et la plus chaude (34°C) en août (D.G.F., 1997).

Echantillonnage

Le travail de terrain, réalisé en mai 2004, a consisté à prospecter la forêt, localiser la zone d'étude et installer les placettes d'observations, qui forment un transect de 1 800 m de long traversant les zones les plus dépérissantes. Chacune des 18 placettes, distantes de 100 m les unes des autres, est composée de 10 arbres marqués à la peinture blanche. La plupart des arbres observés ont été déliégés pour la dernière fois au cours de l'été 1993 ; ils ont donc tous un liège âgé de 12 ans.

Paramètres observés

Une fiche d'observation pour chaque arbre a été établie ; elle comprend :

Mesures dendrométriques : hauteur totale de l'arbre (m), circonférence du tronc à 1,30 m, hauteur du fût (m), diamètre du houppier (m), mesurés avec une réglette et un mètre ruban. L'épaisseur du liège (mm) a été mesurée à l'aide d'une jauge à écorce. Ces différentes mesures permettent d'évaluer la vigueur de l'arbre.

Etat du feuillage : évaluation à vue d'oeil du degré de défoliation des arbres. Une note allant de 0 à 2 est attribuée à chaque arbre selon son pourcentage de défoliation.

- 0 : défoliation légère, perte de feuillage inférieure à 20% ;
- 1 : défoliation importante, 20 à 75% de feuilles perdues ;
- 2 : défoliation très grave, plus de 75% de feuilles perdues.

- Etat du tronc, des branches et des rameaux : les diagnostics effectués portent sur la qualité du déliègeage et sur la présence ou non de différents dommages. On compte le nombre de cicatrices observées sur le tronc (une cicatrice est une blessure produite par la hachette sur la souche mère du liège suite à l'exploitation du liège) et on attribue à chaque arbre différentes notes selon l'absence (= 0) ou la présence (= 1) des symptômes suivants :

- dessèchement (surtout des pousses terminales et rameaux)
- chancre carbonéux : plaques stromatiques noires à l'intérieur du tronc et des branches :
- écoulement noirâtre
- éclatement de l'écorce (liège)
- pourriture ou cavités à l'intérieur du tronc
- déformation de l'écorce
- dégâts : feuillage sain (0) ; feuillage présentant un jaunissement (1)

- Evaluation de l'état sanitaire de l'arbre : cette variable évalue le degré de dépérissement à partir du niveau de défoliation, des défauts de l'arbre (qualité du fût) et de ses problèmes pathologiques et entomologiques. 3 classes de dépérissement ont été distinguées:

- 0 : arbre sain (aucun signe de dépérissement, pas de défoliation, pas de défauts) ;
- 1 : problème léger (quelques petites branches sèches au niveau du houppier, défoliation faible, pas de cavités ni de blessures)
- 2 : problème important (grosses branches sèches, défoliation forte, blessures).

Analyse statistique

Les analyses statistiques ont concerné les 172 arbres sur lesquels des mesures et notations ont été effectuées (8 arbres ayant été abattus après leur marquage). Les caractéristiques dendrométriques moyennes ont été calculées pour chaque placette. La fréquence de chacune des modalités des différents paramètres a également été calculée pour l'ensemble des arbres examinés. Pour tester l'effet des modalités de chaque paramètre de dépérissement sur la croissance en épaisseur du liège, on a effectué une analyse de la covariance à un critère de classification.

Selon une recherche réalisée dans différentes subéraies tunisiennes et visant à étudier l'effet de l'intensité du déliègeage et de la grosseur des tiges sur la croissance en épaisseur du liège (Sghaier & Garchi, 2005), un effet très hautement significatif sur ce dernier paramètre a été observé dans toutes les subéraies. De même, à partir des arbres démasclés de la présente étude, une relation linéaire de prédiction de l'épaisseur du liège formé en fonction de la circonférence du tronc a été établie, comme suit :

$$E_{\text{épaisseur}} = 1,79 + 1,19C_{1,30} \quad E_{\text{TR}} = 1,241 \quad r = 0,477$$

Cette équation montre que plus le diamètre du tronc est élevé, plus l'accroissement en épaisseur du liège est important.

D'autre part, nous avons constaté que la grosseur du tronc des arbres échantillonnés varie fortement d'une station à une autre et même à l'intérieur d'une même station. Les différences d'épaisseurs moyennes de liège observées entre les classes (modalités) des différents paramètres de dépérissement étudiés sont dues en partie aux différences de circonférences des arbres appartenant à chacune des classes. Pour pouvoir comparer l'épaisseur moyenne de liège formée selon les modalités d'un même paramètre de dépérissement, il faut ajuster au préalable les données observées à l'effet grosseur du tronc, de façon à effectuer des comparaisons comme si tous les arbres avaient un tronc de même diamètre. Ainsi, si l'épaisseur de liège montre des variations selon les modalités d'un même paramètre, elles pourront être reliées au niveau de stress correspondant à ces modalités. Nous avons eu recours à l'analyse de covariance à un critère de classification. Cette méthode implique l'introduction

d'un terme de régression dans l'analyse de la variance. Ce terme exprime les variations de la variable principale ou variable dépendante en fonction de la variable auxiliaire ou covariable (Dagnelie, 1975). Dans notre étude, l'épaisseur du liège mesuré en cm est considéré comme variable principale (Y), la circonférence du tronc des arbres mesurée en m étant considérée comme variable auxiliaire (X). Le modèle statistique d'analyse de la covariance à un critère de classification (Federer, 1955) est le suivant :

$$Y_{ik} = m_y + a_i + \beta(X_{ik} - m_x) + D_{ik}$$

Y_{ik} : épaisseur du liège en cm de l'arbre k appartenant à la modalité i

X_{ik} : circonférence en m de l'arbre k appartenant à la modalité i

m_y : moyenne générale de l'épaisseur du liège des arbres

m_x : moyenne générale de la circonférence des arbres

a_i : effet de la modalité i ($i = 1, \dots, p$)

D_{ik} : erreur, variable aléatoire de moyenne nulle et d'écart-type σ

β : coefficient de régression des Y_i en fonction des X_i supposé commun aux différentes modalités

$(X_{ik} - m_x)$: déviation des valeurs observées par rapport à la moyenne de la variable auxiliaire.

Le terme $\beta(X_{ik} - m_x)$ utilisé dans ce modèle est relatif à la circonférence, variable auxiliaire, dont on veut éliminer l'influence. Il s'agit en fait d'effectuer une analyse de la variance relative aux valeurs Y_{ik} corrigées en fonction des écarts $(X_{ik} - m_x)$.

Les détails concernant les différentes étapes de calcul de l'analyse de la covariance sont donnés notamment par Dagnelie (1975). Les moyennes de la variable principale doivent être ajustées de la manière suivante :

$$\bar{y}_i' = \bar{y}_i - b(\bar{x}_i - \bar{x}), \quad b \text{ étant un estimateur de } \hat{\beta}$$

Résultats et discussion

Caractéristiques dendrométriques des arbres

Le tableau 1 présente par placette les caractéristiques dendrométriques moyennes des arbres échantillonnés.

Il montre que les caractéristiques dendrométriques des arbres varient selon les placettes. La hauteur moyenne des arbres varie de 5,7 à 11,6 m (8,8 m en moyenne) et la circonférence entre 0,44 et 1,75 m (1,00 m en moyenne). Il s'agit donc d'une vieille futaie, dominée par des vieux arbres à gros tronc, le plus souvent élancés et dans un état végétatif moyen : actuellement, elle correspond vraisemblablement à l'une des meilleures subéraies de la Tunisie.

La hauteur moyenne du fût varie de 2,54 à 5,78 m, soit 4,28 m en moyenne, ce qui offre de grandes possibilités de production du liège. Le diamètre moyen du houppier varie de 2,45 à 8,50 m (5,42 en moyenne) : les arbres sont pourvus d'un branchage et d'un feuillage dense leur permettant une bonne croissance et un accroissement convenable de leur liège.

Enfin, l'épaisseur moyenne du liège atteint 2,90 cm. Elle est cependant très variable selon les placettes, allant de 3,5 voire 4,5 cm dans certaines placettes à 1,7 cm dans d'autres.

Tableau 1. Caractéristiques dendrométriques des arbres des 18 placettes du transect.

Placette	Hauteur totale (m)	Hauteur du fût (m)	Circonférence (m)	Diamètre du houppier (m)	Epaisseur du liège (cm)
1	11,18 ± 1,12	5,78 ± 1,46	1,36 ± 0,32	7,33 ± 1,88	3,51 ± 0,56
2	8,72 ± 2,00	5,52 ± 1,68	1,07 ± 0,46	6,37 ± 3,02	3,84 ± 0,92
3	10,30 ± 1,50	4,80 ± 1,46	1,43 ± 0,20	7,49 ± 2,02	4,51 ± 0,54
4	11,30 ± 1,40	3,08 ± 0,64	1,46 ± 0,40	7,25 ± 2,26	3,82 ± 1,08
5	10,75 ± 1,24	5,35 ± 0,94	1,51 ± 0,48	7,95 ± 2,10	4,61 ± 1,08
6	11,67 ± 1,22	4,94 ± 1,50	1,75 ± 0,30	5,98 ± 1,70	4,48 ± 0,74
7	8,88 ± 1,92	2,54 ± 0,78	1,23 ± 0,30	7,89 ± 1,26	2,03 ± 0,42
8	6,40 ± 1,70	3,05 ± 0,54	0,64 ± 0,12	3,62 ± 1,08	2,8 ± 0,56
9	5,71 ± 0,96	3,62 ± 0,64	0,44 ± 0,20	2,97 ± 0,68	2,06 ± 0,40
10	6,06 ± 1,18	3,83 ± 1,00	0,54 ± 0,14	2,59 ± 0,38	2,23 ± 0,38
11	9,80 ± 0,98	4,93 ± 1,46	0,83 ± 0,12	5,04 ± 0,60	1,88 ± 0,26
12	9,70 ± 1,36	4,36 ± 1,20	1,57 ± 0,32	8,47 ± 2,54	2,19 ± 0,58
13	7,67 ± 1,64	4,08 ± 1,30	0,89 ± 0,34	4,93 ± 2,24	1,95 ± 0,46
14	6,44 ± 1,94	2,89 ± 0,82	0,50 ± 0,16	2,74 ± 0,98	1,68 ± 0,56
15	9,45 ± 2,48	4,80 ± 1,52	0,62 ± 0,12	2,45 ± 0,88	2,02 ± 0,52
16	9,20 ± 1,66	4,78 ± 1,04	0,83 ± 0,24	5,63 ± 1,58	1,89 ± 0,22
17	8,56 ± 2,34	3,93 ± 1,4	0,70 ± 0,18	4,31 ± 1,94	2,34 ± 0,28
18	5,90 ± 2,32	3,94 ± 1,54	0,47 ± 0,08	3,26 ± 0,82	1,99 ± 0,34
Moyenne générale	8,81 ± 0,48	4,28 ± 0,32	1,00 ± 0,09	5,42 ± 0,54	3,31 ± 0,24

Etat sanitaire du tronc

L'état sanitaire des troncs a été établi en estimant l'abondance des cicatrices et des trous forés par les insectes (Tab. 2). La cicatrice est considérée ici comme une blessure occasionnée par les outils des leveurs de liège au moment de l'opération de déliègeage. Elle est longue de 3 à 5 cm et profonde de 1 à 2 cm.

Sur la totalité des arbres observés, 59% sont démasclés, 16% présentent des trous de 1 mm de diamètre, 14% des trous de 3 à 5 mm, et seulement 3% des trous de 10 mm de diamètre. Il est à signaler que 17% des arbres démasclés présentent des cicatrices de déliègeage. Le nombre moyen des cicatrices est de 3 par arbre.

Impact du dépérissement sur l'accroissement du liège

Pour tester l'effet de l'état sanitaire des arbres sur la croissance en épaisseur du liège et montrer l'importance de l'ajustement des données à l'effet grosseur des tiges, nous avons réalisé d'une part une analyse de variance, et d'autre part une analyse de covariance en prenant la grosseur des tiges comme covariable. Le tableau 3 présente, pour chaque modalité des différents facteurs de dépérissement, la proportion d'arbres concernés, leur épaisseur moyenne de liège et les résultats des deux analyses.

D'après l'analyse de variance portant sur l'ensemble des facteurs de dépérissement étudiés, seuls quatre ont montré un effet négatif significatif sur la production du liège. Il s'agit des facteurs relatifs au dessèchement, à l'écoulement noirâtre, à la pourriture et à l'état sanitaire. Le même tableau montre qu'après correction de l'épaisseur en fonction de la circonférence, les paramètres de dépérissement relatifs au chancre et à l'éclatement de l'écorce montrent un effet significatif à hautement significatif sur la croissance du liège. Tous ces facteurs interviennent de façon significative sur l'épaisseur moyenne de liège, qui peut diminuer de plus de 40% par rapport à la moyenne générale ; elle atteint ainsi 1,44 cm pour les arbres atteints de pourriture et 1,38 cm pour ceux qui souffrent de dessèchement.

Tableau 2. Etat sanitaire des troncs d'arbres des 18 placettes, estimé à partir des trous d'insectes et des cicatrices.

Placette	Arbres démasclés (%)	Trous de 1mm de diamètre (%)	Trous de 3-5 mm de diamètre (%)	Trous de 10 mm de diamètre (%)	Nombre moyen de cicatrices
1	100	20	30	—	0
2	70	40	20	10	1
3	80	30	30	—	0
4	56	44	22	22	7
5	70	10	20	—	0,5
6	100	—	—	—	31
7	100	75	25	—	0,5
8	60	—	—	—	0
9	22	22	11	11	5
10	—	—	—	—	0
11	86	14	43	—	0,5
12	100	—	20	—	1
13	43	14	14	—	0
14	—	—	—	—	0
15	57	—	—	—	0
16	29	—	—	—	0
17	25	—	—	—	1
18	33	11	—	—	0
Moyenne	59%	16%	14%	3%	3

Par ailleurs, les facteurs relatifs à la défoliation, aux dégâts et à la déformation de l'écorce n'ont pas d'impact sur l'accroissement en épaisseur du liège et ne permettent donc pas de décrire le dépérissement des chênes-lièges. En effet, si on se base sur l'état sanitaire des feuilles et des branches, l'état sanitaire global des arbres semble être satisfaisant, puisque 95% des arbres observés ne présentent aucun signe de défoliation ou de dépérissement au niveau des branches (Tab. 3).

Toutefois, si on se base sur l'état sanitaire du tronc des arbres, on constate que la situation devient préoccupante puisque 41% des arbres présentent des pourritures et 37% un écoulement noirâtre. Les arbres dont l'écorce est blessée ou desséchée représentent respectivement 18 et 26% du total des arbres examinés.

Ces dégâts sont généralement issus des cicatrices occasionnées au moment de la récolte du liège ; ces arbres ont été écorcés plus que 8 fois. Une opération d'écorçage mal effectuée engendre des blessures qui favorisent la pénétration d'insectes xylophages et de spores de champignons.

D'après Yessad & André (2000), cette opération qui est simple en théorie demande beaucoup de soins et ne devrait jamais être confiée à des ouvriers non expérimentés. En effet, un ouvrier maladroit enfonce souvent son outil de récolte profondément dans le bois, au moment où il pratique l'entaille circulaire et longitudinale, et il coupe alors à la fois le liège et la « mère ». De plus, partout où la mère est arrachée et même décollée, il ne se forme plus le liège, ce qui entraîne l'apparition de chancres et d'écoulements noirâtres. Des dégâts très importants, ont été constatés sur plusieurs arbres récemment exploités dans la forêt de Bellif en juin 2004.

Tableau 3. Effet des différents paramètres de dépérissement sur l'accroissement en épaisseur (cm) du liège : analyse de la variance et analyse de la covariance.

Paramètres	Modalité	% arbres	Analyse de variance		Analyse de covariance			
			Epaisseur moyenne mesurée	F _{obs}	Circ. Moy. (m)	Coeff. régres. (b)	Epaisseur moyenne ajustée	F _{obs}
Défoliation	0	1	–				–	
	1	89	3,30	0,03	1,28	1,19	3,30	0,08
	2	10	3,40		1,25		3,44	
Dégâts	0	72	3,34	0,48	1,21	1,23	3,43	1,08
	1	10	3,66		1,49		3,40	
	2	18	3,07		1,39		2,93	
Dessècht.	0	74	3,83	20,54***	1,33	1,08	3,78	20,94***
	1	26	2,54		1,20		2,64	
Chancre	0	90	3,76	0,97	1,20	1,42	3,49	8,57**
	1	10	2,96		1,68		2,39	
Ecoulement noirâtre	0	63	3,75	5,49*	1,23	1,24	3,81	9,24**
	1	37	3,02		1,31		2,98	
Eclatement écorce	0	91	3,41	2,39	1,39	1,21	3,28	4,06*
	1	9	2,73		1,38		2,61	
Pourriture	0	59	4,33	33,53***	1,37	1,04	4,24	35,32***
	1	41	2,74		1,22		2,80	
Déformation écorce	0	97	3,36	2,29	1,29	1,16	3,35	1,21
	1	3	2,28		0,97		2,64	
Etat sanitaire	0	95	3,41	5,10*	1,29	1,15	3,40	4,66*
	1	4	2,09		1,12		2,27	
Total			3,31	–	1,28	–	–	–

Différence significative à * : 5% ; ** : 1% ; *** : 0,1%

Bibliographie

- Aloui, F. 2002 : Contribution à l'étude du dépérissement du chêne-liège dans la subéraie de Bellif. – Mémoire de Fin d'Etude. INAT : 50 p.
- Ardizzoni, M., Nipoti, P., Amorelli, G. & Gennari, S. 2002 : A three-year survey of oak decline in Modena (Italy). – IOBC/wprs Bull. 25(5) : 21-24.
- Bakry, M. & Abourouh, M. 1995: Dépérissement du chêne-liège au Maroc : état des connaissances et perspectives. – IOBC/wprs Bull. 18(6) : 50-55.
- Bakry, M. & Abourouh, M. 1996: Nouvelles données sur le dépérissement du chêne-liège (*Quercus suber* L.) au Maroc. – Ann. Rech. For. Maroc. 29 : 24-39.
- Bakry, M., El Antry, S., Satrani, B. & Oubrou, W. 1999: Les facteurs de dépérissement des subéraies marocaines. – IOBC/wprs Bull. 22(3) : 37-39.
- Ben Jamâa, M.L. & Hasnaoui, B. 1996 : Le dépérissement du chêne-liège (*Quercus suber* L.) en Tunisie : premières réflexions. – Colloque National sur le Dépérissement des Forêts au Maroc. CNRF-Maroc (28 et 29 Février 1996) : 10 p.

- Brinsi, M. 2004 : Contribution à l'étude du dépérissement du chêne-liège dans la subéraie de Aïn Draham : Impact des conditions climatiques. – Mémoire fin d'étude. INAT : 45 p.
- Dagnelie, P. 1975 : Théorie et méthodes statistiques. Applications agronomiques. Vol. 2. – Les presses agronomiques de Gembloux. 463 p.
- DGF 1997 : Procès verbal d'aménagement de la forêt de Bellif. – Direction Générale des Forêts, Tunisie, 138 p. + annexes + cartes.
- Delatour, C. 1969 : Quelques observations de phytopathologie forestière faites en Tunisie. – I.R.T., Var. Sci. n° 2 : 11 p.
- Federer, W. T. 1955: Experimental Design. Theory and application. – Macmillan, New York, 544 + 47 p.
- Franceschini, A., Corda, P. Maddau, L., Secchi, C. & Ruiiu, P.A. 1999 : Manifestations de dépérissement du chêne-liège en Sardaigne. – IOBC/wprs Bull. 22(3) : 1-3.
- Franceschini, A., Maddau, L., Serra, S. & Pulina, M.A. 2002. Methodological approaches to outline control strategies of cork oak decline in Sardinia (Italy). – IOBC/wprs Bull. 25(5):17-20.
- Luciano, P. (ed) 1995: Integrated Protection in cork-oak forests. – IOBC/wprs Bull. 18(6), 114 p.
- R.E.F. 2000. Rapport d'activité de la Régie d'Exploitation Forestière.
- Ragazzi, A., Morica, S. & Dellavalle, I. 2002: Current situation of oak decline in Italy and in other European countries. – IOBC/wprs Bull. 25(5) : 13-16.
- Secchi, C., Ruiiu, P.A. & Franceschini, A. & Corda, P. 2002 : Nouvelles recherches sur l'extension des phénomènes de dépérissement dans les subéraies de Sardaigne. – IOBC/wprs Bull. 25(5): 5-12.
- Sghaier, T. & Garchi, S. 2005 : Effet de l'intensité de démasclage et de la grosseur des tiges sur la croissance en épaisseur du liège : résultats d'un essai multi-sites en Tunisie. – Congrès International Suberaies, Usine et Commerçants : passé, présent et future du commerce du liège. Palafrugell (Girona), Espagne, 16, 17 et 18 février 2005, 10 p.
- Villemant, C. (ed.) 1999: Integrated protection in oak forests. IOBC Wprs, Bull. 22(3), 198 p.
- Villemant, C. & Sousa, E. (ed.) 2002: Integrated Protection in oak Forests. – IOBC/wprs Bull. 25(5): 177 p.
- Yessad, S.A. & André, P. 2000 : Le chêne-liège et le liège dans les pays de la Méditerranée occidentale. – L'ASBL Forêt Wallone : 190 p.

Cork-oak decline in the Bellif forest (Tunisia) : characterization and impact assessment on cork thickness

Abstract: The health state of cork oaks and its impact on cork thickness was assessed the Bellif forest (north-western Tunisia). Tree characteristics (total and trunk heights, trunk circumference and crown diameter) and exploitation conditions (stripping, cork thickness) were recorded from 172 trees. This old forest is dominated by high and large trees having a transitional health state. Trees are on average 8.81 m high, their trunk are 4.3 m high and have 1 m in circumference, with a 5.4 m crown diameter; these dimensions offering large potentialities of cork production. The cork thickness reached 2.91 cm in average. More than 59% of the trees were debarked and 17% showed stripping cicatrices (3 in average per tree). Cork thickness is positively correlated with trunk circumference. Six decline factors significantly influenced cork production : twig drought, trunk and branch carbonaceous cankers, blackish flow, bark bursting, rot or cavity presence and sanitary state. Several decline factors induced a 40% cork growth reduction as compared to the mean cork thickness value.

Key words: cork-oak, decline, cork growth loss, Tunisia

Contribution à l'étude du dépérissement du chêne-liège dans la forêt de Tabarka (Tunisie) : relations entre nutriments et état sanitaire des arbres

Foued Hasnaoui¹, Najoua Rjéibia², Chaabane Abbès¹, Wassila Yacoubi³,
Brahim Hasnaoui¹

¹ Institut Sylvo-pastoral de Tabarka,

² Institut National Agronomique de Tunisie, ³ Subdivision Forestière de Tabarka

Résumé : Depuis le début du siècle dernier, les subéraies tunisiennes connaissent une régression continue, due entre autre à la mortalité excessive de *Quercus suber*, qui atteint des chiffres parfois très alarmants. Cette mortalité, liée surtout au phénomène de dépérissement touche également le reste des subéraies méditerranéennes. Pour contribuer à l'étude de ce phénomène, nous avons essayé d'évaluer le taux de dépérissement de la zone forestière de Tabarka et de mettre en évidence d'éventuelles interactions entre nutrition minérale et déclin du chêne-liège en relation avec les facteurs orographiques, stationnels (altitude et exposition) et des caractéristiques physico-chimiques du sol. Les analyses de sol et des feuilles ont concerné des arbres sains et des arbres montrant des symptômes de dépérissement. Aucune relation nette entre la nutrition en éléments minéraux essentiels et le dépérissement n'a été mise en évidence. Les mesures dendrométriques des arbres ont montré que leur état sanitaire est lié au microclimat de la station. Le taux de dépérissement moyen en forêt de Tabarka était de l'ordre de 14 %. Les taux enregistrés sont plus faibles dans des stations d'altitude plus élevée (12 %) et plus forts à basse altitude et dans les stations orientées vers le sud (17 %).

Mots clés : *Quercus suber* L., dépérissement, nutrition minérale, orographie, physico-chimie, climat

Introduction

En Tunisie (Kroumirie), les forêts de chêne-liège sont soumises à des agressions diverses étroitement liées aux caractéristiques physiques et humaines du milieu ; les risques d'un déséquilibre, d'une dégradation ou d'un dépérissement sont réels à cause de l'augmentation de l'activité économique et sociale et de l'impact de plusieurs facteurs : sécheresse, gels hivernaux exceptionnels, etc. (Ksontini, 1996).

Depuis le début du siècle en effet, les subéraies régressent progressivement en relation avec une importante mortalité du chêne-liège (Ben Jemâa & Hasnaoui, 1996). Celle-ci est due surtout au phénomène de dépérissement, qui est apparu dans les subéraies tunisiennes comme dans celles de la plupart des pays de la méditerranée occidentale. En Tunisie, ce phénomène n'a été que peu étudié ; quelques réflexions ont été présentées par Ben Jemâa & Hasnaoui (1996) et Aloui (2001). Pour contribuer à la connaissance de ce phénomène, nous présentons ici une étude des interactions éventuelles entre la nutrition minérale (d'un point de vue qualitatif et quantitatif) et le degré de dépérissement du chêne-liège en relation avec les facteurs orographiques et climatiques de la station (altitude et exposition) d'une part, et les propriétés physico-chimiques du sol, d'autre part.

Matériel et méthodes

La zone d'étude appartient à la subdivision forestière de Tabarka (Nord ouest de la Tunisie). Trois zones de trente placettes chacune ont été sélectionnées selon un transect altitudinal (0 à 250 m, 251 à 500 m et plus de 500 m). Nous avons installé des placettes de forme circulaire, de 400 m² de superficie, au hasard dans chaque frange d'altitude et avons repéré les expositions correspondantes (N, S, E et O). Au sein de chaque placette, nous avons échantillonné les feuilles de tous les arbres sains et celles de tous les arbres dépérissants. Le sol situé à la verticale de la frondaison de ces deux types d'arbres a également été prélevé à une profondeur variant entre 10 et 30 cm, à l'aide d'une tarière manuelle, après enlèvement de la litière. La densité des arbres, leurs mensurations (hauteur moyenne, diamètre moyen) et le nombre d'arbres dépérissants ont été relevés dans chaque placette. L'état phytosanitaire des arbres atteints a été noté sur des fiches d'observation. Cinq classes ont été définies

- classe 1 (dépérissement léger) : petites branches sèches, défoliation < 20%, ni cavités ni blessures
- classe 2 (dépérissement important) : branches sèches, défoliation de 20-50% avec quelques cicatrices
- classe 3 (dépérissement grave) : grosses branches sèches, défoliation de 50-75% avec présence de blessures et de cavités
- classe 4 (problème très grave) : de grosses branches sèches et une défoliation > 75% avec présence de blessures et de cavités
- classe 5 (mortalité) : arbre mort sur pied

Le pH des sols a été déterminé par potentiométrie (McKeague, 1978) et la conductivité électrique (CE) par la méthode décrite par SCS (1983).

Pour les analyses chimiques, nous nous sommes limités à la détermination cinq macro-éléments jugés les plus importants : azote, potassium, phosphore, calcium et magnésium. L'azote total (NT) a été extrait et dosé selon la méthode de Kjeldahl (Brenner & Mulvaney, 1982). La teneur en phosphore total (PT) a été déterminée par la méthode de Olsen & Sommers (1982). Les éléments totaux (Ca, K et Mg) ont été quantifiés par spectrophotométrie après attaque à l'acide chlorhydrique selon la méthode décrite par Ryan et al (1996). La teneur en matière organique a été déterminée par incinération au four à moufle (Bell, 1964) et le carbone oxydable par la formule de Jackson (1958).

Les analyses de variance ont été réalisées à l'aide du logiciel (SAS 8.0). Des comparaisons de moyennes ont été faites à l'aide du test SNK (Little & Hill, 1978).

Résultats

Les résultats des différentes analyses statistiques sont récapitulés dans le tableau 1.

Caractérisation climatique de la région d'étude

La comparaison des moyennes mensuelles de température et de pluviométrie enregistrées dans la principale station météorologique de la région de Tabarka (Selmi, 1985 et INM, 2004). entre 1900 et 1980 et entre 1981 et 2003 montre qu'il existe un déficit hydrique de l'ordre de 57 mm et une légère élévation de la température moyenne mensuelle (0,7°C) pour les deux dernières décennies.

Densité des chênes-lièges (N_l)

D'après l'analyse de la variance, il existe un effet hautement significatif ($p < 0,001$) de l'altitude sur la densité du peuplement de chêne-liège. Nous avons constaté que les stations

d'altitude présentent la densité la plus élevée (700 arbres/ha), alors que pour les stations de basse altitude, ce nombre est réduit de moitié. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que ces dernières sont beaucoup plus soumises aux perturbations de l'homme et du bétail et moins arrosées que les premières.

Tableau 1. Résultats des analyses de variance

Facteur	N _t	N _d	H _m	D _m	N	P	K	Ca	Mg	V _b	DH _f	DH _s	pH	CE	C
Etat sanitaire	-	-	**	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns
Frange d'altitude	***	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Exposition	ns	*	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

*** : différence très significative ($p < 0,001$) ; ** : assez significative ($p < 0,01$) ; * : significative ($p < 0,05$) du facteur en fonction de ce paramètre

Nombre d'arbres dépérissants (N_d)

Le nombre d'arbres dépérissants varie significativement ($p < 0,05$) en fonction de l'altitude et de l'exposition. En effet, les arbres dépérissants sont moins nombreux (100 arbres/ha) dans les stations exposées à l'ouest puis dans les stations exposées au nord, surtout dans les deux premières franges d'altitude. Le phénomène de dépérissement apparaît donc plus important dans les stations les moins arrosées. Le taux de dépérissement est moyen dans les stations de basse altitude (17% et 14% respectivement pour la première et la deuxième frange d'altitude), et celles orientées vers le sud (28%). Par ailleurs, ce taux paraît plus faible dans les stations, orientées vers le nord (22%), l'ouest (22%) et l'est (23%) ainsi que les stations les plus hautes (12%). Ces analyses montrent la forte variabilité des valeurs obtenues : les taux de mortalité varient de 12 à 17 % et la perte de vigueur des arbres dans un peuplement atteint entre 2 et 50%. Par ailleurs près de 40 % des arbres dépérissants sont morts sur pied (classe 5 de dépérissement). Ces taux de dépérissement expliquent une situation de déclin généralisé et continu, largement distribuée dans la forêt de Tabarka. L'important taux de mortalité des arbres entraîne une baisse de la productivité de notre subéraie.

Hauteur moyenne des arbres (H_m)

L'analyse de variance des facteurs exposition, altitude et état sanitaire montre qu'il existe une influence significative ($p < 0,05$) de l'état sanitaire des arbres et de l'exposition sur la hauteur moyenne des arbres. Les arbres sont en moyenne plus grands (jusqu'à 9 m) dans les stations d'altitude mais les différences de hauteur entre franges d'altitude ne sont pas significatives. Les arbres les plus petits (< 8 m) se trouvent dans les stations orientées vers le sud et l'est. Les plus hauts (> 9 m) s'observent en exposition nord. La hauteur moyenne des arbres dépérissants est statistiquement plus faible que celle des arbres sains.

Diamètre moyen des arbres (D_m)

Aucune différence significative n'a été observée entre les paramètres testés et le diamètre moyen des arbres. On peut ainsi conclure que le phénomène de dépérissement s'observe n'est pas caractéristique d'une classe de diamètre particulière. Ces résultats sont confirmés par ceux de Ben Jemâa & Hasnaoui (1996).

Teneurs en éléments totaux dans les feuilles

Azote total (N) : L'état sanitaire des arbres est significativement liée ($p < 0,05$) à la teneur en azote total des feuilles. Les concentrations en N, plus faibles dans les feuilles des arbres dépérissants, varient de 1,44 % à 1,57 %. Les feuilles des arbres sains renferment entre 1,60% et 1,67% d'azote total. L'analyse statistique montre que les plus faibles teneurs en N des feuilles sont enregistrées dans la deuxième frange d'altitude (251-500 m) avec une valeur moyenne de 1,4% pour les arbres atteints et 1,6% pour les arbres sains. Ces teneurs sont légèrement plus élevées dans la première (0-250 m) et la troisième frange d'altitude (> 500 m). Dans les stations orientées vers le sud, on observe une fluctuation des teneurs en N, elles présentent une valeur moyenne de 1,53% dans les deux premières franges d'altitude, alors qu'au niveau de la troisième frange, ces concentrations ne dépassent pas 1,51%. Ainsi, seul l'état sanitaire semble influencer la teneur en N des feuilles. Pour les autres paramètres, ces teneurs ne montrent pas de différences significatives.

Phosphore total (P) : L'analyse de variance de l'effet des paramètres sur la teneur en phosphore total montre qu'il n'existe aucun effet significatif ($p > 0,05$). Les teneurs en P les plus faibles ont été enregistrées dans les stations orientées vers le nord avec une valeur moyenne de 0,03 % dans les trois franges d'altitude. Par ailleurs, les teneurs les plus élevées (0,048 %) se rencontrent dans les stations exposées à l'est au niveau de la deuxième frange d'altitude.

Potassium total (K) : Aucune influence significative des facteurs testés n'apparaît sur les concentrations en K des feuilles. Elles sont légèrement plus faibles dans les stations orientées vers l'est et ne dépassent guère les 0,4% dans les deuxième et troisième franges d'altitude. Les teneurs les plus élevées ont été enregistrées dans les stations exposées à l'ouest et au sud dans la première frange et vers le nord dans la deuxième, elles passent respectivement de 0,87 à 0,97 et 1,03 %. On constate également que, pour les deux premières franges d'altitude, les concentrations en K total des feuilles des arbres sains sont légèrement plus élevées, mais de manière non significative, que celles trouvées dans les feuilles des arbres atteints. Ces concentrations évoluent respectivement de 0,93 à 1% pour les feuilles saines et de 0,69 à 0,83% pour celles des arbres atteints. Dans les stations de la frange d'altitude la plus élevée, l'état sanitaire n'influence pas les teneurs en K et une valeur moyenne de l'ordre de 6,1% a été enregistrée. Les teneurs en K les plus faibles sont ainsi enregistrées dans les stations les plus hautes.

Calcium total (Ca) : L'analyse de la variance montrent que les différents facteurs n'ont aucun effet significatif sur les teneurs en Ca. Les concentrations en Ca total des feuilles sont un peu plus importantes dans les stations de la première frange d'altitude et orientées vers le sud, le taux moyen en Ca dépassant les 0,7%. Les teneurs en Ca les plus faibles sont enregistrées dans les stations d'altitude, exposées vers l'est et l'ouest ; elles varient respectivement de 0,18% à l'est à 0,24% à l'ouest. Les teneurs en Ca sont plus fortes dans les feuilles des arbres atteintes au niveau des trois franges d'altitude et plus faibles dans les stations d'altitude. Ces résultats sont identiques à ceux trouvées pour le potassium.

Magnésium total (Mg) : L'analyse de variance montre que seule l'altitude a un effet significatif sur les concentrations en Mg. Ces teneurs fortes dans la première frange d'altitude dépassent les 0,2% dans les feuilles des arbres atteints alors qu'elles sont de l'ordre de 0,19% dans celles des arbres sains. Les valeurs les plus faibles, enregistrées dans les stations de la frange la plus haute, ne dépassent pas les 0,12% dans les feuilles des arbres sains. Les teneurs en Mg des feuilles des arbres atteints sont légèrement plus élevées que dans celles des arbres sains pour les trois franges d'altitude.

Degré d'humidité des feuilles (DH_f) et du sol (DH_s)

Il existe une relation significative ($p < 0,05$) entre l'état sanitaire et le degré d'humidité des feuilles. Les feuilles des arbres sains ont un degré d'humidité plus important que celles des arbres atteints, dans les trois franges d'altitude. Aucune différence significative n'apparaît pour le degré d'humidité du sol, qui est plus marqué dans les stations de haute altitude, orientées vers le nord et l'ouest où il varie respectivement de 17 à 18%. Le plus faible taux d'humidité a été enregistré dans les stations de basse et moyenne altitudes, exposées vers le sud ; il ne dépasse pas les 12%, ce qui peut s'expliquer par l'augmentation simultanée de la température.

pH du sol

L'analyse de la variance montre qu'aucune différence significative n'apparaît pour le pH du sol. Les pH sont un peu plus élevés dans les stations orientées vers le sud où ils atteignent une valeur moyenne d'environ 6,2. Les valeurs les plus faibles ont été enregistrées dans les stations orientées vers l'est avec une valeur moyenne de 5,4 au pied des arbres dépérissants. Par ailleurs, nous constatons une légère différence de pH du sol entre les arbres dépérissants et les arbres sains surtout au niveau de la troisième frange d'altitude. Les pH enregistrés sont tous compris entre 5 et 6,5 et se situent pour la plupart des sols entre 5,4 et 6,2.

Conductivité électrique dans le sol (CE)

Il n'existe aucun effet significatif des différents paramètres sur la conductivité électrique. La conductivité électrique des sols, toujours inférieure à 120 $\mu\text{S}/\text{cm}$ est caractéristique des sols non salés. Par ailleurs, les analyses de variance montrent que la conductivité électrique du sol au niveau des arbres dépérissants est en moyennement plus élevée (113 $\mu\text{S}/\text{cm}$) qu'au niveau des arbres sains dans les premières franges d'altitude. Dans la troisième frange, la CE du sol est plus importante près des arbres sains (94 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Les sols des stations orientées vers l'est présentent les valeurs de CE les moins élevées (64 $\mu\text{S}/\text{cm}$) au niveau de la troisième frange d'altitude.

Taux de carbone du sol (C)

Il n'existe aucune différence significative entre les différents paramètres et le carbone du sol. Le taux de carbone dans le sol paraît plus important dans les stations de la deuxième frange d'altitude, il atteint une valeur moyenne de l'ordre de 7%. Tandis que dans la première et la troisième frange d'altitude, il est légèrement moins élevé, variant entre 6 et 6,8 %. Les teneurs en carbone les plus importantes ont été enregistrées dans les stations de la deuxième frange d'altitude, exposées vers le sud.

Discussion

Les résultats obtenus nous permettent de constater ce qui suit :

Un déficit hydrique apparaît dans la période 1981-2003 par rapport à la période 1900-1980. Ce déficit est marqué par une élévation de 3°C pour la température maximale et une diminution de la pluviométrie annuelle moyenne de 57 mm. Ce constat de sécheresse a été signalé Bonneau (1990) et Hasnaoui et al (1996) comme étant un facteur déclenchant du dépérissement, qui provoque l'affaiblissement soudain de certains individus et l'accroissement de leur sensibilité à divers agents pathogènes.

L'effet du déficit pluviométrique sur la vitalité des arbres peut se manifester à plusieurs niveaux. Ainsi, suite à un stress hydrique, certaines perturbations physiologiques susceptibles de provoquer un dysfonctionnement des vaisseaux conducteurs apparaissent, entraînant des influences négatives sur la nutrition minérale et sa translocation au niveau des feuilles.

Les analyses foliaires montrent que les feuilles des arbres sains présentent des teneurs un peu plus importantes en N et K que celles d'arbres présentant des signes de dépérissement. Les recherches sur la composition chimique des feuilles de chêne-liège au Portugal réalisées par De Sousa en 1996, ont montré que les valeurs des éléments minéraux suivants (N, P, K, Mg, Ca) sont respectivement de l'ordre de 1,23% ; 0,06% ; 0,63% ; 0,16% ; 0,61 %, pour les feuilles saines et de l'ordre de 1,35% ; 0,07% ; 0,59% ; 0,16% ; 0,45 %, pour les feuilles des arbres atteints. Ces valeurs, déjà très proches les unes des autres, ne sont pas éloignées des nôtres. D'une manière générale, et en comparaison avec les valeurs trouvées par Hasnaoui et al. (1996) pour les feuilles de chêne zeen de la même région, on peut dire que les compositions minérales des feuilles de ces deux espèces sont très proches pour de mêmes franges d'altitude. En outre, l'âge de l'arbre (circonférence) ne semble pas avoir d'effet sur le dépérissement, puisque ce phénomène s'observe dans toutes les catégories de classes de diamètre. Nos résultats corroborent ceux trouvés par Ben Jemâa & Hasnaoui (1996).

Conclusions et perspectives

Ce travail n'est qu'une contribution à l'étude du phénomène de dépérissement du chêne-liège en Tunisie et particulièrement dans les forêts de Tabarka. Au terme de cette étude, nous pouvons conclure qu'il n'existe vraisemblablement pas de relation très marquée entre la nutrition minérale et le phénomène de dépérissement. Par ailleurs, une relation plus importante avec les facteurs orographiques (exposition et altitude) a été enregistrée. Le taux de dépérissement moyen de la subéraie étudiée atteint un chiffre inquiétant de 14%. Ce fléau touche toutes les catégories d'arbres. Nos résultats montrent également que les stations de basse altitude et orientées vers le sud présentent les taux de dépérissement les plus élevés. Ce phénomène semble être lié, entre autres, aux perturbations physiologiques des arbres dues d'une part au déficit hydrique de ces dernières années, et d'autre part aux perturbations de l'écosystème causées par l'Homme et son cheptel, surtout dans les stations de basse altitude.

Enfin, nous proposons les perspectives de recherche suivantes :

- approfondir les investigations pour mieux cerner les causes du dépérissement du chêne-liège.
- corrélér le facteur de dépérissement avec l'attaque de quelques insectes.
- surveiller l'état sanitaire de la subéraie et éliminer les arbres affaiblis et totalement desséchés qui présentent généralement des attaques d'insectes et de champignons pathogènes et qui sont à l'origine de la diminution de la vigueur des peuplements.

Références

- Aloui, F. 2001 : Etude du dépérissement du chêne-liège de la forêt de Bellif. Projet de fin d'Etude. – Institut National Agronomique en Tunisie : 15-19.
- Bell, D. F. 1964 : Loss-on-ignition as an estimate of organic matter and organic carbon in non-calcareous soils. – J. Sol Sci.15 : 84-92.
- Ben Jemâa M. & Hasnaoui B. 1996. Le dépérissement du chêne-liège (*Quercus suber* L) en Tunisie. – Ann. Rech For. Maroc, numéro spécial : 1-10.
- Bonneau, M. 1990 : Dépérissement des forêts : sécheresse, pollution acide, autres causes. – Sécheresse 1 (1), 44-54.
- Bremner, J. M. & Mulvaney, C.S. 1982 : Nitrogen-total. In Page, Miller and Keeney (eds), Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. Agronomy n° 9, 2^{ème} (éd). – ASA-SSSA, Madison : 595-624.

- De sousa, E. 1996 : Les principaux ravageurs du chêne-liège au Portugal, leurs relations avec le déclin des peuplements. – IOBC/wprs Bull., 18 (6) : 18–22.
- Hasnaoui, B. 1996 : *Quercus canariensis* Willd : variations saisonnières et stationnelles des teneurs en éléments minéraux des feuilles en Kroumirie (Tunisie). 9-13.
- Institut National de la Météorologie, 2004. Données climatiques de la région de tabarka. Tunisie. 4 p.
- Jackson, M. L., 1958: Soil chemical analysis. – Printice Hall. Inc, Englewood Cliffs, 206 p.
- Ksontini, M. 1996: Etude éco-physiologique des réponses à la contrainte hydrique du chêne-liège (*Quercus suber*) dans le Nord-tunisien : Comparaison avec le chêne-kermès (*Quercus coccifera*) et le chêne-zeen (*Quercus faginea*). – Thèse de doctorat, Université Paris 12, 157 p.
- Little, M. T & Hill, F. J., 1978: Agricultural Experimentation. Desing and Analysis. – John Wiley & Sons. Inc. N. Y, U.S.A., 316 p.
- Mckeague, J. A., 1978 (ed). Manuel de méthodes d'échantillonnage et d'analyse des sols 2^{ème} édition. – Can. Soil. Sci, 250 p.
- Olsen, S. R & Sommers L.E. 1982: Phosphorus. In Page, Miller and Keeney (eds), Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. Agronomy n 9, 2^{ème} éd. – ASA-SSSA, Madision : 403-430.
- Ryan, J. S. Garabet, K. Harmsen, & Rachid A. 1996 : A soil and plant analysis. Manuel adapted for the West and North Africa region. – ICARDA, Aleppo, Syria, 140 p.
- SCS, Southern Cooperative Series, 1983. Reference soil test methods for the southern region of the United States. – Bulletin 289 : 2 p.
- Selmi, M. 1985. Différenciation des sols et fonctionnement des écosystèmes forestiers sur grès numidien de Kroumirie (Tunisie). Ecologie de la Subéraie-Zeenaie. – Thèse de doctorat d'Etat ès Sciences Naturelles. Université de Nancy I, 200 p.

Contribution to the study of cork oak decline in the Tabarka forest (Tunisia): relation between mineral nutrition and tree phytosanitary state

Abstract: Since the beginning of the century, the cork oak forests have undergone a continual decline. This decline is caused by the cork oak's excessive mortality which can reach a very alarming degree. This mortality is not a Tunisian characteristic, but is present in all the Mediterranean cork oak stands. Our study in the Tabarka region, tried to take into consideration the eventual interactions between the mineral nutrition and the degree of oak decline, in relation to the orographic and climatic factors (altitude and direction.) as well as physical and chemical soil properties. Foliar and soil analysis from healthy and declining trees were analysed. There is no clear relationship between the mineral nutrition of essential elements and the decline phenomenon. The measures of the tree characteristics showed that the stand state was related to microclimatic characteristics (altitude, direction). The average rate of Tabarka forest decline was about 14%. However, the weakest rate was found at the highest altitude (12%) and the highest at the lowest altitude and in the South direction (17%).

Key words: *Quercus suber* L, decline, mineral nutrition, orographic factors, physical and chemical properties, climate

Caractérisation de l'état de sénescence de la subéraie tunisienne

Rabeh Nsibi ¹, Naoufel Souayah ², Mohamed Larbi Khouja ³, Abdelhamid Khaldi³,
Ali Skhiri ¹ et Sadok Bouzid ⁴

¹ CRDA-Forêts, Jendouba

² Faculté des Sciences de Gabès, Cité Erriadh, Zrig. Gabès. B.P. 6072

³ Laboratoire d'écologie et d'amélioration sylvo-pastorale, INRGREF, BP 10-2080,
Ariana-Tunisie

⁴ Faculté des Sciences de Tunis

Résumé : L'état de dépérissement actuel de la subéraie tunisienne est une conséquence de l'action humaine (exploitation excessive de liège, pâturage intensif, défrichement) et de facteurs naturels (années consécutives de sécheresse, pullulation d'insectes ravageurs, incendies répétés...). Cette dégradation est accentuée par une longévité limitée des rejets de souche et par l'absence quasi-totale de régénération naturelle. Plusieurs paramètres ont été étudiés pour caractériser l'état de sénescence de la forêt de chêne-liège. Certains ont été suivis in situ (accroissements des pousses annuelles, production de glands, faculté de rejeter après coupe) sur des arbres-mères d'âges différents (1, 10, 20, etc., 200 ans). D'autres paramètres ont été analysés in vivo, sur des explants prélevés sur les mêmes pieds-mères (boutures, fragments de racines, porte greffes, greffons). Avec l'âge, l'activité méristématique diminue de façon généralisée. Une perte des potentialités d'accroissement du végétal et de la production de glands a été notée. Les difficultés à rejeter, à bouturer et à drageonner s'accroissent aussi en fonction de l'âge et la sénescence de l'individu. L'évaluation du degré de sénescence des peuplements devrait nous permettre d'élaborer des stratégies en vue du rajeunissement de la subéraie.

Mots clés : *Quercus suber*, sénescence, accroissement, production de glands, multiplication végétative.

Introduction

Le chêne liège, *Quercus suber* L., est une espèce endémique du bassin méditerranéen occidental et de la côte atlantique. Il occupe 2 250 000 ha. En Tunisie, cette essence joue un rôle socio-économique et écologique indéniable. Outre l'exploitation de son écorce, le chêne-liège joue un rôle écologique important, depuis la dépollution de l'environnement par absorption d'anhydride carbonique et production d'oxygène jusqu'à l'amélioration et la conservation du sol. Le patrimoine subéricole tunisien a souffert de l'action négative de nombreux facteurs biotiques et abiotiques qui ont rendu cet écosystème très fragile et sa régénération naturelle très aléatoire, entraînant une régression graduelle des surfaces de subéraie. En 1922, selon Debierre, la subéraie occupait 140 000 ha en Tunisie. En 2003, la Direction Générale des Forêts n'a recensé que 70 000 ha, ce qui montre une régression de 50% en l'espace de 81 ans.

Nos travaux de recherche visent à évaluer l'état de sénescence des peuplements en vue d'élaborer des stratégies favorisant le rajeunissement de la subéraie. Plusieurs paramètres ont été mesurés sur des chênes-lièges âgés de 1 à 200 ans: accroissement moyen des pousses annuelles, production de glands, faculté de rejeter après recépage, aptitude au bouturage et au greffage.

Matériel et méthodes

Placettes d'étude

Des placettes de 500 m² ont été sélectionnées dans les subéraies de plaine et de montagne de la région de Tabarka (Nord ouest de la Tunisie). Dans chaque type de subéraie, on a marqué à la peinture, après sondage à la tarière de Pressler, des chênes-lièges âgés de 20 à 200 ans qu'on répartit en 7 classes d'âge (20, 40,...,200), à raison de 4 arbres par classe.

Recépage

L'arbre de hauteur dominante a été recépé à 10 cm du sol. De chaque arbre coupé, une rondelle basale de 5cm d'épaisseur a été prélevée pour la détermination de l'âge approximatif après ponçage, polissage et lecture des cernes. La dynamique de rejet a été ensuite suivie et analysée.

Mensuration des accroissements moyens des pousses annuelles

Après avoir déterminé son âge approximatif à l'aide d'une tarière de Pressler, on a sélectionné et marqué à la peinture cinq pousses sur chaque arbre sondé. Les mensurations ont été effectuées chaque année au mois de décembre.

Evaluation de la production de glands

Pendant cinq ans (1998-2002), on a suivi la production des arbres ont été marqués à la peinture. Des récoltes systématiques de glands ont été effectuées en octobre et novembre de chaque année.

Aptitude au bouturage

Deux types de matériel ont été utilisés au cours des expériences de bouturage :

- de jeunes rameaux semi-lignifiés de 10 à 15 cm de long et 0,5 à 1 cm de diamètre ont été prélevés sur des individus d'âges différents (1 à 100 ans), en décembre et en juin. Ils ont été désinfectés à l'aide d'un fongicide (du benlate à 0,6 gl⁻¹) puis traités avec une solution d'acide naphthalène acétique (ANA) à une concentration de 2 mg l⁻¹.
- des fragments de racines de 30 cm de long et 1 à 2 cm de diamètre ont été prélevés sur les mêmes pieds-mères durant la même période, désinfectés au benlate (1gl⁻¹) et traités avec une solution hormonale renfermant 2 mg l⁻¹ de Benzylaminopurine (BAP) et 1 mg l⁻¹ de ANA.

Les deux types d'explants ont été ensuite repiqués dans des conteneurs remplis de perlite, placés à l'ombre et arrosés trois fois par semaine pendant la période chaude.

Aptitude au greffage

La technique de greffage par écussonnage consiste à utiliser des porte greffes âgés de 6 mois qui sont issus de semis de glands. Les greffons sont prélevés sur des arbres-mères âgés de 20 à 200 ans. Le greffon introduit dans sa polarité normale est ligaturé avec du raphia.

Résultats et discussion

Accroissements moyens des pousses annuelles

La figure 1 montre que l'accroissement moyen des pousses annuelles dans le peuplement de montagne passe de 21,8 cm chez les individus âgés de 1 an, à 13,4 cm chez ceux qui commencent à fructifier. Ils sont de l'ordre de 10,2 cm à 60 ans (arbres ayant atteint la maturité et ayant une forte production de glands). Chez les individus plus âgés, les accroissements moyens des pousses diminuent considérablement pour chuter à 4,8 cm chez ceux de 200 ans. L'accroissement diminue avec l'âge des individus, les divisions cellulaires et l'activité méristématique s'atténuant à mesure que l'arbre vieillit. La même situation s'observe dans le peuplement de plaine (Fig. 2). L'accroissement est de l'ordre de 23,5 cm

chez les individus d'un an, atteint 11 cm chez ceux de 60 ans, et seulement 5,1 cm chez ceux de 200 ans.

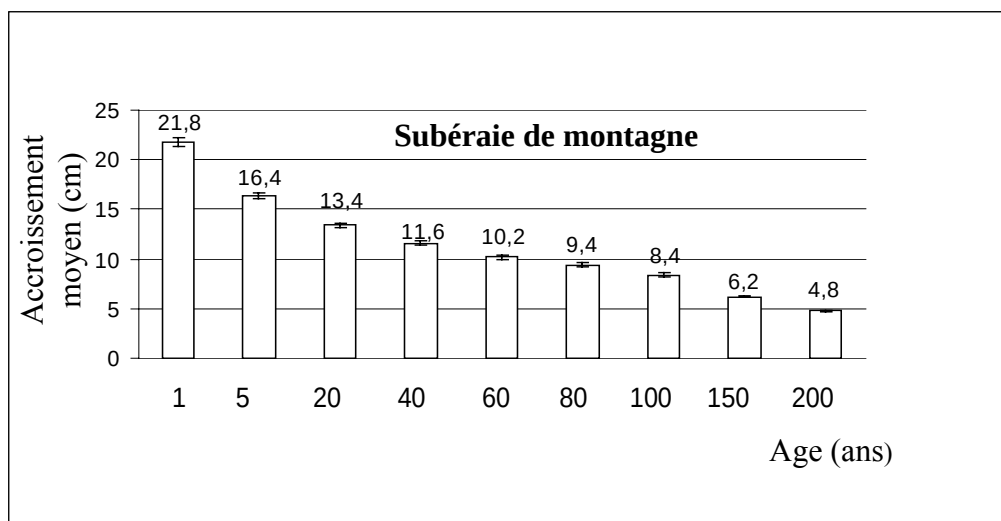


Figure 1. Accroissement moyen des pousses annuelles selon l'âge des chênes-lièges de montagne de la région de Tabarka (Nord ouest de la Tunisie).

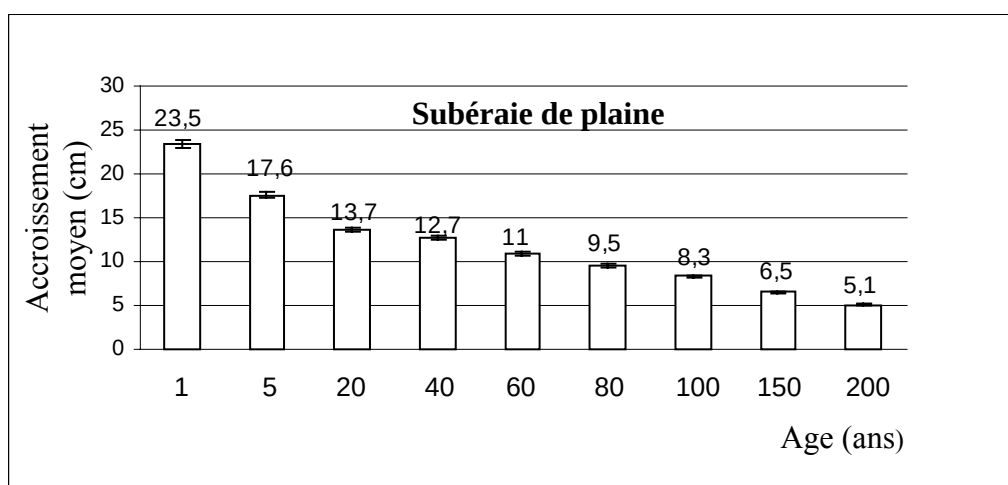


Figure 2 : Accroissements moyens des pousses annuelles selon l'âge des chênes-lièges de plaine de la région de Tabarka (Nord ouest de la Tunisie).

La faculté de développement végétatif et la synthèse de biomasse diminuent avec l'âge de l'arbre qui vieillit progressivement sous l'influence de facteurs génétiques (Hartmann, 1992).

Par ailleurs, il faut noter que le développement des pousses est meilleur pour les arbres de plaine que pour les arbres de montagne. La nature du sol (profond et riche en matière minérale et organique), la disponibilité en eau (bilan hydrique favorable), une pente faible ou nulle, un vent faible et peu violent, des températures douces et une densité faible du peuplement sont des conditions qui semblent favoriser la vigueur des arbres. Autrement dit, les individus végétant en altitude semblent vieillir plus rapidement que ceux de plaine.

Production de glands

L'examen de la production de glands entre 1998 et 2002 (Fig. 3 et 4) montre que, entre 1 et 18 ans environ, le chêne liège est dans sa phase végétative.

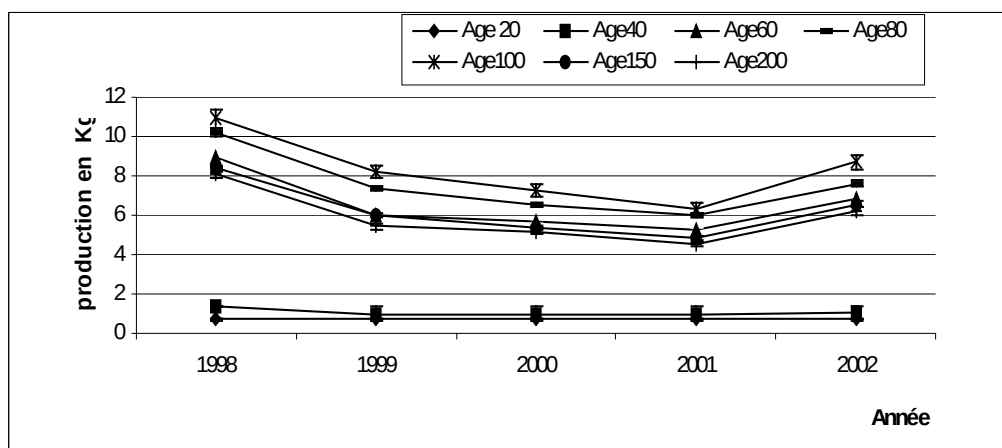


Figure 3 : Effet de l'âge (20 à 200 ans) sur la production moyenne annuelle des glands par arbre, dans les conditions de plaine, durant la période 1998-2002.

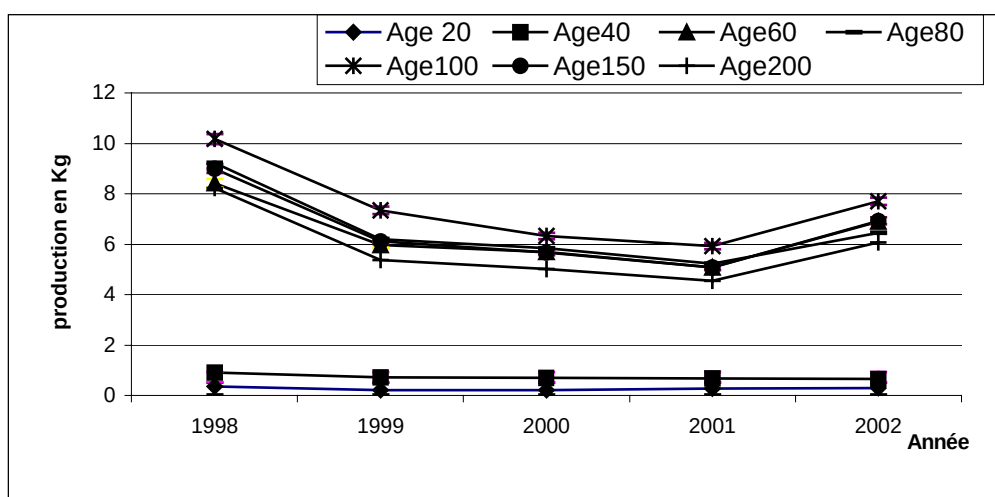


Figure 4 : Effet de l'âge (20 à 200 ans) sur la production moyenne annuelle des glands par arbre, dans les conditions de montagne durant la période 1998-2002.

La production de glands débute vers 20 ans et atteint alors 1 à 2 kg. Elle ne devient abondante et soutenue qu'à partir de 60 ans (6 à 8 kg) et atteint son maximum à l'âge de 100 ans avec environ 11 à 12 kg de glands par arbre. Elle régresse significativement à partir de 150 ans et ne représente plus qu'environ 5 kg de glands pour les arbres de 200 ans. Cette chute de production en fonction de l'âge montre l'effet significatif de l'âge sur l'activité fructifère, qui régresse considérablement chez les individus sénescents, probablement sous l'influence de facteurs génétiques (Hartmann, 1992).

De même, cette production est affectée par les facteurs pédoclimatiques qui sont généralement plus favorables en conditions de plaine (Fig.3). Par ailleurs, on a constaté que l'association racine mycorhize était plus développée chez les arbres de plaine, assurant ainsi une meilleure nutrition et donc des conditions générales plus favorables à la fructification.

Des analyses de variance ont montré des différences significatives à très hautement significatives entre âges des arbres producteurs et le type de subéraie (Tab. 1). De même, la production des glands diffère significativement en fonction du type de subéraie (de plaine et de montagne) en 1998 et 2002, contrairement aux autres années d'observation (1999, 2000, 2001).

Tableau 1. Effet de l'âge des arbres producteurs de glands et type de subéraie (subéraie de plaine et subéraie de montagne) sur la production de glands.

Source de variation	Année de récolte 1998			
	Degrés de liberté	Carré moyen	F	p>F
Année de récolte 1999				
Age	6	67,38	304,25	0,0001***
Type de subéraie	1	0,55	2,5	0,1214 NS
Age x Type de subéraie	6	0,69	3,14	0,0124*
Année de récolte 2000				
Age	6	54,38	290,46	0,0001***
Type de subéraie	1	0,32	1,75	0,1927 NS
Age x Type de subéraie	6	0,55	2,94	0,0173*
Année de récolte 2001				
Age	6	43,11	216,61	0,0001***
Type de subéraie	1	0,31	1,58	0,2162 NS
Age x Type de subéraie	6	0,30	1,53	0,1910 NS
Année de récolte 2002				
Age	6	79,011	528,71	0,0001***
Type de subéraie	1	0,631	4,23	0,0461*
Age x Type de subéraie	6	0,833	5,57	0,0003***

Aptitude du chêne-liège à rejeter après recépage

Les résultats montrent que, suite au recépage, les taux de vitalité des souches-mères varient de 57 à 92%. Les rejets développés présentent les caractéristiques juvéniles (grande vitesse de développement, contour du limbe denté, pigmentation..), qui diminuent considérablement en fonction de l'âge de la souche, jusqu'à une perte totale de cette aptitude. En effet, après recépage, le chêne-liège perd ses potentialités de rejeter entre 139 et 150 ans dans le peuplement de montagne. Au-delà de cette période, ses possibilités de rajeunir par recépage deviennent très aléatoires.

Dans les stations de plaine, l'âge limite au-delà duquel un chêne-liège perd ses facultés de rejeter est compris entre 156 et 169 ans. On constate ainsi un gain de vitalité de l'ordre de 17 à 19 ans dans les peuplements de plaine par rapport aux peuplements de montagne.

Aptitude au bouturage du chêne liège

Explants de tiges. Le bouturage de fragments de tiges prélevés au mois de juin, sur des individus âgés de 1 an, a atteint un taux d'enracinement de 98%. Ce taux chute à 9% chez les explants prélevés sur les souches-mères âgées de 100 ans.

En outre, les taux d'enracinement enregistrés sur les boutures âgées de 1 à 100 ans et repiquées au mois de décembre oscillent respectivement entre 82 et 7%.

L'aptitude des cellules de la base des boutures à se différencier en racines se perd au fur et à mesure que l'arbre avance en âge. Cette perte d'aptitude à l'enracinement en fonction de l'âge est signalée chez plusieurs espèces notamment le chêne vert (L'Helgoual'ch, 1986).

Explants de racines. Le bouturage de fragments de racines, prélevés au mois de juin, sur de jeunes individus âgés de 1 an, ont atteint un taux de drageonnement (émission de nouvelles pousses feuillées) de 97%. Lorsque les boutures de racines sont prélevées au mois de décembre, le taux de drageonnement est de 69%. Chez les explants de racines prélevés sur des individus âgés de 100 ans, ces taux chutent à 13% (repiquage en juin) et 11% (repiquage en décembre).

Par ailleurs, le nombre de drageons varie nettement. Il est de 10 chez les fragments de racines âgés de 1 an, et seulement de 4 chez les fragments de racines âgés de 100 ans. Une certaine juvénilité est également observée chez les jeunes pousses qui se sont développées sur les jeunes racines. Cette juvénilité est due d'une part, à la proximité des explants par rapport au système racinaire de la souche-mère (Nsibi et al, 2004) et d'autre part, au jeune âge des individus. Cette aptitude diminue considérablement chez les individus âgés, mettant en évidence leur état sénescence plus marqué et par conséquent la perte progressive de cette aptitude avec l'âge.

Greffage par écussonnage

Le greffage par écussonnage de greffons récoltés sur des arbres-mères âgés de 20 ans, et réalisés au mois de juin sur des porte-greffes âgés de 6 mois, a atteint un taux de 81%. Lorsque les greffons sont prélevés sur des arbres-mères âgés de 200 ans, le taux de réussite est de l'ordre de 24%.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Slak & Favre (1990) lors du greffage du chêne rouge et du chêne pédonculé. La compatibilité entre porte-greffes et greffons diminuent nettement lorsque le greffon est de plus en plus âgé. Les tissus sont de plus en plus sclérifiés et la synthèse des tannins est plus forte, deux paramètres pouvant inhiber la soudure des tissus des deux parties impliquées (porte greffe et greffon). Par conséquent, la sénescence, essentiellement des greffons, a une forte incidence sur la réussite du greffage.

Conclusion

Les résultats des nos études effectuées sur des chênes-lièges in situ et in vivo, ont permis d'évaluer le degré et les différents seuils de sénescence des paramètres étudiés.

L'accroissement moyen des rameaux annuels diminue manifestement avec l'âge de l'arbre mère. Ils passent de 23,5 cm chez les jeunes individus à 4,8 cm à 200 ans.

La production de glands varie également avec l'âge. Elle augmente progressivement jusqu'à l'âge de 100 ans, puis régresse à partir de 150 ans.

Le recépage a permis de mettre en évidence une dynamique de rejet, très forte chez les jeunes sujets et faible à partir de 100 ans. Les potentialités de rejet du chêne-liège commencent à disparaître à partir de 139 ans.

Les expériences de bouturage, utilisant deux types d'explants (rameaux et racines), ont montré également que les potentialités de rhizogenèse chez les boutures de tiges et de drageonnement chez les boutures de racines diminuent manifestement avec l'âge. Le degré la sénescence est plus marquée pour les boutures de tige que pour les boutures de racines.

De même, l'aptitude au greffage est fortement influencée par l'âge de l'individu, essentiellement chez le donneur des greffons. Leur structures anatomique (sclérification et

épaisseur du sclérenchyme) et cytologique (richesse en tannins) influent considérablement sur le degré d'incompatibilité entre porte-greffe et greffon.

Par ailleurs, l'état du peuplement de chêne-liège est étroitement lié aux conditions environnementales. En effet, les individus de montagne sont plus faibles et leurs aptitudes toujours inférieures à celles des arbres de plaine.

Enfin, nous pouvons dire à travers l'évaluation des paramètres étudiés, que les subéraies tunisiennes affichent un degré de sénescence élevé. Une gestion sylvicole adéquate doit être rapidement entreprise pour assurer leur rajeunissement et leur durabilité.

Références bibliographiques

- Débierre, F. 1922 : Le chêne liège en Tunisie. – Imprimerie officielle de Tunis, 25 p.
- INF, 2003 : Résultats du second Inventaire Forestier National. – Direction Générale des Forêts, 88 p.
- L'Helgoual'ch, M. 1986 : Modification de l'aptitude à la multiplication végétative chez le chêne vert (*Quercus ilex* L.). – Compte-rendu du colloque international sur l'arbre, Montpellier : 399-413.
- Nsibi, R., Souayah, N., Khouja, M.L., Khaldi, A. Rejeb MN & Bouzid, S. 2003 : Le drageonnement expérimental du chêne liège (*Quercus suber* L.). Effet de l'âge et des conditions de culture. – Geo. Eco. Trop. : 27 (1-2) : 29-32.
- Slak, M.F. & Favre, J.M. 1990 : Possibilités actuelles de la multiplication végétative chez les chênes rouge et pédonculé. – Rev. For. Fr. 2. : 220-226.
- Hartmann, C. 1992 : La sénescence des végétaux. Collection Méthodes. – Editeurs des Sciences et des Arts, Paris, 130 p.

Characterization of senescence state of the Tunisian cork oak forest

Abstract: The cork oak decline in the Tunisian forest is a consequence of human activity (excessive extraction of cork, intensive grazing, clearing) and natural factors (consecutive years of drought, proliferation of insect pests, fires...). This deterioration is accentuated by a limited longevity of the stumps and by the absence of natural regeneration. Several parameters were studied to characterize the state of senescence of the cork oak trees. Some parameters were followed in situ (shoot growth, acorn production, sprouting after cut) on mother-trees from various ages (1, 10, 20, etc, 200 years). Other parameters were analyzed in vivo, on explants taken on mother-trees (cuttings, root fragments, graft). With increase in age, the meristematic activity decreases. A loss of the potentialities of plant growth and acorn production was noted. Difficulties in sprouting developing roots and suckering also increased according to the age and senescence of the tree. The assessment of the senescence degrees enabled us to elaborate strategies with a view to a rejuvenation and sustainable use of the Tunisian cork oak forest.

Key words: *Quercus suber*, senescence, vegetative growth, acorn production, vegetative multiplication

Oak forests decline in Iran

Mohammad Reza Arefipour, H. Askary, H. Yarmand, E.Sadeghi, A.N. Salary

Research Institute of Forests and Rangelands of Iran, Forest and Range Protection Research,
P.O. Box 13185-116, Tehran, Iran. arefipor@rifr-ac.ir

Abstract: Several years of drought induced forest decline in many localities of Iran. Oaks stands (*Quercus macranthera*, *Q. petraea*) suffered more damage than those of other tree species. The Hatam-mashaci forest, in North-West Iran, particularly suffered from oak decline. After the drought period however, several other decay factors collectively contributed to oak weakening; they include: 1- high number of same-aged old trees, high density of stands and absence of natural regeneration; 2- outbreaks of the brown-tail moth, *Euproctis chrysorrhoea*, a major oak defoliator whose severe damage increased oak susceptibility to pests and diseases; 3- damages of the acorn weevil, *Curculio glandium* favoring rotting of oak seeds; 4- over-grazing by livestock leading to soil compaction that prevents seed germination; 5- root-rotting caused by *Armillaria mellea* which expands rapidly as a result of tree closeness and grafting between infected and healthy roots. Several strategies may be applied for better forest management and reduction of the decline extent, notably: 1- fencing around the forest stands to prevent livestock grazing; 2- mechanical collecting of brown-tail moth larval nests; 3- excavating deep furrows in order to make a barrier between healthy and infected stands and prevent *Armillaria* root-rot expansion.

Key-words: Oak forest, Iran, decline, *Euproctis chrysorrhoea*, *Curculio glandium*, *Armillaria mellea*, *Quercus macranthera*, *Q. petraea*

Introduction

Forests are a source of industrial wood, non-wood products, sink of air contaminants, beautiful landscapes and the main ecosystems implied in sustainable management. They are nowadays threatened by various environmental stress factors. In Iran, forests are highly valuable and vital by prevailing in arid and semi-arid climates. Unfortunately, oaks (*Quercus macranthera*, *Q. petraea*) that represent the major part of Iran's forests suffered more damage than other tree species. They were particularly susceptible to drought, which favored further pest and disease attack in many parts of the country. These wild stands, corresponding to a remnant part of the Euro-siberian and Iran-Tourani forests, play a very important role as a national genetic resource. The present work is a synthesis of oak decline studies performed in several Iranian forests by Arefipour (2002), Sadeghi (2002), Davari et al. (2002), Dordaei et al. (2002), Nikdel et al. (2004) and Sadaghian et al. (2004).

Primary routine observations were performed in Iranian oak forests in order to record symptoms such as defoliation and branches drying. Several forests as the Hatam-mashaci forest were largely affected while others as the Savadkuh and Tonekabon forests (near the Caspian sea in the Mazandaran province) showed less important damages. They were respectively considered as totally and partially declining forests. Various factors as insect pests, fungi diseases and other stress-inducing agents were recorded using diverse approaches presented in the cited sources.

Results and discussion

The Hatam-mashaci forest, located near the city of Meshkinshahr in North-West Iran (Azarbayjan province), suffered after the drought period from several decay factors which collectively contributed to oak stand decline and already led to death one third of the trees.

The brown-tail moth, *Euproctis chrysorrhoea* (Lymantriidae) is one of the most important decline agents following the drought period. Its outbreaks caused severe defoliation of young oak foliage, each larva eating about 90.30 cm² of oak leaves during its live time (105 days). This pest caused severe repeated spring defoliation which increased the weakness of the trees and their susceptibility to various other stresses, pests and diseases. The infestation, which reached its highest level in this forest, extended every year to other oak stands such as the Arasbaran forest, this last one also suffering in a lesser extend from gypsy moth defoliation.

The acorn beetle, *Curculio glandium* (Curculionidae) is one of the most important oak seed pests. Its damage, inducing rotting of almost 70% of oak acorns, had a severe impact on oak regeneration in Hatam-mashci forest. Growth circles counting showed that trees were about 50-70 years old, while, moreover, not any younger tree or seedling grew between them.

The over-grazing by livestock, such as cows, led to the destruction of the remaining 30% of seeds, subsequently to seedlings consumption and soil compaction which prevents seed germination.

The existence of a calcareous layer at 1.5 meters deep negatively affected Fe absorption and root growth. These results, obtained from analysis of a part of Hatam-mashci forest, should be continued with detailed soil sampling fulfilled in the whole forest area.

The occurrence of *Armillaria mellea* root-rot on declining trees further completed the negative impact of the brown-tail moth and acorn beetle. As high density of trees favored grafting between infected and healthy roots, the disease expanded rapidly. The aggressive potential of the fungi was sustained by its root transfer, capability of parasitic and saprophytic living and permanence of long-term occurrence in roots and stumps. Basing on observation made on cross sections of affected oak trees, *A. mellea* seems to be the final causal agent of oak decline in the Hatam-mashaci forest.

Decline investigation in the Savadkuh and Tonekabon forests (in North of Iran) are in progress. Primary observations established that oak stands suffered less visible damage than in the Hatam-mashaci forest. In Savadkuh, oak trees had a reduced growth and were weakening, some of them dried up. In Tonekabon, in addition to the other symptoms, trees also endured galls and cankers; the sap was flowing from the cankers of many trees.

Conclusion

With the idea that “protecting is better than curing”, plants pathologists proposed to product mycorrhizal seedlings, method which favors the colonization of roots by mycorrhizal fungi before pathogens; it also increases the plant tolerance to drought, its defensive potential and the absorption of nutritional elements.

In order to help healthy oak stands to better resist to decline process, several actions are suggested:

- 1 – maintaining optimum distance between trees by thinning;
- 2 – protecting biodiversity;
- 3 – emphasizing insect pest consumption by birds.

Other appropriate methods must be applied to decline-vulnerable stands, such as Savadkuh and Tonekabon forests, and decline-damaged ones, such as Hatam-mashaci forest, notably:

- 1 – fencing around the forests to prevent grazing and avoiding soil compaction;
- 2 – controlling pests and disease, as in Hatam-mashaci forest, where the best method to control brown-tail moth remained to mechanically collect the larval nests on oak branches;
- 3 – avoiding tree wounding in order to prevent oaks from pathogen infection;
- 4 – excavating deep furrows to make a barrier between healthy and infected stands in order to prevent the expansion of *Armillaria* root-rots;
- 5 – removing infected trees in mature stands, coppices and burned forest remains;
- 6 – performing reforestation with compatible species.

In order to better understand the expansion of oak forest decline, the further investigation must be considered:

- studying the population variations of micro-organisms in forests floor;
- studying climatic and stress factor variations during the recent decades;
- investigating the impact of the previous factors on oak decline.

Acknowledgement

I hereby thank B. Sadaghian, M. Davari and other colleagues for their valuable assistance.

References

- Arefipour, M.R. 2002: Routine observation report from Hatam-mashaci forest. – Research Institute of Forests & Rangelands, Tehran, Iran: 8 p.
- Davari, M., Payghami, E. & Javanshir, A. 2002: Identification of fungi causing and death of oak trees in Hatam-baig forest in Meshkinshahr area. – Msc thesis, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Iran, 137 p.
- Dordaei, A.A., Nikdel, M. & Sadaghian, B. 2002: Feeding and age periods of brown-tail moth larva on *Quercus petraea*. – Proceeding of the 2nd plant protection conference on forests and rangelands, Tehran, Iran, 41 p.
- Nikdel, M., Sadaghian, B. & Dordaei, A.A. 2004: Biology of brown-tail moth, *Euproctis chrysorrhoea* and identification of associated natural enemies in Arasbaran forests. Iran. – J. For. Range Protect. Res. 1(2): 97-119.
- Sadaghian, B., Nikdel, M. & Dordaei, A.A. 2004: Biological study of oak weevil *Curculio glandium* Marsh. and determination of its natural enemies in Arasbaran forests. Final Project Report. – Research center for Agriculture and Natural Resources of East Azerbaijan, Tabriz, Iran: 85 p.
- Sadeghi, E. 2002: Routine observation report from Hatam-mashaci forest. – Research Institute of Forests & Rangelands, Tehran, Iran: 3 p.

Création d'un réseau de surveillance du dépérissement des subéraies en Sardaigne et analyse des premiers résultats

Pino Angelo Ruiu¹, Clizia Sechi¹, Benedetto T. Linaldeddu², Antonio Franceschini²

¹ *Stazione Sperimentale del Sughero, Via Limbara 9, 07029 Tempio Pausania (SS), Italia*

² *Dipartimento di Protezione delle Piante, Università degli Studi di Sassari,
Via E. de Nicola 9, 07100 Sassari, Italia*

Résumé: En 2002-2003, un réseau permanent de surveillance des phénomènes de dépérissement a été mis en place dans les subéraies de Sardaigne pour connaître l'importance réelle du phénomène et en déterminer les principales causes, afin de définir les stratégies de lutte les plus appropriées. Le réseau est constitué par 43 stations qui représentent les différents milieux forestiers de Sardaigne où se développe le chêne-liège. On a calculé l'indice du dépérissement de chaque station et analysé la variabilité de cet indice en fonction de divers paramètres stationnels, forestiers, sylvo-pastoraux. Les premiers résultats montrent que certaines caractéristiques des stations, telles que l'altitude, l'exposition, le type de substrat ou la densité des arbres ont joué un rôle favorisant l'apparition du dépérissement. Les modèles de gestion qui associent le pâturage et le débroussaillage contribuent, de façon significative, à aggraver l'indice de dépérissement. L'évaluation annuelle de cet indice dans l'ensemble des stations du réseau de surveillance permettra de suivre l'évolution du phénomène dans le temps et de vérifier l'efficacité des éventuelles interventions effectuées pour assurer le développement durable de la subéraie.

Mots clés: dépérissement, *Quercus suber*, réseau de surveillance, Sardaigne.

Introduction

Le phénomène de dépérissement, apparu de façon sporadique dans les subéraies de la Sardaigne au début des années 1990, s'est répandu en une décennie dans toute l'île. Les recherches en vue de caractériser ce phénomène d'un point de vue symptomatologique et étiologique ont permis de constater sa présence dans au moins 60 régions subéricoles (Marras et al., 1995; Franceschini et al., 1999; Sechi et al., 2002a).

Au cours des années 2002-2003, un réseau de surveillance permanent a été installé dans le but de définir l'incidence réelle de ce phénomène et d'en déterminer les causes principales afin de choisir les stratégies d'intervention les plus appropriées (Fig. 1). Le réseau est constitué par 43 stations, distribuées dans toute la région et représentant les différentes réalités forestières dans lesquelles pousse le chêne-liège. Les caractéristiques du réseau ayant été décrites dans une note précédente (Sechi et al., 2005), nous analyserons ici les premiers résultats obtenus.

Matériel et méthodes

L'histoire de chaque station du réseau a été prise en compte par rapport à l'évolution des caractéristiques thermo-pluviométriques et sylvo-pastorales, comme à l'existence d'éventuels dégâts provoqués par des facteurs climatiques adverses, des incendies, une activité anthropique, des insectes ravageurs ou des champignons pathogènes. Pour chacune, on a

délimité une aire d'étude de 1 256 m², dans laquelle on a numéroté et examiné tous les arbres de diamètre supérieur à 5 cm. Divers paramètres ont été relevés :

- stationnels: exposition, altitude, nature du substrat, température et pluviosité des cinq dernières années;
- forestiers: structure et typologie du peuplement, densité, association avec autres espèces de chênes, diamètre des troncs à 1,30 m, épaisseur du liège et hauteur de démasclage pour les chênes-lièges de production, état de la régénération naturelle, composition de la couche arbustive;
- sylvo-pastoraux: présence/absence de la strate arbustive et du pâturage;
- phytosanitaires: incidence du dépérissement. Ce dernier paramètre a été évalué en assignant à chaque plante une classe de dépérissement comprise entre 0 (plante saine) et 4 (plante morte), avec des valeurs intermédiaires qui correspondent à différents niveaux de défoliation et de présence de symptômes spécifiques (gourmands, exsudats, nécroses corticales et chancres) sur les troncs et les branches (Sechi et al., 2005).

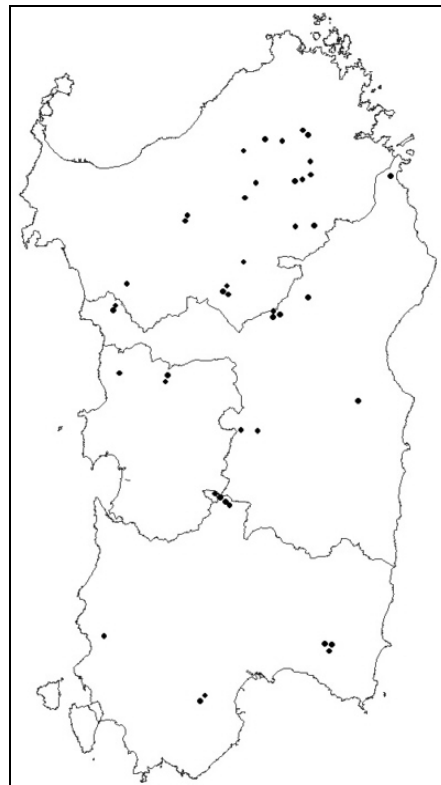


Figure 1. Les stations du réseau de surveillance du dépérissement des subéraies en Sardaigne

L'indice du dépérissement (*ID*) dans chaque station a été calculé en appliquant la formule:

$$ID = \sum (C \times F) / N$$

où: *C* = valeur (0 - 4) de la classe de dépérissement, *F* = fréquence de la même classe, *N* = nombre total de plantes examinées.

Les comparaisons des différents indices ont été effectuées par des analyses de variance (ANOVA) suivie par des comparaisons multiples de moyennes par le test LSD de Fisher. La comparaison des indices moyens de dépérissement des stations réunies en fonction de leurs

caractéristiques forestières et gestionnaires a été effectuée par le t-test. Les calculs ont été effectués à l'aide du programme Statgraphics Plus version 3.1.

Résultats et discussion

L'indice de dépérissement des stations du réseau de surveillance varie de 0,36 dans la station de Tempio à 2,64 dans celle de Genoni, la plupart des valeurs étant comprises entre 1,20 et 2 (Tab. 1).

Tableau 1. Indice de dépérissement (ID) des 43 stations du réseau de surveillance

Aire	Localité	Nb arbres	ID	Aire	Localité	Nb arbres	ID
1	Oschiri 1	85	1,82	23	Sinnai 1	243	0,98
2	Oschiri 2	55	1,38	24	Sinnai 2	206	1,33
3	Bortigiadas	100	0,92	25	Sinnai 3	68	0,84
4	Tempio	223	0,36	26	Iglesias	85	2,00
5	Monti 1	99	1,44	27	Assemini 1	39	0,77
6	Monti 2	86	1,55	28	Assemini 2	48	0,69
7	S. Antonio 1	115	1,28	29	Calangianus	49	1,12
8	S. Antonio 2	106	0,93	30	Berchidda	83	1,50
9	Orani 1	108	1,90	31	Abbasanta 1	152	0,89
10	Orani 2	104	2,04	32	Abbasanta 2	37	0,46
11	Oniferi	120	1,78	33	Cuglieri	207	1,44
12	Bultei	75	1,67	34	Monteleone R.	54	0,70
13	Bono	124	1,85	35	Bosa 1	104	1,01
14	Bottidda 1	85	0,64	36	Bosa 2	103	1,51
15	Bottidda 2	68	1,47	37	Atzara 1	105	1,30
16	Berchidda	137	1,72	38	Atzara 2	164	1,41
17	Gesturi 1	81	0,95	39	Orune	136	1,36
18	Gesturi 2	87	1,57	40	Buddusò	99	1,67
19	Gesturi 3	71	0,69	41	Alà dei Sardi	72	1,22
20	Genoni	25	2,64	42	S. Teodoro	34	1,74
21	Ploaghe 1	96	0,85	43	Urzulei	142	1,64
22	Ploaghe 2	57	1,63				

Les modifications climatiques, qui se sont manifestées au cours de ces dernières années dans le bassin méditerranéen, ont contribué sans doute à l'apparition et à l'extension des phénomènes de dépérissement. En particulier, durant le dernier quinquennium, outre leur distribution irrégulière au cours de l'année et leur concentration sur des périodes de temps de plus en plus courtes, les précipitations ont diminué par rapport à la moyenne historique des trente années précédentes dans toutes les stations du réseau, avec un déficit compris entre 7,3% et 43,4% (Tab. 2).

Tableau 2. Déficit de précipitations ($\Delta\%$) entre la moyenne des années 1998-2002 et la moyenne historique (1961-1990) dans des subéraies du réseau de surveillance (données fournies par le Service Agrométéorologique Régional)

Localité	Précipitations (mm)		$\Delta \%$
	1961-1990	1998-2002	
Tempio	792,8	735,0	-7,3
Abbasanta	845,9	576,7	-31,8
Iglesias	815,1	528,6	-35,2
Genoni	745,8	481,0	-35,5
Orani	776,0	439,1	-43,4

Dans les stations où le déficit de précipitation est le plus élevé, l'indice de dépérissement est généralement fort, ce qui confirme le rôle important joué dans ce contexte par la durée des périodes de sécheresse. Les arbres soumis à des conditions de stress hydrique sont plus sujets aux infections des parasites fongiques de faiblesse qui contribuent activement à accélérer leur déclin végétatif (Sechi et al., 2002b).

La variation de l'indice de dépérissement en fonction des autres paramètres stationnels est reportée dans le tableau 3.

Tableau 3. Variation de l'indice de dépérissement en fonction de l'altitude, du substrat et de l'exposition des stations

Paramètres	Nombre des stations	Indice de dépérissement $\pm$ es
Altitude (m s.n.m.)		
0-300	8	1,41 $\pm$ 0,14a*
301 – 600	25	1,21 $\pm$ 0,10a
>600	10	1,50 $\pm$ 0,13a
Substrat		
Basalte	10	1,18 $\pm$ 0,21a
Trachyte	2	1,26 $\pm$ 0,25a
Granit	24	1,30 $\pm$ 0,08a
Schiste	6	1,58 $\pm$ 0,20a
Sédimentaire	1	1,74
Exposition		
subéraies de plaine	10	1,17 $\pm$ 0,16a
E, NE	7	1,29 $\pm$ 0,19a
W, NW	12	1,36 $\pm$ 0,13a
S, SW	14	1,38 $\pm$ 0,13a

* Les données relatives à chaque paramètre et suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (test LSD, $p=0,05$)

L'analyse des données montre que les paramètres stationnels ne semblent pas influencer de façon déterminante l'indice de dépérissement. Toutefois, les valeurs de l'indice plus faibles se retrouvent dans les stations où le chêne-liège pousse normalement dans les meilleures conditions de développement: altitude entre 301 et 600 m s.n.m., substrats d'origine granitique ou volcanique, et exposition moins soumise à l'ensoleillement et aux vents dominants (mistral et vent d'ouest).

La relation existant entre les principales caractéristiques forestières, le type d'exploitation et l'indice du dépérissement ont été également analysés (Fig. 2). Seuls les peuplements pâturés montrent des indices de dépérissement significativement supérieurs aux peuplements non pâturés.

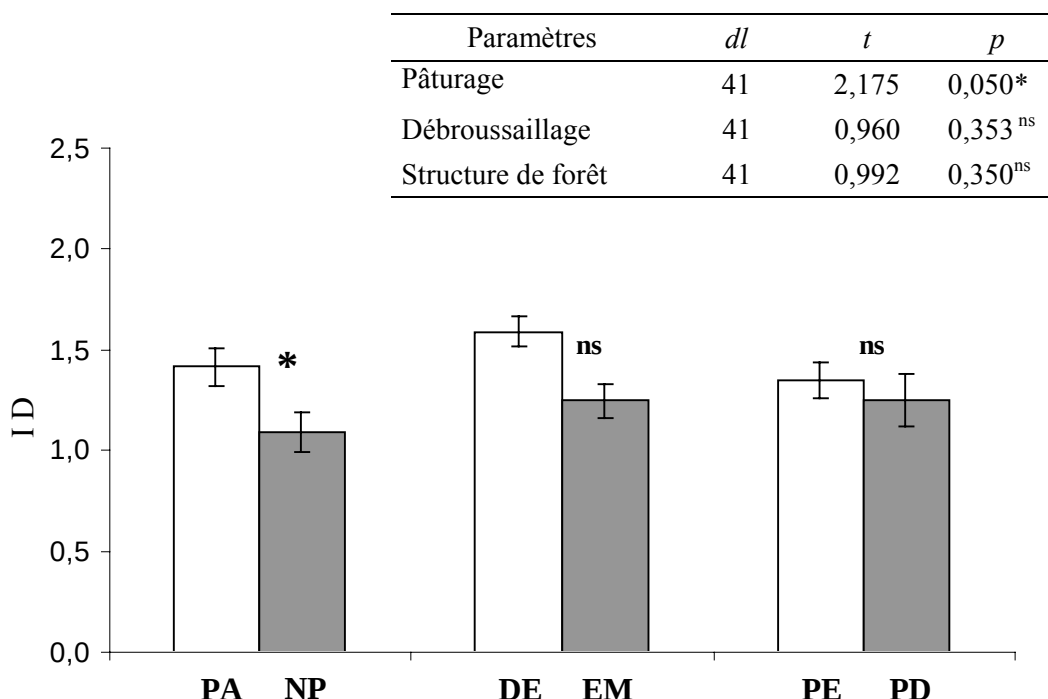


Figure 2. Indice du dépérissement (ID) dans les stations présentant les mêmes caractéristiques forestières et gestionnaires

PA = pâturées; NP = non pâturées; DE = débroussaillées; EM = embroussaillées; PE = peuplements équiennes; PD = peuplements d'âge différent ; * : t-test significatif : $p=0,05$; ns : t-test non significatif, $p=0,05$

En se basant sur la présence/absence de pâturage et de la strate arbustive, les subéraies ont été réparties en trois types principaux: 1) débroussaillé et pâturé, 2) embroussaillé et pâturé, 3) embroussaillé et non pâturé. On remarque que les peuplements débroussaillés et pâturés présentent un indice de dépérissement significativement plus élevé que les peuplements embroussaillés et non pâturés (Tab. 4)

La première typologie, très fréquente en Sardaigne, concerne les subéraies qui subissent un important surpâturage. La présence du bétail entraîne une diminution de la régénération naturelle, un compactage du terrain et une réduction de sa perméabilité. De plus, la disparition de la strate arbustive favorise une augmentation de l'ensoleillement au niveau du sol de la station.

Tableau 4. Variation de l'indice de dépérissement en fonction de la typologie des stations

Typologie des stations	Nombre des stations	Incidence du dépérissement $\pm$ es
Débroussaillées et pâturées	9	1,59 $\pm$ 0,08a*
Embroussaillées et pâturées	21	1,34 $\pm$ 0,12ab
Embroussaillées et non pâturées	13	1,09 $\pm$ 0,10b

* Les données suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (test LSD, $p=0,05$)

On constate enfin que l'indice de dépérissement ne varie pas significativement en fonction de la densité des peuplements (Tab. 5).

Tableau 5. Variation de l'indice de dépérissement en fonction de la densité des peuplements

Densité des peuplements (nombre d'arbre/hectare)	Nombre des stations	Indice de dépérissement $\pm$ es
< 400	6	1,12 $\pm$ 0,33a*
401 - 600	8	1,20 $\pm$ 0,14a
601 - 800	11	1,35 $\pm$ 0,13a
801 - 1000	9	1,52 $\pm$ 0,13a
> 1000	9	1,18 $\pm$ 0,14a

* Les données suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (test LSD, $p=0,05$)

Les résultats d'autres analyses portant sur la variation de l'indice de dépérissement entre les chênes-lièges de production et non démasclés, ou entre les différentes espèces de *Quercus* présentes dans les stations d'étude, sont présentés plus loin dans cet ouvrage (Ruiu et al, 2005a; 2005b).

Conclusions

L'extension des phénomènes de dépérissement dans les subéraies de Sardaigne est probablement liée au déficit de précipitations qui a été observé au cours des dernières années. Dans ce contexte, certaines caractéristiques des stations, telles que l'altitude, l'exposition, le type de substrat, leur densité, ont joué un rôle favorisant l'apparition du dépérissement. Les modèles de gestion qui associent le pâturage et le débroussaillage contribuent, de façon significative, à aggraver l'incidence du dépérissement. Dans ce contexte, il faut remarquer que les pires conditions phytosanitaires se rencontrent dans les subéraies où la gestion forestière s'éloigne, souvent de façon sensible, des conditions correctes d'application des méthodes sylvicoles.

Pour conclure, nos résultats non seulement confirment la complexité du problème du dépérissement des subéraies en Sardaigne, mais montrent aussi l'intérêt de ce réseau de surveillance pour en déterminer les causes et vérifier l'efficacité des solutions envisageables. Ce réseau pourra être mis à la disposition des organismes régionaux chargés de la sauvegarde et de la conservation du patrimoine forestier, qui s'occuperont de l'adapter et de le gérer en

enregistrant chaque année les paramètres climatiques et phytosanitaires ainsi que les modifications sylviculturales de chaque station. Il sera possible ainsi de suivre l'évolution du phénomène dans les différents milieux où croit le chêne-liège et, surtout, d'effectuer des analyses comparatives entre les caractéristiques des différentes stations, afin d'envisager des stratégies d'intervention qui permettent d'assurer le développement durable des subéraies.

Références

- Franceschini, A., Corda, P., Maddau, L., Sechi, C. & Ruiiu, P. A. 1999: Manifestations de dépérissement du chêne-liège en Sardaigne. – IOBC/wprs Bull. 22(3) : 1-3.
- Marras, F., Franceschini, A. & Maddau, L. 1995: Les principales maladies du chêne-liège (*Quercus suber* L.) en Sardaigne (Italie). – IOBC/wprsBull. 18(6) : 8-13.
- Ruiiu, P. A., Sechi C., Linaldeddu B.T. & Franceschini, A. 2005a: Analyse de l'incidence du dépérissement sur les chênes-lièges non démasclés et de production. – IOBC/wprs Bull. 28(6) : 59-63.
- Ruiiu, P. A., Sechi C., Linaldeddu B.T. & Franceschini, A. 2005b: Variabilité de l'incidence du dépérissement des espèces de chênes présentes dans les subéraies de la Sardaigne. – IOBC/wprs Bull. 28(6) : 53-58.
- Sechi, C., Ruiiu, P. A. & Franceschini, A. & Corda, P. 2002a: Nouvelles recherches sur l'extension des phénomènes de dépérissement dans les subéraies de Sardaigne. – IOBC/wprsBull. 25(5) : 5-12.
- Sechi, C., Ruiiu, P. A., Franceschini, A. & Maddau, L. 2002b: Indagine sui fattori predisponenti al deperimento della quercia da sughero. – In: L'endofitismo di funghi e batteri patogeni in piante arboree ed arbustive. Carlo Delfino editore, Sassari: 327-340.
- Sechi, C., Ruiiu, P. A., Franceschini, A. & Corda P. 2005: A monitoring network of cork oak decline in Sardinia to establish control strategies. – International IUFRO Conference "Monitoring and indicators of forest biodiversity In Europe". Firenze 12/15 Novembre 2003 (in press).

Creation of a monitoring network of the decline of cork oak stands in Sardinia and analysis of the first results

Abstract: In 2002-2003, a permanent monitoring network to follow cork oak stand decline was created in Sardinia. The aim of this network was to determine the real incidence and the main causes of the phenomena in order to outline the most suitable intervention strategies. It included 43 stations, representing all the forest situations in which cork oak grows. Decline incidence, assessed by an index, was studied in relation to various environmental, forestry, management and phytosanitary parameters of the stations. The results showed that the decline index is higher in sites situated at an altitude exceeding 600 m a.s.l., on schistose and sedimentary substratum, with West or South exposure and a low level of precipitation; stands are dense and same aged, with scarce or total absence of undergrowth and suffer grazing pressure. The yearly survey of all the stations of the monitoring network will allow us to follow the evolution of the decline incidence and to assess the efficiency of interventions which could be carried out to ensure a sustainable development of the cork oak stands.

Key words: decline, *Quercus suber*, monitoring network, Sardinia.

Variabilité de l'incidence du dépérissement sur les trois espèces de chênes présentes dans les subéraies de Sardaigne

Pino Angelo Ruiu¹, Clizia Sechi¹, Benedetto T. Linaldeddu², Antonio Franceschini²

¹ Stazione Sperimentale del Sughero, Via Limbara 9, 07029 Tempio Pausania (SS), Italia

² Dipartimento di Protezione delle Piante, Università degli Studi di Sassari,
Via E. de Nicola 9, 07100 Sassari, Italia

Résumé: L'incidence du dépérissement sur les chênes-lièges (*Quercus suber* L.), chênes pubescents (*Q. pubescens* Willd.) et chênes verts (*Q. ilex* L.) a été évalué dans les 43 stations d'un réseau de surveillance du dépérissement des subéraies installé en Sardaigne. On a relevé que le chêne-liège et le chêne pubescent sont les espèces les plus affectées par le dépérissement, avec une incidence très variable selon les caractéristiques stationnelles, forestières et de gestion des subéraies. En particulier, l'indice moyen du dépérissement des arbres: i) tend à diminuer pour les chênes-lièges en production et à croître pour le chêne pubescent à mesure que l'altitude augmente; ii) est plus forte pour les chênes-lièges non démasclés et les chênes pubescents croissant sur des terrains schisteux, exposés à l'ouest et au sud, ainsi que dans les peuplements équiennes pâturés. Enfin, seul le chêne-liège montre un dépérissement plus marqué lorsque sa densité augmente et que la subéraie est débroussaillée.

Mots clés: dépérissement, *Quercus suber*, *Q. pubescens*, *Q. ilex*, Sardaigne.

Introduction

Les recherches effectuées dans les principales régions subéricoles de Sardaigne afin de mettre en place un réseau permanent de surveillance du dépérissement des subéraies, ont permis de décrire les stations du réseau et de comparer l'incidence du dépérissement du chêne-liège (*Quercus suber* L.) en fonction soit des caractéristiques stationnelles, forestières et de gestion des différents sites d'étude, soit de l'exploitation ou non des arbres (Sechi et al., 2005; Ruiu et al., 2005a; 2005b).

Les analyses présentées ici ont pour but d'évaluer la variabilité de l'impact du dépérissement sur les trois espèces de chênes: chêne-liège, de production ou non démasclé, chêne pubescent (*Q. pubescens* Willd.) et chêne vert (*Q. ilex* L.), présentes dans les différentes subéraies du réseau de surveillance.

Matériel et méthodes

Dans les 43 aires d'étude, on a examiné tous les pieds de chêne-liège (2 210 démasclés et 1 348 non démasclés), chêne pubescent (603) et chêne vert (182), dont le diamètre du tronc à 1,30 m du sol (mesuré sous l'écorce pour les chênes-lièges démasclés) dépassait 5 cm.

On a attribué à chaque arbre une classe de dépérissement comprise entre 0 (plante saine) et 4 (plante morte), puis calculé un indice de dépérissement selon la méthodologie précédemment décrite (Ruiu et al., 2005b). L'indice de dépérissement a été étudié pour chaque espèce de chêne en fonction de diverses caractéristiques stationnelles (altitude, exposition, substrat), forestières (structure et typologie du peuplement) ou de gestion des subéraies. Les données ont été comparées par des analyses de variance (ANOVA) et des comparaisons multiples de moyennes par le test LSD de Fisher. Les comparaisons des indices

de dépérissement en fonction du type de peuplement ont été effectuées par le t-test. Les calculs ont été réalisés à l'aide du programme Statgraphics Plus version 3.1.

Résultats et discussion

Les chênes-lièges démasclés ont en moyenne des indices de dépérissement significativement plus élevés que les chênes-lièges non démasclés et que les autres deux espèces de chêne (Tab. 1). Ceci confirme le rôle déterminant joué par le démasclage sur la prédisposition des chênes-lièges au dépérissement (Ruiu et al., 2005a). Les chênes-lièges non démasclés ont un indice de dépérissement moyen inférieur à celui du chêne pubescent, mais ces deux espèces sont cependant nettement plus sensibles au dépérissement que le chêne vert.

Tableau 1. Nombre et indice moyen du dépérissement ($\pm$ erreur standard) des arbres examinés de chêne-liège, démasclé et non démasclé, de chêne pubescent et de chêne vert.

Espèces	Nombre d'arbres	Indice de dépérissement $\pm$ es
Chêne-liège		
démasclé	2210	1,54 $\pm$ 0,02 ^{o*}
non démasclé	1348	1,05 $\pm$ 0,03c
Chêne pubescent	603	1,32 $\pm$ 0,05b
Chêne vert	182	0,12 $\pm$ 0,04d

* Les données suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (test LSD, $p=0,05$).

Influence des caractéristiques stationnelles

L'incidence du dépérissement sur les différentes espèces a été analysée en regroupant les stations selon trois classes d'altitude (0-300, 301-600 et >600 m s.n.m.) (Tab. 2).

Les arbres non démasclés semblent être moins sensibles au dépérissement dans les stations d'altitude intermédiaire, où le chêne-liège trouve généralement des conditions de développement optimales. Les arbres démasclés ont des indices moyens de dépérissement plus élevés dans les stations appartenant aux deux classes d'altitude les plus basses.

Tableau 2. Indice moyen de dépérissement ($\pm$ erreur standard) des chênes-lièges, démasclés et non démasclés, chênes pubescents et chênes verts, selon l'altitude.

Espèces	Altitude (m s.n.m.)		
	0 – 300	301 – 600	> 600
Chêne-liège			
- démasclé	1,55 $\pm$ 0,05a*	1,62 $\pm$ 0,03a	1,34 $\pm$ 0,05b
- non démasclé	1,33 $\pm$ 0,16a	0,88 $\pm$ 0,04b	1,42 $\pm$ 0,07a
Chêne pubescent	-	0,84 $\pm$ 0,06a	2,17 $\pm$ 0,06b
Chêne vert	0,13 $\pm$ 0,13a	0,10 $\pm$ 0,04a	0,20 $\pm$ 0,10a

* Les données d'une même ligne suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (test LSD, $p=0,05$)

Le chêne pubescent se montre plus susceptible au dépérissement lorsqu'il pousse à plus de 600 m d'altitude, ce qui correspond sans doute, par rapport au chêne-liège, à de plus faibles capacités d'adaptation aux conditions de sécheresse de ces dernières années; celles-ci sont considérées, au moins dans la région méditerranéenne, comme le principal facteur prédisposant au dépérissement (Ragazzi et al., 2000; Cellerino & Gennaro, 2000). Le chêne vert, quant à lui, est peu atteint par la maladie et les différences d'incidence en fonction de l'altitude ne sont pas statistiquement significatives.

Si l'on analyse les indices de dépérissement en fonction de la nature du substrat pédologique des stations (Tab. 3), on constate qu'aucune différence significative n'apparaît pour les chênes-lièges démasclés et les chênes verts. Par contre, pour les chênes-lièges non démasclés et les chênes pubescents, l'incidence de la maladie paraît beaucoup plus forte dans les stations à sols schisteux, où l'indice de dépérissement atteint respectivement les valeurs de 1,64 et de 2,18.

Enfin, si l'on tient compte de l'exposition des stations (Tab. 4), on remarque que les indices de dépérissement significativement les plus élevés concernent les chênes-lièges démasclés des stations exposées à l'est et nord-est (ID=1,70), les chênes-lièges non démasclés des stations exposées à l'ouest et au nord-ouest (ID=1,28) et les chênes pubescents des versants exposés au sud, sud-ouest (ID=2,22).

Tableau 3. Indice de dépérissement moyen ($\pm$ erreur standard) des chênes-lièges, démasclés et non démasclés, chênes pubescents et chênes verts selon le type de substrat

Espèces	Substrats				
	Basalte	Granite	Schiste	Trachyte	Sédimentaire
Chêne-liège					
- démasclé	1,64 $\pm$ 0,06a*	1,55 $\pm$ 0,03a	1,50 $\pm$ 0,07a	1,35 $\pm$ 0,09a	1,74 $\pm$ 0,19a
- non démasclé	0,80 $\pm$ 0,06a	1,10 $\pm$ 0,04b	1,64 $\pm$ 0,15c	1,00 $\pm$ 0,24ab	—
Chêne pubescent	0,86 $\pm$ 0,13a	1,26 $\pm$ 0,06b	2,18 $\pm$ 0,10c	—	—
Chêne vert	—	0,11 $\pm$ 0,04a	0,23 $\pm$ 0,11a	0,00a	—

* Les données d'une même ligne suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (test LSD, $p=0,05$)

Tableau 4. Indice de dépérissement moyen ($\pm$ erreur standard) des chênes-lièges, démasclés et non démasclés, chênes pubescents et chênes verts selon leur exposition

Espèces	Exposition			
	Plaine	E et NE	W et NW	S et SW
Chêne-liège				
- démasclé	1,61 $\pm$ 0,06ab*	1,70 $\pm$ 0,06a	1,53 $\pm$ 0,04bc	1,42 $\pm$ 0,04c
- non démasclé	0,46 $\pm$ 0,06a	0,94 $\pm$ 0,12b	1,28 $\pm$ 0,05c	1,01 $\pm$ 0,06b
Chêne pubescent	0,83 $\pm$ 0,12ab	1,11 $\pm$ 0,11b	0,68 $\pm$ 0,07a	2,22 $\pm$ 0,06c
Chêne vert	—	0,13 $\pm$ 0,05a	0,00a	0,13 $\pm$ 0,06a

* Les données d'une même ligne suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (test LSD, $p=0,05$)

Influence des caractéristiques forestières et de gestion des subéraies

La variation de l'indice de dépérissement a été analysée en fonction de la densité des peuplements où se développent les trois espèces de chênes (Tab. 5). On constate que l'incidence du dépérissement tend à augmenter avec la densité pour les chênes-lièges, démasclés ou non. Dans le cas des chênes verts, on observe aucune différence significative. Pour les chênes pubescents, par contre, on remarque en particulier un très fort impact de la maladie dans les stations dont la densité est inférieure à 400 arbres/ha. Globalement, le chêne-liège se montre plus sensible que le chêne vert et le chêne pubescent aux effets négatifs dus à l'augmentation de la compétition entre les arbres, surtout par rapport aux ressources hydriques (Ruiu et al., 2005b).

On a analysé également l'incidence de la maladie en fonction des types de subéraie rencontrées (Tab. 6). Quel que soit l'essence, indice de dépérissement des peuplements équiennes est toujours supérieur à celui des peuplements d'âge différent. Mais les différences ne sont statistiquement significatives que pour les chênes-lièges non démasclés et les chênes pubescents.

Tableau 5. Indice de dépérissement moyen ($\pm$ erreur standard) des chênes-lièges, démasclés et non démasclés, chênes pubescents et chênes verts selon la densité des peuplements

Espèces	Densité (nombre d'arbres/ha)				
	<400	401/600	601/800	801/1000	>1000
Chêne-liège					
- démasclé	1,33 $\pm$ 0,09a*	1,42 $\pm$ 0,06ab	1,55 $\pm$ 0,04bc	1,57 $\pm$ 0,05bc	1,65 $\pm$ 0,05c
- non démasclé	0,27 $\pm$ 0,11a	0,64 $\pm$ 0,08a	0,99 $\pm$ 0,09b	1,24 $\pm$ 0,09c	1,13 $\pm$ 0,04bc
Chêne pubescent	2,70 $\pm$ 0,21a	1,56 $\pm$ 0,22bc	0,94 $\pm$ 0,21cd	1,94 $\pm$ 0,06b	0,71 $\pm$ 0,07d
Chêne vert	0,00a	0,20 $\pm$ 0,10a	0,15 $\pm$ 0,16a	0,13 $\pm$ 0,03a	0,11 $\pm$ 0,02a

* Les données d'une même ligne suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (test LSD, $p=0,05$)

Tableau 6. Indice de dépérissement moyen ($\pm$ erreur standard) des chênes-lièges, démasclés et non démasclés, chênes pubescents et chênes verts selon les types de peuplement.

Type de peuplement	Chêne-liège		Chêne pubescent	Chêne vert
	démasclé	non démasclé		
Équienne	1,57 $\pm$ 0,03a*	1,08 $\pm$ 0,04a	1,86 $\pm$ 0,06a	0,12 $\pm$ 0,04a
Arbres d'âge différent	1,49 $\pm$ 0,04a	0,91 $\pm$ 0,07b	0,79 $\pm$ 0,07b	0,11 $\pm$ 0,11a
Débroussaillé	1,69 $\pm$ 0,04a	1,71 $\pm$ 0,11a	1,06 $\pm$ 0,09a	0,00a
Embroussaillé	1,48 $\pm$ 0,03b	0,97 $\pm$ 0,03b	1,39 $\pm$ 0,06b	0,13 $\pm$ 0,04a
Pâturé	1,60 $\pm$ 0,03a	1,13 $\pm$ 0,05a	1,80 $\pm$ 0,06a	0,12 $\pm$ 0,04a
Non pâturé	1,36 $\pm$ 0,05b	0,97 $\pm$ 0,04b	0,62 $\pm$ 0,08b	0,12 $\pm$ 0,09a

* Dans la même colonne, les données suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (t-test, $p=0,05$).

On remarque en outre que les chênes-lièges, démasclés ou non, ont un indice de dépérissement significativement plus élevé lorsqu'ils poussent dans des bois débroussaillés. Par contre, les chênes pubescents semblent plus atteints dans les bois embroussaillés. Enfin, exceptés les chênes verts, les autres espèces montrent une plus forte incidence de la maladie dans les subéraies utilisées pour le pâturage du bétail.

Selon la présence/absence de sous-bois et de pâturage, trois modes d'exploitation de la subéraie ont été distingués: 1) pâturée et débroussaillée; 2) pâturée avec une strate arbustive; 3) non pâturée avec une strate arbustive (Tab. 7). Il ressort que les chênes-lièges, et en particulier ceux qui ne sont pas démasclés, ont un indice de dépérissement plus élevé dans les subéraies pâturées dépourvues de strate arbustive. Par contre, le chêne pubescent montre un dépérissement plus fort dans les subéraies embroussaillées et pâturées. Dans tous les cas, il est important de souligner que ces deux espèces de chênes sont plus faiblement atteintes par le dépérissement dans les subéraies embroussaillées et non pâturées.

Le chêne vert par contre n'a pas un indice de dépérissement significativement différent en fonction du mode d'exploitation de la subéraie.

Tableau 7. Indice moyen du dépérissement ($\pm$ erreur standard) des chênes-lièges, démasclés et non démasclés, chênes pubescents et chênes verts selon le mode de gestion de la subéraie

Espèces	Mode de gestion du peuplement		
	Débroussaillé et pâturé	Embroussaillé et pâturé	Embroussaillé et non-pâturé
Chêne-liège			
démasclé	1,69 $\pm$ 0,04a*	1,55 $\pm$ 0,04b	1,36 $\pm$ 0,05c
non démasclé	1,71 $\pm$ 0,11a	0,98 $\pm$ 0,06b	0,97 $\pm$ 0,04b
Chêne pubescent	1,06 $\pm$ 0,09a	2,24 $\pm$ 0,06b	0,62 $\pm$ 0,08c
Chêne vert	0,00a	0,14 $\pm$ 0,04a	0,12 $\pm$ 0,09a

* Les données d'une même ligne suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (test LSD, $p=0,05$)

Conclusions

Cette étude montre la grande différence de sensibilité au dépérissement des trois espèces de chênes présentes dans les stations du réseau de surveillance des subéraies de Sardaigne. Le chêne-liège est sans doute l'espèce la plus fragile, car elle subit périodiquement des stress intenses lors du démasclage. Il subit les plus forts dégâts car le dépérissement frappe surtout les arbres les plus jeunes destinés à la régénération et ceux qui sont exploités pour leur liège.

Parmi les deux autres espèces, le chêne pubescent se montre le plus susceptible au dépérissement. On constate par ailleurs que les conditions stationnelles qui favorisent le dépérissement sont en général différentes pour le chêne pubescent et pour le chêne-liège.

Sur la base de ces résultats, il est nécessaire de poursuivre les recherches afin de mieux comprendre les relations existant entre le dépérissement des chênes et les caractéristiques stationnelles, forestières et de gestion des subéraies. L'objectif est de déterminer des nouveaux modèles de développement des subéraies qui prennent en compte les réalités forestières de la Sardaigne, où la structure des peuplements et les activités sylvicoles doivent permettre la sauvegarde du chêne-liège pour des raisons aussi bien écologiques qu'économiques.

Références

- Cellerino, G. P. & Gennaro, M. 2000: Drought as predisposing factor in oak decline. – In: Ragazzi et al. eds. Decline of oak species in Italy. Problems and perspectives. Accad. Ital. Sci. Forest., Firenze: 39-75.
- Ragazzi, A., Moricca, S., Della Valle, I. & Turco, E. 2000. Italian expansion of oak decline. – In: A. Ragazzi et al. eds. Decline of oak species in Italy. Problems and perspectives. Accad. Ital. Sci. Forest., Firenze: 39-75.
- Ruiu, P. A., Sechi C., Linaldeddu B.T. & Franceschini, A. 2005a: Analyse de l'incidence du dépérissement sur les chênes-lièges non démasclés et de production. – IOBC/wprs Bull. 28(6): 59-63.
- Ruiu, P.A., Sechi, C., Linaldeddu, B.T. & Franceschini, A. 2005b: Création d'un réseau de surveillance du dépérissement des subéraies en Sardaigne et analyse des premiers résultats. – IOBC/wprs Bull. 28(6): 45-51.
- Sechi, C., Ruiu, P. A., Franceschini, A. & Corda, P. 2005: A monitoring network of cork oak decline in Sardinia to establish control strategies. – International IUFRO conference “Monitoring and indicators of forest biodiversity in Europe”. Firenze 12/15 Novembre 2003 (sous presse).

Variability of decline incidence on oak species growing in Sardinian cork oak stands

Abstract: Decline incidence on cork oak (*Quercus suber* L.), pubescent oak (*Q. pubescens* Willd.) and holm oak (*Q. ilex* L.) was assessed in 43 stations of a monitoring network of cork oak decline in Sardinia. The cork oak and pubescent oak were mostly affected by decline. The incidence was very variable in cork-oak stands which differ by environmental, forestry and management characteristics. Particularly, it was assessed that the mean decline index: i) tended to be lower in productive cork oaks and higher in pubescent oak trees when the stand altitude increased; ii) was higher in unbarked cork oaks and pubescent oaks which grew on schistose soils facing west and south, and in grazed cork oak stands with trees of the same age. Cork oak, only, declines more when tree density increase and undergrowth is cleared from the cork oak stands.

Key words: decline, *Quercus suber*, *Q. pubescens*, *Q. ilex*, Sardinia.

Analyse de l'incidence du dépérissement sur les chênes-lièges non démasclés et de production

Pino Angelo Ruii¹, Clizia Sechi¹, Benedetto T. Linaldeddu², Antonio Franceschini²

¹ Stazione Sperimentale del Sughero, Via Limbara 9, 07029 Tempio Pausania (SS), Italia

² Dipartimento di Protezione delle Piante, Università degli Studi di Sassari,
Via E. de Nicola 9, 07100 Sassari, Italia

Résumé: Lors de la mise en place du réseau de surveillance du dépérissement des subéraies en Sardaigne, l'indice de dépérissement des chênes-lièges non démasclés et de production a été relevé dans les 43 sites de ce réseau. Les arbres démasclés présentent en moyenne un indice de dépérissement supérieur à ceux qui n'ont pas été démasclés, bien que le taux de mortalité de ces derniers soit plus élevé. D'autre part, dans ces deux groupes d'arbres, l'indice de dépérissement et le taux de mortalité sont plus élevés chez les individus ayant un tronc de faible diamètre. Les chênes de production les plus atteints par le dépérissement ont des coefficients de démasclage plus élevés. Les plantes mortes ont, en moyenne, un diamètre plus petit et un coefficient de démasclage plus élevé, ce qui confirme que le démasclage des plants dont les dimensions ne dépassent pas un seuil minimum doit être absolument proscrit.

Mots clés: *Quercus suber*, dépérissement, démasclage

Introduction

Parmi les espèces de chênes les plus communes en Sardaigne, le chêne-liège (*Quercus suber* L.) joue incontestablement un rôle majeur d'un point de vue écologique et, surtout, économique. Cette espèce pourtant, probablement du fait de son exploitation périodique, semble être la plus prédisposée aux graves phénomènes de dépérissement qui depuis des décennies provoquent de fortes mortalités dans les subéraies. Ces phénomènes sont la conséquence du stress causé par différents facteurs adverses de l'environnement. Parmi eux, les fréquentes sécheresses de ces dernières décennies ont eu un rôle décisif dans les chênaies méditerranéennes (Cellerino & Gennaro, 2000).

Dans le cas du chêne-liège, au stress hydrique s'associe périodiquement celui provoqué par le démasclage, opération qui entraîne la déshydratation d'une grande surface du tronc et prédispose l'arbre aux infections de dangereux parasites de faiblesse et par conséquent au dépérissement. Cet impact est particulièrement net lorsque le démasclage est exécuté maladroitement, avec des blessures qui favorisent le développement des infections.

Des recherches récentes, effectuées dans une subéraie dépérissante du Nord de la Sardaigne, ont permis de vérifier que les chênes-lièges de production avaient, en moyenne, un niveau de dépérissement supérieur à celui des plants non démasclés (Sechi et al., 2002). Par conséquent, lors de la mise en place du réseau de surveillance des subéraies de Sardaigne (Ruii et al., 2005), on a évalué l'indice de dépérissement des plants en production et non démasclés dans différentes situations stationnelles, afin de déterminer l'influence du démasclage sur l'incidence de la maladie. Les résultats obtenus sont analysés ici.

Matériel et méthodes

On a examiné tous les arbres de diamètre supérieur à 5 cm (2 210 plants démasclés et 1 348 non démasclés), présents dans les 43 sites d'étude qui composent le réseau de surveillance des subéraies. Pour chaque arbre, on a mesuré le diamètre moyen du tronc à 1,30 m du sol, sur l'écorce pour les plants non démasclés, sous l'écorce pour arbres démasclés. Sur ces derniers, on a mesuré en outre la hauteur de démasclage et calculé la circonférence qu'aurait le tronc en l'absence de démasclage en additionnant 6 cm (estimation de l'accroissement moyen du liège entre deux démasclages) à la valeur du diamètre du tronc sous l'écorce. On a calculé aussi la surface démasclée et le coefficient de démasclage, obtenu en divisant la hauteur de démasclage par la circonférence du tronc. Les arbres ont été répartis selon leur diamètre en classes dont le diamètre varie selon un pas de 5 cm: de 10 à > 35 cm pour les arbres en production, et de 5 à >15 cm pour les arbres non démasclés. Une classe de dépérissement, comprise entre 0 (sain) et 4 (mort), ayant été attribuée à chaque arbre, on a calculé l'indice de dépérissement (ID) dans chacune des classes de diamètre, selon la méthodologie précédemment décrite (Sechi et al., 2005). Les données ont été comparées par des analyses de variance (ANOVA) et par le test LSD de Fisher. Les calculs ont été effectués à l'aide du programme Statgraphics Plus version 3.1.

Résultats et discussion

Il ressort de notre étude, que les classes de dépérissement élevé (2, 3 et 4) renferment 48,4% des arbres de production; ce pourcentage dépasse 50% pour les plants de la première classe de diamètre (10 cm) et pour les plus grands (> 25 cm) (Tab. 1). On constate en particulier, que la mortalité des arbres de la classe de diamètre 10 cm est très élevée (12,6%), et nettement supérieure à celle de toutes les autres classes. Le fort pourcentage d'arbres gravement dépérissants (classe 3) dans la classe de diamètre >35 cm, est aussi remarquable.

Tableau 1. Nombre et indice de dépérissement (ID $\pm$ erreur standard) moyen des chênes-lièges de production selon la classe de dépérissement et la classe de diamètre

Classes de diamètre (cm)	Nombre d'arbres	Classes de dépérissement					ID $\pm$ es
		0	1	2	3	4	
10	143	16,8	27,2	24,5	18,9	12,6	1,83 $\pm$ 0,11a*
15	706	22,2	29,5	25,1	18,1	5,1	1,54 $\pm$ 0,04bc
20	687	23,4	31,0	24,8	17,6	3,2	1,46 $\pm$ 0,04c
25	345	24,3	31,9	24,1	16,2	3,5	1,43 $\pm$ 0,06c
30	162	16,7	31,5	27,8	21,6	2,4	1,62 $\pm$ 0,08abc
35	78	17,9	21,8	30,8	25,7	3,8	1,76 $\pm$ 0,13ab
> 35	89	24,7	15,7	18,0	40,5	1,1	1,78 $\pm$ 0,13ab
Total	2210	22,1	29,5	24,9	19,1	4,4	1,54 $\pm$ 0,02

* Les données suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement pour $p=0,05$

Il est intéressant de remarquer que les indices de dépérissement les plus élevés correspondent aux arbres démasclés de la plus petite classe de diamètre (10 cm). Cela pourrait correspondre à un démasclage effectué trop prématurément. Lorsque les chênes démasclés ont un diamètre plus grand, l'indice de dépérissement apparaît significativement plus faible. Il augmente seulement pour les arbres des classes de diamètre supérieures à 25 cm, qui ont atteint leur maturité ou même commencent à manifester des symptômes de sénescence.

Parmi les chênes-lièges non démasclés, le pourcentage global d'arbres morts ou présentant des symptômes évidents de dépérissement (classe 2, 3 et 4) est de 28,3% (Tab. 2). On constate par ailleurs que la plus petite classe de diamètre (5 cm) renferme le pourcentage d'arbres sains le plus élevé (50%) mais aussi un pourcentage parmi les plus élevés d'arbres fortement dépérissants (classe 2, 3 et 4).

Tableau 2. Nombre et indice de dépérissement ($ID \pm$ erreur standard) moyen des chênes-lièges non démasclés selon la classe de dépérissement et la classe de diamètre

Classes de diamètre(cm)	Nombre des arbres	Classes de dépérissement					ID $\pm$ es
		0	1	2	3	4	
5	150	50,0	16,0	14,0	12,7	7,3	1,11 $\pm$ 0,11ab*
10	498	41,2	25,5	12,4	12,7	8,2	1,21 $\pm$ 0,6 b
15	528	48,5	28,0	10,4	8,9	4,2	0,92 $\pm$ 0,05a
>15	172	45,9	30,2	14,0	8,1	1,8	0,90 $\pm$ 0,08a
Total	1348	45,6	26,1	12,0	10,6	5,7	1,05 $\pm$ 0,03

* Les données suivies par la même lettre, ne diffèrent pas significativement pour $p=0,05$

Chez les arbres non démasclés l'indice de dépérissement est plus élevé pour les plants de petit diamètre (classes 5 et 10 cm), et donc généralement les plus jeunes, et il décroît pour les arbres de classe de diamètre supérieure.

L'analyse des données totales, concernant les deux groupes d'arbres, montre que plus de 50% des chênes-lièges démasclés et plus de 70% des arbres non démasclés ne sont pas ou peu atteints par le dépérissement (classes 0 et 1). Par contre, les classes de dépérissement 3 et 4 renferment 23,5 % des arbres démasclés et seulement 16,3% des chênes non démasclés. Les arbres de production semblent ainsi plus sensibles au dépérissement que les arbres non démasclés. D'ailleurs l'indice de dépérissement des chênes-lièges démasclés (1,54) est en moyenne supérieur à celui des chênes-lièges non démasclés (1,05).

Les données reportées dans le tableau 3, montrent que les arbres les plus dépérissants (classe 3) ont des paramètres de démasclage (diamètre du tronc, hauteur et surface démasclée) significativement plus élevés que les arbres en meilleur état sanitaire. On constate aussi que les valeurs de ces paramètres sont plus faibles pour les arbres morts (classe 4), ce qui confirme que ce sont les plus jeunes plants qui subissent les plus fortes mortalités. Les valeurs du coefficient de démasclage augmentent avec la classe de dépérissement, les arbres morts étant ceux dont le coefficient de démasclage est le plus élevé.

Tableau 3. Valeurs moyennes ($\pm$ erreur standard) des différents paramètres de démasclage des chênes-lièges selon leur classe de dépérissement

Classe de dépérissement	Paramètres			
	Diamètre du tronc (cm)	Hauteur de démasclage (cm)	Surface démasclée (m ²)	Coefficient de démasclage
0	21,1 $\pm$ 0,36a*	132,8 $\pm$ 2,94a	1,01 $\pm$ 0,05a	1,54 $\pm$ 0,02a
1	20,4 $\pm$ 0,26a	132,1 $\pm$ 1,65a	0,91 $\pm$ 0,03b	1,61 $\pm$ 0,01b
2	20,7 $\pm$ 0,30a	136,4 $\pm$ 1,80a	0,95 $\pm$ 0,03b	1,65 $\pm$ 0,02bc
3	22,2 $\pm$ 0,46b	144,2 $\pm$ 2,57b	1,13 $\pm$ 0,05c	1,66 $\pm$ 0,02c
4	17,9 $\pm$ 0,67c	127,1 $\pm$ 4,41a	0,77 $\pm$ 0,06b	1,73 $\pm$ 0,05c

* Les données d'une même colonne suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement pour $p=0,05$

L'analyse des paramètres de démasclage en fonction des classes de diamètre confirme que le démasclage pratiqué sur des plants qui n'ont pas atteint des dimensions suffisantes favorise leur dépérissement (Tab. 4). Les arbres de la plus petite classe de diamètre, qui ont l'indice de dépérissement le plus élevé, ont en moyenne la plus faible surface démasclée pour le plus fort coefficient de démasclage.

Tableau 4. Valeurs moyennes ($\pm$ erreur standard) des différents paramètres du démasclage des chênes-lièges selon leur classe de diamètre et leur indice de dépérissement

Classe de diamètre (cm)	Indice de dépérissement	Paramètres		
		Hauteur de démasclage(cm)	Surface démasclée (m ²)	Coefficient de démasclage
10	1,83 a*	104,4 $\pm$ 1,55a	0,4 $\pm$ 0,01a	1,94 $\pm$ 0,03a
15	1,54 bc	110,5 $\pm$ 0,88a	0,5 $\pm$ 0,00b	1,65 $\pm$ 0,01b
20	1,46c	128,2 $\pm$ 1,12b	0,8 $\pm$ 0,01c	1,58 $\pm$ 0,01c
25	1,43c	144,7 $\pm$ 1,98c	1,1 $\pm$ 0,02d	1,50 $\pm$ 0,02d
30	1,62abc	177,8 $\pm$ 3,36d	1,7 $\pm$ 0,03e	1,59 $\pm$ 0,03bc
35	1,76ab	203,5 $\pm$ 6,00e	2,2 $\pm$ 0,07f	1,60 $\pm$ 0,05bc
>35	1,78ab	265,4 $\pm$ 10,12f	3,9 $\pm$ 0,21g	1,64 $\pm$ 0,05bc

* Les données d'une même colonne suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement pour $p=0,05$

Conclusions

Il semble évident que le démasclage prédispose les chênes-lièges au dépérissement, surtout si il est effectué durant des années de sécheresse ou après de fortes infestations de lépidoptères défoliateurs, ce qui dans ce cas peut avoir de graves conséquences non seulement sur la productivité des plants mais aussi sur leur survie (Sechi et al., 2002). Nos observations, effectuées dans des sites aux caractéristiques différentes, montrent que ce sont les arbres de petit diamètre, ayant subi un démasclage, qui sont les plus sensibles au dépérissement. Les arbres en production les plus atteints par le dépérissement sont aussi ceux dont le coefficient de démasclage est le plus élevé. En particulier, la plus grande incidence de la maladie a été enregistrée sur les plants de la plus faible classe de diamètre qui ont un fort coefficient de démasclage pour une faible surface démasclée. Cela confirme qu'un démasclage prématuré des chênes-lièges peut avoir des conséquences déterminantes sur l'extension du dépérissement. On doit donc, par conséquent, interdire absolument cette opération sur les plants dont les dimensions n'ont pas atteint le seuil minimal établi par les lois forestières actuelles. En particulier, dans les subéraies atteintes par le dépérissement, où les plants de petit diamètre présentent le plus fort taux de mortalité, le non respect de ces règles compromet la régénération naturelle et donc les possibilités de remplacement naturel des arbres qui ne sont plus productifs.

Références

- Cellerino, G.P. & Gennaro, M. 2000: Drought as predisposing factor in oak decline. – In: Ragazzi et al. eds. Decline of oak species in Italy. Problems and perspectives. Accad. Ital. Sci. Forest., Firenze: 39-75.
- Ruiu, P.A., Sechi, C., Linaldeddu, B.T. & Franceschini, A. 2005: Création d'un réseau de surveillance du dépérissement des subéraies en Sardaigne et analyse des premiers résultats. – IOBC/wprs Bull. 28(6): 45-51.
- Sechi, C., Ruiu, P.A., Franceschini, A. & Maddau, L. 2002: Fattori predisponenti al deperimento della quercia da sughero. – In: L'endofitismo di funghi e batteri patogeni in piante arboree ed arbustive. Carlo Delfino editore: 327-340.
- Sechi, C., Ruiu, P.A., Franceschini, A. & Corda, P. 2005: A monitoring network of cork oak decline in Sardinia to establish control strategies. – Intern. IUFRO conf. "Monitoring and indicators of forest biodiversity in Europe". Firenze, 12/15 November 2003 (sous presse).

Analysis of decline incidence between unstripped and productive cork oaks

Abstract: During the setting up of a monitoring network of cork oak decline in Sardinia, the decline index of productive and unstripped trees was analysed in the 43 sites of the network. On an average, stripped plants showed a greater decline incidence than unstripped ones, even if the mortality of the latter was lower. On the other hand, in both the groups, the highest decline index and mortality rate occurred in plants with the smallest diameter. The most declining productive plants also had the highest stripping coefficients. The greatest decline incidence was noticed in plants belonging to the smallest diametric class and with the highest stripping coefficient. This observation confirmed that stripping of plants whose dimensions did not reach a minimum level must be absolutely forbidden.

Key words: *Quercus suber*, decline, stripping

Design and development of a new methodology for inventory of areas affected by oak decline (*seca*) in Mediterranean areas

Sánchez, Gerardo¹, Del Pozo, José Luis², Manzano, M^a José³

¹ SPCAN. Dirección General Para La Biodiversidad. Ministerio De Medio Ambiente. C/Gran Vía de San Francisco, 4; 28005 Madrid, España. (gsanchez@mma.es)

² SFCYP. Dirección General De Medio Ambiente. Consejería de Agricultura y Medio Ambiente. Junta De Extremadura. Avda. De Portugal S/N. Mérida. 06800 Badajoz, España

³ ESMA-Estudios Medioambientales, S.L. C/Hoyuelo, 3- Bajo A. 28007 Madrid, España (emas@emasl.com)

Abstract: A new common method for inventory oak decline was developed during 2003 in Cáceres (Extremadura, Spain). Methodological aspects, taking into account the different symptoms and the stand conditions are presented. A general idea of the linkage between damages, symptoms and detected signs is given. Final result is the proposal of a common methodology enabling to quantify the decline intensity and progress, and understand at general and local level the main damaging factors taking part in the process.

Key words: *seca*, sudden death, decline, *Quercus*, Mediterranean region, inventory

Introduction

The term *seca* referred to a complex process affecting Mediterranean *Quercus* stands, which usually involves biotic, abiotic and anthropogenic agents and leads the tree to decline and even die. Three different categories of symptoms were defined: 1- sudden death, when an apparently healthy tree dies in a short period of time; 2- progressive decline, when the stand shows debility symptoms, losing crown density and, simultaneously, showing up dead branches and twigs (this process ending up with tree death, lasts one to several years) and 3- tree vitality loss, showing the same symptoms as in progressive decline, but with trees being able to survive longer, although in a declining state. Continuous increase of damages from the 90's leads compulsory to develop a common system to inventory and describe *seca* foci. The goal is to unify and homogenize the criteria used to describe the different symptoms, as well as define the key parameters to be assessed, the inventory timing and the procedure to follow during the field work. It includes soil and vegetation characterisation, assessment of presence and development of the different symptoms, damages quantification and distribution among forest species and stands. A test phase was developed in Cáceres province (Spain) in order to define and check the draft methodology proposed.

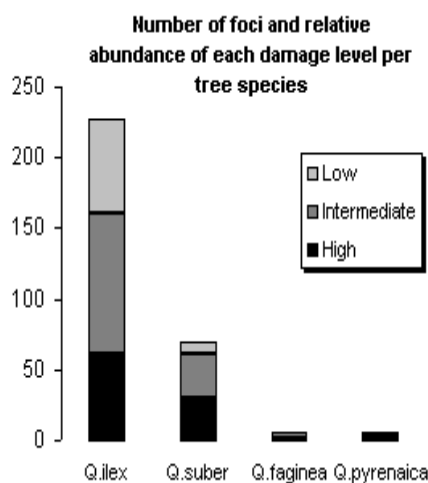
Materials and methods

The first step was the georeference of all the areas where visible *seca* process was detected, according to the information supplied by the forest guards. Among all, the selected areas were only that containing dieback symptoms appeared during the last year. In this way, 241 *seca* foci were defined and surveyed. Most of them are pure *Q. ilex* stands but about 60 are mixed with another *Quercus*. Detailed description of the detected symptoms, evaluation of their relative abundance, location and quantification of the damages at stand level were performed.

In addition, the main parameters concerning geography, silviculture, soil, exploitation and management of the sites that could be a priori linked with *seca* decay process, were described. Cross cutting of the symptom and factor data was performed in relation to field inventory. The considered key parameters were: decline level, tree mortality level, tree defoliation index (1: low; 2: moderate, 3: severe), damage location, symptom linkage with vegetation structure (young stands, regular, irregular or maquis) and decline type preponderance in each focus. In addition, spatial distribution of the foci was taken into account in the analysis.

Results and discussion

Among the most important results, it can be noticed that affected area generally reached around 40 to 60 ha in size. The foci suffering progressive decline are the most common, while areas with sudden death symptoms are quite frequent, their occurrence being independent of the vegetation structure. In Figure 1, the distribution of the damage levels detected is presented in relation to the tree species growing in the studied decline foci.



The risk factors and the implied tree species are:

- high risk conditions/species: mainly *Q. ilex*, *Q. suber*. Regular mature stands, with homogeneous structure at forest or stand level, and more rarely irregular stands. Scarce or lacking regeneration. Location in plain or along stream banks. Less than 400 m a.s.l. in altitude. Mostly south exposed stands. Clay soils. Open timber forest with old trees and overgrazing.
- low risk conditions/species: *Quercus pyrenaica*, *Q. faginea*. Regular young stands, maquis. Highly regenerating stands. Slope areas. More than 400 m a.s.l. in altitude. North exposed areas. Sandy soils.

Concerning the symptoms affecting trees, several trends were detected:

- sudden death symptoms were common in plain areas;
- flooding occurrence had a clear direct influence on sudden death incidence;
- progressive decline symptoms were more common along stream banks, linked with previous localized death processes which induced clearing in the vegetation;
- sudden death was generally more frequent than progressive decline in younger stands, while vitality loss most commonly occurred in old stands.

Observed symptoms supported the hypothesis that root pathogens are the main decline agent in the *seca* process. Their outbreaks are favoured in soils showing high water retention capacity. Initial fungus attack should occur along stream banks or in flat areas, and later widespread as an oil spot. A continuous survey of several *seca* foci would enable in the future the confirmation of these preliminary conclusions, and the elaboration of a scenario describing the development of the *seca* process. Wider inventory could also permit a better overview of the phenomenon and its evolution.

Reference

Prieto, M., Juste, J., Blanco, J., Agentes Forestales de la Consejería de Agricultura y Medio Ambiente de la Junta de Extremadura. Esma, S.L. 2003. Desarrollo y metodología para la realización de un inventario piloto en zonas afectadas por la seca de quercíneas. 120 p.

Occurrence and distribution of fungal endophytes in declining cork oak forests in Sardinia (Italy)

Antonio Franceschini, Benedetto Teodoro Linaldeddu, Francesco Marras

Dipartimento di Protezione delle Piante – Sezione di Patologia vegetale – Università degli Studi di Sassari, Via E. De Nicola, 07100 Sassari, Italy

Abstract: The composition of the endophytic fungal community in 7 cork oak stands with different decline incidence and located at different altitudes in the main cork oak forests in Sardinia, was investigated. The endophytes were isolated in autumn and spring from buds and twigs of both healthy and declining cork oak plants. The results were analysed as a function of the geographical position of the site, season, host health, and colonised organ. As to the mycocenose composition, 32 different taxa were isolated, varying from 9 to 21 in the various sites. Four of these (*Aureobasidium pullulans*, *Biscogniauxia mediterranea*, *Discula quercina* and *Penicillium purpurogenum*) were present in all the sites. *B. mediterranea* was always dominant on both buds and twigs. It was isolated more frequently in autumn and in those stands where the decline was more pronounced. Among the other species isolated, the most important are *Diplodia corticola*, *Discula quercina* and *Pleurophoma cava*, because of their noted pathogenic capability, and *A. pullulans*, *Dictyochaeta parva*, *Sporormiella minima* and *Trichoderma fertile*, being possible antagonists of pathogens which occupy the same ecological niche in the endophytic phase.

Key words: cork oak, decline, fungal endophytes, Sardinia

Introduction

Over the last decades several studies were focused on the ecological and functional significance of the symbiotic associations that fungal and bacterial endophytes of herbaceous and woody plants establish with their hosts (Bacon & White, 2000). The endophytic communities represent a rich reservoir of genetic diversity, and a considerable source of bioactive secondary metabolites, some of which can influence the physiology of the hosts improving their vegetative development and resistance to the adversities (Tan & Zou, 2001). These communities include mutualists, commensals or saprotrophs that “for all or part of their life cycle, invade the tissues of living plants and cause unapparent and asymptomatic infections entirely within plant tissues but cause no symptoms of disease (Wilson, 1995)”. This definition also includes the opportunistic pathogens able both to survive in latent phase as endophyte and to colonize the plant tissues when the host grows in stress conditions. Several of these endophytes play a relevant role in the aetiology of diseases related to the consequences of stress, like oak decline (Anselmi et al., 2000).

In recent years many studies were carried out in Italy to study the decline of *Quercus* spp. and to characterize the fungal endophytic associations of oak trees, as well as the opportunistic pathogens involved (Franceschini & Marras, 2002; Gennaro et al., 2003; Ragazzi et al., 2003).

In Sardinia, in particular, the endophytic mycobiota of both asymptomatic and declining cork oak trees, and the occurrence of the pathogens: *Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) O. Kuntze, *Diplodia corticola* Phillips, Alves & Luque and *Discula quercina* (West.) Arx, were detected (Franceschini et al., 2002a, 2002b). However, little information is so far available on

the endophytic incidence of these pathogens in relation to the season course, stand characteristics, host health conditions, organ colonised and presence of antagonists in the same niche. Therefore, the present research was carried out in order to evaluate the geographical and seasonal influences on the quantitative and qualitative composition of the fungal endophytic communities in different Sardinian cork oak declining forests.

Materials and methods

Characteristic of sites

Seven declining sites were selected in the main Sardinian cork oak forests at different altitude: Bortigiadas (40°53'N, 09°02'E - 150 m a.s.l.), Oschiri (40° 43'N, 09°06'E - 240 m a.s.l.), Bottidda (40°26'N, 08°50'E - 820 m a.s.l.), Oniferi (40°16'N, 09°10'E - 650 m a.s.l.), Austis (40°04'N, 09°05'E - 730 m a.s.l.), Genoni (39°47'N, 09°01'E - 540 m a.s.l.), Assemini (39°10'N, 08°59'E - 250 m a.s.l.). At each site a sampling area of 20 m in radius was established to detect the health status of all the cork oak plants with a diameter of more than 5 cm. In particular, a decline class (from 0=healthy plant to 4=dead plant) of each plant and the "Decline Index" (DI) ($0 \div 4$) of the site were assessed following the methodology previously described (Franceschini et al., 2002c).

Isolation and identification of endophytic fungi

The endophytes were isolated in autumn (October-November) 2002 and spring (April-May) 2003 from 2 healthy plants and 2 declining ones at each site (but in Assemini and Genoni only in spring). From each plant, ten 1-year old twigs and ten 3-year old twigs were collected. These samples were disinfected by immersion for 15 minutes in oxygenated water at 10%, then dipped 5 times in sterile distilled water, and lastly dried with sterile filter paper. Three buds for each 1-year old twig and 3 fragments for each 3-year old twig were taken. A total of 2880 samples (1200 in autumn and 1680 in spring) were used for isolation. In particular, a cylindrical 3-4 mm³ fragment of each bud and the three fragments of twig were put in a Petri dish containing potato-dextrose-agar (PDA) with 0.06 g/l of streptomycin, and all the dishes were incubated at 25°C in a darkened thermostat. The fungal colonies which developed in each dish after 3 to 5 days were transplanted still on PDA and kept in the same conditions for 20 days, or until sufficient characteristics for identification had developed.

The results of isolation both referred to the "Colonisation Rate" (CR) of the plants, with the formula $CR = N_c/N_t \times 100$, where N_c = number of colonized fragments by at least one species, and N_t = total number of fragment examined, and as "Isolation Frequency" (IF) of each endophyte defined by the formula: $IF = N_i/N_t \times 100$, where N_i and N_t are the number of segments colonized by the endophyte and the total number of segments examined, respectively.

Data analysis

The CR and IF values were submitted to analysis of variance (ANOVA) after arcsin transformation, using a Statgraphics Plus version 3.1 software. Statistical significance was determined according to Duncan's Multiple range Test ($P=0.05$).

Regression analysis was used to study the relationship between altitude and DI of site (independent variable x) and Isolation Frequency of each species (dependent variable y) with the following regression model: $y = \alpha + \beta x$, where α and β are the regression parameters. Statistical significance was determined according to Pearson coefficient. Analysis was performed by Analyse-it for Microsoft Excel General & Clinical Laboratory modules Version 1.71 software.

Results and discussion

The decline index of the sites varied from 0.5 (Austis) to 3 (Bortigiadas), regardless of geographical position and altitude of the stations as well as of the plant colonization rate (Tab. 1). Also the CR values (varying from 17.5% to 90.8%) were independent of the site characteristics and do not differ significantly between healthy plants and declining ones in both samplings, except for Genoni in spring. However, it is evident that the colonisation rate of the plants was always higher in autumn than in spring, both in healthy and declining trees.

Table 1. Altitude and decline index (DI) of the sites, and colonization rate (CR %) of healthy and declining cork oak trees in autumn and spring

Sites	Altitude (m a.s.l.)	DI (0÷4)	Autumn		Spring	
			Healthy	Declining	Healthy	Declining
Bortigiadas	150	3.0	89.2a*	85.0a	49.2a	58.3a
Oschiri	240	1.5	70.8a	78.3a	54.2a	32.5a
Assemini	250	0.7	nr	nr	22.5a	17.5a
Genoni	540	2.1	nr	nr	41.6a	73.3b
Oniferi	650	1.9	90.8a	90.0a	56.6a	56.6a
Austis	730	0.5	69.2a	66.6a	40.0a	41.6a
Bottidda	820	1.4	70.0a	81.6a	23.3a	35.1a

* Values for each horizontal line, showing comparisons between healthy/declining plants in spring, and autumn, marked with different letters show significant differences in Duncan's multiple range test (p=0.05)

The fungal endophytic community at the various sites was composed by a variable number of species, from 9 to 21 (Tab. 2). A total of 32 different taxa were isolated: a large part occasional and with low frequency, some (13%) in only one site. Four species: *Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud, *B. mediterranea*, *D. quercina* and *Penicillium purpurogenum* Stoll were isolated at all the sites.

A. pullulans is a cosmopolitan endophyte, frequently isolated from several Angiospermae and Gymnospermae (Petrini & Fisher, 1990; Sieber, 1989). It is one of the more widespread microorganisms in the phyllosphere, known also for its antagonistic properties against fungal pathogens (de Hoog & Yurlova, 1994).

B. mediterranea has always been the predominant species (with IF values varying from 16.5% to 63.7%), except in site n. 2 (Austis), where *Dictyochaeta parva* (Hughes & Kendr.) Hol.-Jech. occurred with the same frequency. This suggests that *D. parva*, never reported to date on *Quercus* spp., could have antagonistic properties against *B. mediterranea*. This assumption has been proved with in vitro trials and the results discussed in another paper in this issue (Linaldeddu et al., 2005b). During the same trials, the antagonistic activity of *A. pullulans*, *Sporormiella minima* (Auersw.) Ahmed & Cain and *Trichoderma fertile* Bisset were ascertained.

P. purpurogenum, a known producer of bioactive metabolites and agent of biological control against phytopathogenic fungi (Larena & Melgarejo, 1996), as well as an unidentified *Coelomycetes* widespread in the sites, could also be potential antagonists.

Table 2. Isolation frequency (IF %) of the different taxa at the 7 sites examined (average data from 2 samplings of buds and twigs from healthy and declining cork oak plants)

Taxa	Sites*						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Alternaria alternata</i>	–	0.8	–	–	–	0.2	–
<i>Alternaria</i> sp.	1.2	0.4	0.6	–	0.4	0.4	0.6
<i>Aureobasidium pullulans</i>	0.8	2.9	3.5	1.9	0.4	2.5	0.8
<i>Bionectria solani</i>	2.0	1.0	0.2	–	–	0.2	0.4
<i>Biscogniauxia mediterranea</i>	17.1	16.5	56.6	40.0	53.8	63.7	46.0
<i>Botrytis cinerea</i>	–	–	4.5	1.2	0.4	3.7	0.6
<i>Cladosporium</i> sp. 1	–	–	0.4	0.8	–	–	0.4
<i>Cladosporium</i> sp. 2	0.4	–	2.0	–	–	2.0	0.8
<i>Coryneum depressum</i>	–	–	0.2	0.4	–	–	–
<i>Cytospora</i> sp.	–	0.2	–	0.2	0.4	–	–
<i>Dictyochaeta parva</i>	–	16.8	0.6	5.0	–	4.3	4.7
<i>Diplodia corticola</i>	–	1.5	–	–	0.8	0.2	–
<i>Diplodia</i> sp.	–	–	0.6	–	–	–	0.2
<i>Discula quercina</i>	0.8	4.8	2.3	3.1	2.9	3.1	1.8
<i>Epicoccum nigrum</i>	0.4	–	–	–	–	–	–
<i>Myrioconium</i> sp.	–	0.6	0.2	0.4	–	0.2	–
<i>Penicillium purpurogenum</i>	0.4	1.2	0.6	0.2	0.8	0.2	1.0
<i>Pestalotia</i> sp.	–	0.8	0.4	0.6	–	0.6	0.4
<i>Pleurophoma cava</i>	–	1.8	0.4	1.8	–	–	0.8
<i>Phoma</i> sp.	–	0.8	–	–	–	0.2	–
<i>Preussia aemulans</i>	–	3.9	–	–	0.4	–	–
<i>Seimatosporium glandigenum</i>	–	0.4	0.6	–	–	–	0.6
<i>S. kriegianum</i>	–	–	–	–	–	–	0.2
<i>Sordaria fimicola</i>	–	1.6	0.4	0.2	–	–	0.2
<i>Sporormiella minima</i>	–	–	–	–	–	–	0.2
<i>Stereum gausapatum</i>	0.4	2.9	0.4	0.4	–	0.2	–
<i>Trichoderma fertile</i>	–	–	0.4	–	0.4	–	–
<i>T. harzianum</i>	–	1.6	–	–	–	–	–
Coelomycetes unidentified	–	0.2	0.2	1.2	0.4	0.4	0.6
Sterile mycelium 1	–	–	–	–	–	0.2	1.0
Sterile mycelium 2	–	–	0.2	0.6	–	–	0.8
Sterile mycelium 3	–	–	–	0.2	–	0.2	–

* 1=Assemini; 2=Austis; 3=Bortigiadas; 4=Bottidda; 5=Genoni; 6=Oniferi; 7=Oschiri.

Other species with pathogenetic properties were *Discula quercina*, *Diplodia corticola* and *Pleurophoma cava* (Schulzer) Boerema, Loer & Hamers. The first, an endophyte widespread on *Quercus* spp. and agent of leaf antracnoses in North America and Europe (Ragazzi et al., 1999), occurred at all the sites but with limited frequency varying from 0.8% to 4.8%. These values are much lower than those detected on *Q. cerris* (Ragazzi et al., 1999) and *Q. pubescens* (Franceschini et al., 2002b). *D. quercina*, in its endophytic phase, probably is not host-specific to cork oak.

D. corticola and *P. cava*, whose pathogenicity in *Quercus* spp. was demonstrated (Luque et al., 2002; Luisi et al., 1991), were less widespread and recurred with low frequency.

The remaining species belonging to the genera *Alternaria*, *Bionectria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Myrioconium*, *Pestalotia*, *Sordaria* and *Stereum*, and more rarely isolated, represented cosmopolitan and ubiquitous endophytes.

The endophytic incidence of the most frequent species: *A. pullulans*, *B. mediterranea*, *D. parva* and *D. quercina* were analysed in relation to the season, plant health and colonized organ.

At the various sites, the IF values of *A. pullulans* and *D. quercina* did not change significantly between autumn and spring, while those of *D. parva* and *B. mediterranea* were often higher in autumn (Tab. 3). At the site of Austis the IF of *D. parva* in autumn was higher than that of *B. mediterranea* (almost double). Seasonal variation of the endophytic incidence of *B. mediterranea* has already been observed in Italy on *Q. cerris*, *Q. pubescens* and *Q. suber* (Franceschini et al., 2002b; Ragazzi et al., 2002), and in Spain on *Q. ilex* (Collado et al., 1999). It is well known that the infections of *B. mediterranea* can occur all year round reaching their peak level only in the rainy periods (Mazzaglia et al., 2002a; Linaldeddu et al., 2005a), which in Sardinia normally occur in autumn.

Table 3. Isolation frequency (IF %) of the main fungal species isolated in autumn (A) and spring (S) (average data regarding buds and twigs of healthy and declining cork oak plants)

Sites	<i>Aureobasidium pullulans</i>		<i>Biscogniauxia mediterranea</i>		<i>Dictyochaeta parva</i>		<i>Discula quercina</i>	
	A	S	A	S	A	S	A	S
Assemini	nr	0.8	nr	17.1	nr	-	nr	0.8
Austis	1.7a	4.2°*	15.5a	17.5a	30.8a	2.9b	5.0a	4.6a
Bortigiadas	4.5a	2.5a	72.0a	41.3b	0.4a	0.8a	2.5a	2.1a
Bottidda	1.6a	2.1a	62.5a	17.5b	9.2a	0.8b	3.4a	2.9a
Genoni	nr	0.4	nr	53.8	nr	-	nr	2.9
Oniferi	3.7a	1.3a	77.0a	50.4b	8.7	-	3.3a	2.9a
Oschiri	0.8a	0.8a	57.5a	34.6a	8.3a	1.2b	2.0a	1.7a

* Values of each horizontal line for each fungal species marked with different letters demonstrate significant differences in Duncan's multiple range test (P=0.05)

Data reported in table 4 shows that the IF values of *A. pullulans* and *D. quercina* did not change much according to site or plant health, while those of *B. mediterranea* were significantly higher in declining plants in 2 sites (Bottidda and Genoni). On the contrary, *D. parva* showed values generally higher in healthy plants, even more than *B. mediterranea* in the Austis site.

As to the colonized organ, *A. pullulans*, *D. quercina* and *D. parva* showed higher IF in buds than in twigs; the latter species always with statistically significant differences (Tab. 5). Also in the Austis site *D. parva* shows IF values in the buds higher than *B. mediterranea*. On the other hand, *B. mediterranea* did not show specificity to both examined organs.

Finally, the isolation frequency values of these fungi were analyzed with regard to the altitude and the decline index of the sites. A highly significant linear correlation with DI was established only for *B. mediterranea* (Tab. 6).

Table 4. Isolation frequency (IF %) of the main fungal species isolated from healthy (H) and declining (D) cork oak plants (average data from 2 samplings of buds and twigs)

Sites	<i>Aureobasidium pullulans</i>		<i>Biscogniauxia mediterranea</i>		<i>Dictyochaeta parva</i>		<i>Discula quercina</i>	
	H	D	H	D	H	D	H	D
Assemini	0.8a*	0.8a	20.0a	14.1a	-	-	0.8a	0.8a
Austis	3.8a	2.1a	17.6a	15.3a	21.2a	12.5b	3.3a	6.3a
Bortigiadas	0.8a	6.2a	58.5a	54.6a	0.4a	0.8a	2.5a	2.1a
Bottidda	2.1a	1.6a	30.2a	50.1b	8.7a	1.2b	4.6a	1.6a
Genoni	-	0.8	39.1a	68.3b	-	-	0.8a	5.0a
Oniferi	3.8a	1.2a	62.6a	64.8a	5.4a	3.3a	3.7a	2.5a
Oschiri	1.6	-	47.0a	45.0a	5.8a	3.7a	1.2a	2.4a

* Values of each horizontal line for each fungal species marked with different letters demonstrate significant differences in Duncan's multiple range test (P=0.05)

Table 5. Isolation frequency (IF %) of the main fungal species isolated from buds and twigs (average data from 2 samplings from healthy and declining cork oak plants)

Sites	<i>Aureobasidium pullulans</i>		<i>Biscogniauxia mediterranea</i>		<i>Dictyochaeta parva</i>		<i>Discula quercina</i>	
	Buds	Twigs	Buds	Twigs	Buds	Twigs	Buds	Twigs
Assemini	1.6*	-	24.1a	10.0b	-	-	0.8a	0.8a
Austis	4.6a	1.3a	15.0a	18.0a	29.9a	3.7b	7.5a	2.1b
Bortigiadas	5.7a	1.3a	57.1a	56.0a	1.2	-	3.8a	1.3a
Bottidda	3.3a	0.4a	43.7a	35.8a	9.1a	0.8b	5.5a	0.8a
Genoni	0.8	-	57.5a	50.0a	-	-	5.8	-
Oniferi	3.2a	1.6a	55.7a	71.7b	8.3a	0.4b	6.3	-
Oschiri	0.8a	0.8a	60.4a	31.7b	7.9a	1.6b	2.5a	1.3a

* Values of each horizontal line for each fungal species marked with different letters demonstrate significant differences in Duncan's multiple range test (P=0.05)

Table 6. Relationship between altitude and decline index of sites (x), and isolation frequency of *Biscogniauxia mediterranea* (y)

Characteristic of site	Regression model	R ²	r	P
Altitude	$y = -0.006x + 44.99$	0.008	-0.09	0.84
Decline index	$y = 19.069x + 11.719$	0.75	0.87	0.01

This confirms that, in Sardinia, *B. mediterranea* can infect the trees in all the cork oak vegetation zone, from sea level to 800-900 m altitude, and that its endophytic incidence strictly depended from the healthy status of the forest. Moreover, when the incidence of declining or dead plants, showing typical stromata with fungus fruiting bodies, were higher, the inoculum potential was higher and therefore its endophytic infection more frequent.

In conclusion, the fungal endophytic community of cork oak is characterized by both the mainly sporadic presence of various cosmopolitan species widely found in nature, some of which being potential pathogens, and the presence of one host-specific dominant taxa. This community is very similar to those of other forest species from both temperate and tropical climates (Collado et al., 1999; Suryanarayanan et al., 2002), where xylariaceous fungi are often the dominant taxa (Fröhlich et al., 2000). Also *B. mediterranea* is a xylariaceous fungus which shows a high “expression specificity” on cork oak (Franceschini et al., 2002a).

Unlike the majority of the other species isolated, whose presence was usually limited to one or few sites, *B. mediterranea* does not appear to be influenced by geographical factors and is widespread throughout the entire region. Its endophytic presence is not apparently organ-specific, although it seems to be greatly influenced by the seasons and moreover directly linked to the decline degree of the forest. These findings have also been reported for *Biscogniauxia nummularia* (Bull.:Fr.) O. Kuntze on beech trees (Mazzaglia et al., 2002b).

The other pathogenic species *Diplodia corticola*, *Discula quercina* and *P. cava*, although more aggressive than *B. mediterranea*, occur sporadically and with a low frequency. However, their presence in cork oak forests cannot be underrated, since the cork oak is particularly susceptible to pathogen attacks at the time of cork extraction. This emphasizes the importance of taking adequate preventive measures to control the infections not only of *B. mediterranea*, but also of these pathogens. In this context, observations carried out on the presence of potential antagonists in the endophytic phase are of great interest to develop future research on the biological control of pathogens involved in oak decline.

Acknowledgements

Work supported by MURST (40%) “Ruolo di endofiti fungini nel deperimento delle querce”.

References

- Anselmi, N., Mazzaglia, A. & Vannini, A. 2000: The role of endophytes in oak decline. – In: Decline of oak species in Italy. Problems and perspectives, Ragazzi, Dellavalle et al. eds. Accademia Italiana Scienze Forestali, Firenze: 129-144.
- Bacon, C.W. & White, J.F. 2000: Microbial endophytes. – Marcel Dekker, New York, 487 p.
- Collado, J., Platas, G., Gonzalez, I. & Pelaez, F. 1999: Geographical and seasonal influences on the distribution of fungal endophytes in *Quercus ilex*. – New Phytol. 144: 525-532.
- Franceschini, A. & Marras, F. 2002: Proc. Congr. “L’endofitismo di funghi e batteri patogeni in piante arboree e arbustive”. Sassari-Tempio Pausania, 19-21 maggio 2002, Carlo Delfino ed. Sassari, 402 p.
- Franceschini, A., Maddau, L. & Linaldeddu, B. 2002a: Presenza di endofiti fungini coinvolti nel deperimento della quercia da sughero in specie del sottobosco di una sughereta in decadenza. Proc. Congr. “L’endofitismo di funghi e batteri patogeni in piante arboree e arbustive”. Sassari-Tempio Pausania, 19-21 maggio 2002: 147-156.
- Franceschini, A., Maddau, L. & Marras, F. 2002b: Osservazioni sull’incidenza di endofiti fungini associati al deperimento di *Quercus suber* e *Q. pubescens*. – Proc. Congr. “L’endofitismo di funghi e batteri patogeni in piante arboree e arbustive”. Sassari-Tempio Pausania, 19-21 maggio 2002: 313-325.
- Franceschini, A., Maddau, L., Serra, S. & Pulina, M.A. 2002c: Methodological approaches to outline control strategies of cork oak decline in Sardinia (Italy). – IOBC/wprsBulletin 25(5): 17-20.

- Fröhlich, J., Hyde, K.D. & Petrini, O. 2000: Endophytic fungi associated with palms. – *Mycol. Res.* 104 (10):1202-1212.
- Gennaro, M., Gonthier, P. & Nicolotti, G. 2003: Fungal endophytic communities in healthy and declining *Quercus rubur* L. and *Q. cerris* L. trees in northern Italy. – *J. Phytopathology* 151: 529-534.
- de Hoog, G.S. & Yurlova, N.A. 1994: Conidiogenesis, nutritional physiology and taxonomy of *Aureobasidium* and *Hormonema*. – *Antoine van Leeuwenhoek* 65: 41-54.
- Larena, I. & Melgarejo, P. 1996: Biological control of *Monilinia laxa* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* by a lytic enzyme-producing *Penicillium purpurogenum*. – *Biol. Control* 6: 361-367.
- Linaldeddu, B.T., Franceschini, A. & Pulina, M.A. 2005a: Epidemiological aspects of *Biscogniauxia mediterranea* in declining cork oak forest in Sardinia (Italy). – *IOBC/wprs Bulletin* 28(6): 75-81.
- Linaldeddu, B.T., Maddau, L. & Franceschini, A. 2005b: Preliminary *in vitro* investigations on the interactions among endophytic fungi isolated from *Quercus* spp. – *IOBC/wprs Bulletin* 28(6): 101-102.
- Luisi, N., Frisullo, S. & Mannerucci, F. 1991: Patogenicità di specie fungine associate al deperimento della quercia nell'Italia meridionale. – *Proc. Congr. "Problematiche fitopatologiche del genere Quercus in Italia"*. Firenze 19-20.11.1990: 99-107.
- Luque, J., Parladé, J. & Pera, J. 2002: Seasonal changes in susceptibility of *Quercus suber* to *Botryosphaeria stevensii* and *Phytophthora cinnamomi*. – *Plant Pathology* 51: 338-345.
- Mazzaglia, A., Librandi, I., Ciambella, L., Vannini, A. & Anselmi, N. 2002a: Indagini sui periodi di infezioni endofitiche di *Biscogniauxia mediterranea* su quercia. – *Proc. Congr. "L'endofitismo di funghi e batteri patogeni in piante arboree e arbustive"*. Sassari-Tempio Pausania, 19-21 maggio 2002: 293-301.
- Mazzaglia, A., Librandi, I., Granata, G., Colasanti, V. & Anselmi, N. 2002b: Incidenza di *Biscogniauxia nummularia* (Bull.:Fr.) O. Kuntze in fase endofitica su faggio in boschi colpiti e non da deperimento. – *Proc. Congr. "L'endofitismo di funghi e batteri patogeni in piante arboree e arbustive"*. Sassari-Tempio Pausania, 19-21 maggio 2002: 61-72.
- Petrini, O. & Fisher, P.J. 1990: Occurrence of fungal endophytes in twigs of *Salix fragilis* and *Quercus robur*. – *Mycol. Res.* 94 (8): 1077-1080.
- Ragazzi, A., Moricca, S., Capretti, P. & Dellavalle, I. 1999: Endophytic presence of *Discula quercina* on declining *Quercus cerris*. – *J. Phytopathology* 147: 437-440.
- Ragazzi, A., Moricca, S., Capretti, P., Dellavalle, I., Turco, E. & Marianelli, L. 2002: Endofiti fungini di *Quercus cerris*: frequenza temporale di isolamento in piante asintomatiche. – *Proc. Congr. "L'endofitismo di funghi e batteri patogeni in piante arboree e arbustive"*. Sassari-Tempio Pausania, 19-21 maggio 2002: 269-282.
- Ragazzi, A., Moricca, S., Capretti, P., Dellavalle, I. & Turco, E. 2003: Differences in composition of endophytic mycobiota in twigs and leaves of healthy and declining *Quercus* species in Italy. – *For. Path.* 33: 31-38.
- Sieber, T.N. 1989: Endophytic fungi in twigs of healthy and diseased Norway spruce and white fir. – *Mycol. Res.* 92 (3): 322-326.
- Suryanarayanan, T.S., Murali, T.S. & Venkatesan, G., 2002: Occurrence and distribution of fungal endophytes in tropical forests across a rainfall gradient. – *Can. J. Bot.* 80: 818-826.
- Tan, R.X. & Zou, W.X. 2001: Endophytes: a rich source of functional metabolite. – *Nat. Prod. Rep.* 18: 448-459.
- Wilson, D. 1995: Endophyte – the evolution of a term, and clarification of its use and definition. – *Oikos* 73 (2): 274-276.

Epidemiological aspects of *Biscogniauxia mediterranea* in declining cork oak forest in Sardinia (Italy)

Benedetto Teodoro Linaldeddu¹, Antonio Franceschini¹, Maria Antonia Pulina²

¹ Dipartimento di Protezione delle Piante, Sezione di Patologia vegetale, Università degli Studi di Sassari, Via E. De Nicola, 07100 Sassari, Italy

² Dipartimento di Ingegneria del Territorio, Sez. Geopedologia, Università degli Studi di Sassari, Via E. De Nicola, 07100 Sassari, Italy

Abstract: *Biscogniauxia mediterranea* is one of the most important fungal pathogens involved in oak decline in the Mediterranean countries. In Sardinia, it has been found as endophyte in several tree and bush species of the Mediterranean maquis, and in particular on *Quercus suber*. This work reports the results of studies made in a declining cork oak forest in North Sardinia in order to establish the most favourable period and the optimal climatic conditions for the endophytic infections of *B. mediterranea*. This fungus is capable of infecting all of the plant organs throughout the whole year, although its highest frequencies were found in wetter winter periods. On the contrary, in spring and summer, when rainfall was limited or absent, the frequency was lower, even though the higher temperatures should have encouraged its growth. Indeed, the results of in vitro tests have shown that *B. mediterranea* is a mesophilic fungus, with marked eurythermal properties. It can grow even at temperatures near to 40°C and its ascospores can germinate at over 35°C.

Key words: cork oak, decline, epidemiology, endophytic incidence, *Biscogniauxia mediterranea*

Introduction

Biscogniauxia mediterranea (De Not.) O. Kuntze is an endophytic fungus widespread in the Mediterranean region, most commonly in *Quercus* spp. It plays a very important role in the aetiology of serious decline phenomena, which have been affecting the cork oak forest in Italy and other Mediterranean countries for several years (Oliva & Molinas de Ferrer, 1984; Capretti & Mugnai, 1987; Santos, 1995; Bakry & Abourouh, 1996; Anselmi et al. 2000; Franceschini et al., 2000; Ragazzi et al., 2000a). This fungus can survive as an endophyte in all aerial organs of the oak plants, as well as being able to act as an opportunistic pathogen when the oaks suffer prolonged stress periods. The infection causes the drying up of the woody organs and the appearance of lesions commonly called “charcoal cankers” (Fig. 1a). Their dimensions increase following bark laceration which is caused by growing pressure from the blackish stroma formed by the fungus present in colonised cortical tissues. In this stroma the sexual reproductive organs are clearly differentiated and, in particular in cork oaks (Bakry & Abourouh, 1996; Franceschini et al., 2002), also the agamic ones. These are represented by conidiophores and conidia *Nodulisporium*-like (Fig. 1b). Ascospore release may occur in all seasons (Vannini et al., 1996), while conidia are usually released at the end of the summer (Franceschini et al., 2002).

Until now many studies on *B. mediterranea* in Italy aimed at evaluating its endophytic presence in several *Quercus* spp. and Mediterranean maquis species, defining its distribution area and analyzing its morpho-biological, ecological, pathogenic and bio-molecular characteristics (Ragazzi et al., 2000b; Franceschini & Marras, 2002; Turco et al., 2004).

However, only a few studies investigated the epidemiological role of this fungus in declining oak stands (Vannini et al., 1996; Mazzaglia et al., 2002).

For this reason, and also taking into considerations the high expression specificity of *B. mediterranea* on cork oak, it appeared appropriate to carry out a research in a declining cork oak stand, in order to define the dynamics of the endophytic infection in various plant organs with reference to climatic conditions. This note reports the results of this research, and also those of laboratory trials undertaken to establish the optimal temperatures for mycelial growth and ascospore germination of this fungus.



Figure 1. Symptoms of *Biscogniauxia mediterranea* on cork oak: a) “charcoal canker” on branch; b) particular of a subcortical stroma covered by abundant conidial fructification

Materials and methods

The research was carried out in a declining cork oak stand in North Sardinia near Bortigiadas (Sassari). The cork oak trees were randomly distributed and mixed with a few holm oaks plants. The undergrowth was relatively thick and consisted of typical species of Mediterranean maquis.

A weather station was installed in the wood (mod. ST 2000-AK supplied by Lombard & Marozzini, Rome) with sensors for temperature, relative humidity, wind speed, precipitation, and incidence of solar radiation, and a data collection system.

Experimental design

From October 2002 to September 2003, samples were taken every month from 20 two-year-old cork oak saplings grown in plastic-bags in a nursery of the Sardinian Forestry Service. Five saplings were transferred to a climatic cell in the same nursery and used as a control group. The other 15 were exposed for one month to natural inoculation pressure of *B. mediterranea* in the cork oak stand. After exposure the plants were transferred to the climatic cell for two months before being used, together with the control group to isolate endophytic fungi.

For this purpose 5 leaves, 5 buds, 5 samples of the taproot, and as many as of the stem (at a distance of 3 cm apart) were taken. The samples were sterilized by immersion for 15 minutes in oxygenated water at 10%, then dipped 5 times in sterile distilled water, and then dried in sterile filter paper. A 3 mm² fragment of each sample was then taken and placed in a Petri dish containing a medium of potato-dextrose-agar (PDA) added with 0.06 g/l of streptomycin. All the dishes were incubated at 25°C, in the dark. The fungal colonies developed in each dish after 3 to 5 days of incubation were then transplanted on PDA and kept in the same conditions for 20 days, or until their characteristics were sufficient to identify them.

The monthly infection rate of *B. mediterranea* per plant and per organ examined was calculated considering each isolated colony as an infection. Analysis of variance (ANOVA) of the data was performed, after linear transformation in $y = (x+1)$, using Statgraphics Plus version 3.1 software. Statistical significance was determined using Duncan's multiple range test ($p=0.05$).

Regression analysis was used to study the relationship between the monthly values of the environmental factors: precipitation, relative humidity, number of rainy days, incidence of solar radiation, temperature and wind speed (independent variable x), and number of endophytic infections of *B. mediterranea* (dependent variable y) using the following regression model: $y = \alpha + \beta x$, where α and β are the regression parameters. Analysis was performed using Analyse-it from Microsoft Excel General & Clinical Laboratory modules Version 1.71 software.

***In vitro* growth and germination conditions**

The growth tests were performed taking 5 mm diameter disks from the margins of 4 day-old monoascosporic fungal cultures, and positioning them in the centre of 12 cm Petri dishes containing PDA (Fluka), with a pH of 5.4 ± 0.2 . The Petri dishes were then incubated in thermostat at temperatures ranging from 5 and 45°C, with intervals of 5°C. Measurements of diameter growth were taken every 24 hours during the first three days of incubation.

The germination tests were carried out using ascospore suspensions from perithecia taken from fresh stromata on cork oak branches. The perithecia were crushed with a suitable pestle inside sterile eppendorf containing 200 µl of sterile water, and centrifuged to favour the ascospore dispersion. A few drops of the obtained suspension, containing about 6×10^5 spores/ml, were spread on PDA and incubated at temperatures ranging from 5°C and 45°C, with intervals of 5°C. The percentage of ascospores germinated was evaluated after 4, 12 and 36 hours. All the trials were repeated three times.

Results

Thirty-six species of fungi were found among the 4.800 fragments processed. Of these, 23 species were found in both the control group and saplings transferred to the wood; while 13 species were isolated only in those transferred to the wood (Tab. 1). Only in saplings exposed in the wood, the endophytic community included the main pathogenic species involved in oak decline. Among these *B. mediterranea* was the dominant taxon.

The infections of *B. mediterranea* occurred throughout the year, with a higher incidence in December and January (Tab. 2). All the examined organs were infected: in the leaves, buds, and stems, the infections were found throughout most of the year, whereas in the roots, only in two autumn months and in January. The highest rate of *B. mediterranea* infection occurred during the rainy months (Fig. 2), as confirmed by the highly significant and positive relationship between the number of endophytic infection and the monthly precipitation

(Tab. 3). In addition, the data in table 3 show that infection is encouraged by an high degree of humidity and the number of rainy days, while it appears to be inhibited by increased solar radiation incidence.

Table 1. Fungal species isolated from *Quercus suber* saplings

<i>Alternaria alternata</i>	<i>*Pleurophoma cava</i>
<i>*Aspergillus</i> sp.	<i>Penicillium purpurogenum</i>
<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Penicillium</i> sp.1
<i>*Bionectria solani</i>	<i>*Penicillium</i> sp. 2
<i>*Biscogniauxia mediterranea</i>	<i>Pestalotia</i> sp.
<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Seimatosporium glandigenum</i>
<i>Cladosporium</i> sp.	<i>*Sordaria fimicola</i>
<i>Coryneum depressum</i>	<i>*Sporormiella minima</i>
<i>*Cryphonectria parasitica</i>	<i>Stereum gausapatum</i>
<i>Cytospora</i> sp.	<i>Trichoderma harzianum</i>
<i>*Dictyochaeta parva</i>	<i>Ascomycete</i> n.d.
<i>*Diplodia corticola</i>	<i>Celomyces</i> (2) n.d.
<i>*Discula quercina</i>	<i>*Mycelia sterilia</i> (2)
<i>Epicoccum nigrum</i>	<i>Mycelia sterilia</i> (4)
<i>Myrioconium</i> sp.	Yeast like n.d.
<i>Phomopsis quercina</i>	

* Species isolated only in saplings exposed in the wood ; n.d. = not identified

Table 2. Number of monthly endophytic infections of *Biscogniauxia mediterranea* in different organs of *Quercus suber* saplings (data are expressed as mean $\pm$ SE)

Months	Organs				Total
	Leaves	Buds	Stems	Roots	
2002 Oct	0.1 $\pm$ 0.1 a*	0.3 $\pm$ 0.3 a	0.1 $\pm$ 0.1 a	0.1 $\pm$ 0.1 a	0.7 $\pm$ 0.4 ab
Nov	0.3 $\pm$ 0.2 a	0.6 $\pm$ 0.3 a	0.6 $\pm$ 0.2 a	0.1 $\pm$ 0.1 a	1.7 $\pm$ 0.5 bc
Dec	0.6 $\pm$ 0.2 ab	1.1 $\pm$ 0.4 b	0.4 $\pm$ 0.2 a	-	2.1 $\pm$ 0.4 cd
2003 Jan	0.6 $\pm$ 0.2 ab	1.1 $\pm$ 0.2 b	0.8 $\pm$ 0.2 b	0.2 $\pm$ 0.1 a	2.7 $\pm$ 0.5 d
Feb	-	0.8 $\pm$ 0.2 b	0.3 $\pm$ 0.1 a	-	1.1 $\pm$ 0.2 ab
Mar	0.4 $\pm$ 0.1 a	0.5 $\pm$ 0.2 ab	0.8 $\pm$ 0.3 b	-	1.7 $\pm$ 0.3 bc
Apr	0.1 $\pm$ 0.1 a	0.2 $\pm$ 0.1 a	0.3 $\pm$ 0.1 a	-	0.6 $\pm$ 0.1 a
May	0.4 $\pm$ 0.2 a	0.1 $\pm$ 0.1 a	0.2 $\pm$ 0.1 a	-	0.7 $\pm$ 0.2 ab
Jun	0.6 $\pm$ 0.1 b	0.1 $\pm$ 0.1 a	-	-	0.7 $\pm$ 0.2 ab
Jul	0.3 $\pm$ 0.2 a	0.3 $\pm$ 0.1 a	0.1 $\pm$ 0.1 a	-	0.7 $\pm$ 0.2 ab
Aug	0.1 $\pm$ 0.1 a	0.1 $\pm$ 0.1 a	0.1 $\pm$ 0.1 a	-	0.3 $\pm$ 0.2 a
Sep	0.4 $\pm$ 0.1 ab	0.8 $\pm$ 0.2 b	0.1 $\pm$ 0.1 a	-	1.3 $\pm$ 0.2 abc

* Values marked with different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p=0.05$). Relative values for each organ should be read and compared horizontally; while monthly totals should be read and compared vertically

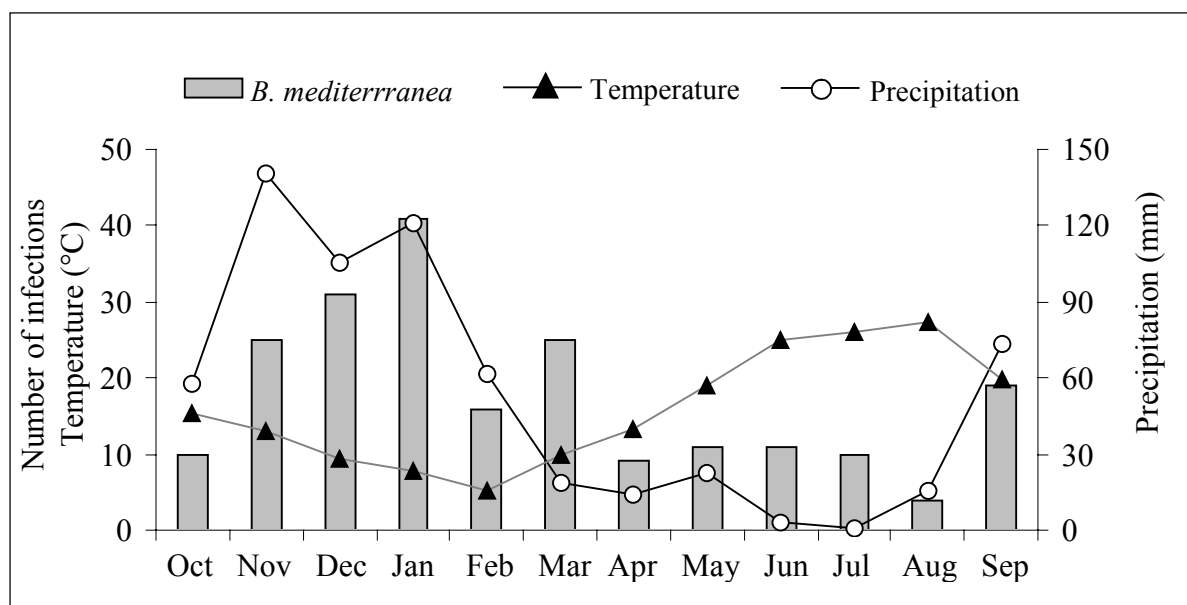


Figure 2. Number of *Biscogniauxia mediterranea* infections in *Quercus suber* samplings, and average monthly temperatures and total precipitation

Table 3. Regressions between values of environmental factors (x), and number of endophytic infections of *Biscogniauxia mediterranea* (y)

Environmental factors	Regression model	R ² ^a	r ^b	P ^c
Wind speed (m/s)	$y = 19.20 - 1.64 x$	0.0007	- 0.03	0.930 ^{ns}
Temperature (°C)	$y = 33.20 - 0.97 x$	0.45	- 0.68	0.016
Incidence solar radiation (Kw/mq)	$y = 33.25 - 4.32 x$	0.56	- 0.75	0.005
N° rain days	$y = 7.73 + 1.86 x$	0.48	0.69	0.012
Relative humidity (%)	$y = -23.19 + 0.61 x$	0.53	0.73	0.007
Precipitation (mm)	$y = 8.56 + 0.17 x$	0.59	0.77	0.001

^a Determination coefficient of regression; ^b Pearson coefficient; ^c Significance level of regression, ^{ns} Not significant

There was no correlation between wind speed and number of infections, which demonstrates that the ascospores have a limited capacity to spread by air. A negative co-relationship between temperature and number of infections was also found. This is not surprising considering that in spring and summer, when the temperatures are most favourable to the spread of infection; there is also a marked reduction in rainfall. In this respect, the results of in vitro test showed that the optimal temperatures for growth of the mycelium and germination of the ascospores were, respectively, 30 and 35°C (Fig. 3). The fungus survives, even without any growing, also at temperatures as extreme as 5°C and 45°C. In more detail, at temperatures between 5°C and 15°C as those present in the woods, when the greatest number of infections is present, the mycelium grows, albeit slowly, and the ascospores can germinate. Thus, *B. mediterranea* can develop and cause infections over a very wide temperature range, although it is basically a mesophilic fungus.

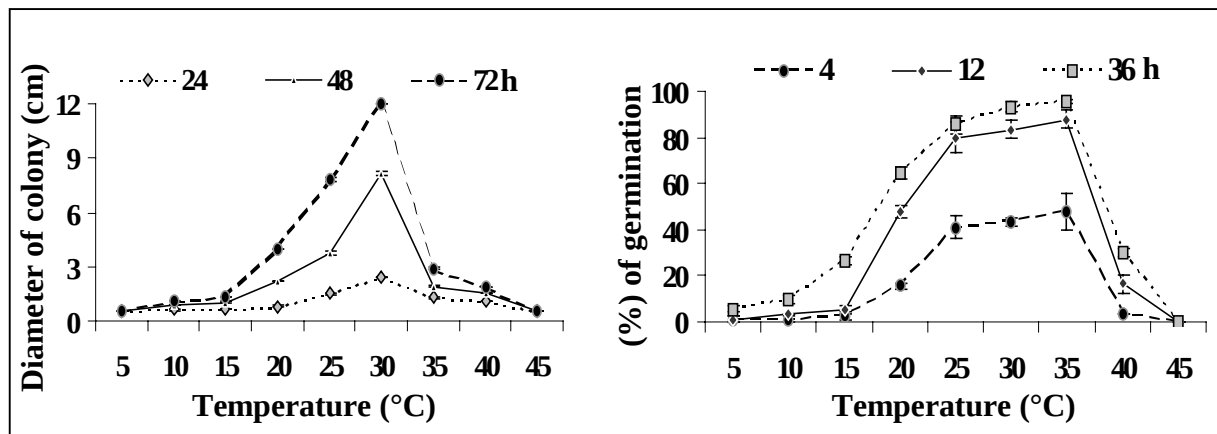


Figure 3. Influence of the temperature on the mycelium development (left) and on germination of the ascospores (right) of *Biscogniauxia mediterranea* (data are expressed as mean $\pm$ SE)

Discussion

The results of this research clarified some important epidemiological aspects of *B. mediterranea* in a declining cork oak stand in Sardinia. In detail, the high infective ability of the fungus was confirmed, according to the findings of Mazzaglia et al. (2002) in comparable experiments with *Q. cerris* saplings in a declining oak stand in Lazio, Italy. In both cases, even though the species were different, the fungus could infect all the aerial organs of the plants and, in particular, the buds. In *Q. suber* the fungus was also found in the roots, although occasionally and with a limited frequency. In the other organs of the cork oaks the infection was found at different levels of intensity during all months of the year. On the contrary, infections were not found in the same organs of *Q. cerris* plants tested in Lazio during the two hottest summer months and in December. This is probably due to the different climatic conditions in the two regions. Nonetheless, our results, like those of the above-mentioned authors and those of Vannini et al. (1996), indicate a close relationship between incidence of endophytic infection and rainfall, and show that the infection can be found at temperatures ranging from 5 to 40°C. This wide temperature range, undoubtedly contributed to the broad diffusion of *B. mediterranea* in Mediterranean climate, where the winter seasons are becoming milder and the rainfall distribution more irregular, even in the hottest seasons. This last factor is of importance in the *B. mediterranea*-*Q. suber* binomial. The cork is extracted from plants in summer, exposing large areas of live trunk tissue, making it particularly susceptible to infection of the fungus.

Thus, it is very important that trunks are treated with suitable fungicides immediately after cork extraction, above all in wet summers. In addition, bearing in mind both the high polyphagy of the fungus and the almost uninterrupted release and diffusion of its spores throughout the whole year, infected plants should be removed and burnt to reduce the potential of inoculum.

Acknowledgements

The work was supported by MURST COFIN "Ruolo di endofiti fungini nel deperimento delle querce".

References

- Anselmi, N., Mazzaglia, A. & Vannini, A. 2000: The role of endophytes in oak decline. – In: “Decline of oak species in Italy. Problems and perspectives”, Ragazzi et al. eds. Accademia Italiana di Scienze Forestali, Firenze: 129-144.
- Bakry, M. & Abourouh, M. 1996: Nouvelles donnees sur le deperissement du chene-liege (*Quercus suber* L.) au Maroc. – Ann. Rech. For. Maroc 29: 24-39.
- Capretti, P. & Mugnai, L. 1987: Dissecamento di Cerro da *Hypoxylon mediterraneum* (De Not.) Mill. – Inform. Fitopatol. 37(6): 39-41.
- Franceschini, A. & Marras, F. (eds.) 2002: Atti del Convegno “L’endofitismo di funghi e batteri patogeni in piante arboree e arbustive”. Sassari-Tempio Pausania, 19-21 maggio 2002. C. Delfino, Sassari, 403 p.
- Franceschini, A., Corda, P. & Maddau, L. 2000: Fungi involved in oak decline. – In: “Decline of oak species in Italy. Problems and perspectives”, Ragazzi et al. eds. Accademia Italiana di Scienze Forestali, Firenze: 99-113.
- Franceschini, A., Maddau, L. & Linaldeddu, B. 2002: Presenza di endofiti fungini coinvolti nel deperimento della quercia da sughero in specie del sottobosco di una sughereta in decadenza. – In: Atti del Convegno “L’endofitismo di funghi e batteri patogeni in piante arboree e arbustive”, Franceschini & Marras eds. Sassari-Tempio Pausania, 19-21 maggio 2002: 147-156.
- Mazzaglia, A., Librandi, I., Ciambella, L., Tannini, A. & Anselmi, N. 2002: Indagini sui periodi di infezioni endofitiche di *Biscogniauxia mediterranea* su quercia. – In: Atti del Convegno “L’endofitismo di funghi e batteri patogeni in piante arboree e arbustive”, Franceschini & Marras eds. Sassari-Tempio Pausania, 19-21 maggio 2002: 293-301.
- Oliva, E. & Molinas de Ferrer, M.L. 1984: Incidencia de *Hypoxylon mediterraneum* en los alcornocales Gerundenses. – Bol. Estac. Centr. Ecol. 13(25): 9-16.
- Ragazzi, A., Moricca, S., Dellavalle, I. & Turco, E. 2000a: Italian expansion of oak decline. – In: “Decline of oak species in Italy. Problems and perspectives”, eds Ragazzi et al. Accademia Italiana di Scienze Forestali, Firenze: 39-75.
- Ragazzi, A., Dellavalle, I., Moricca, S., Capretti, P. & Raddi, P. (eds.) 2000b: Decline of oak species in Italy. Problems and perspectives. – Accademia Italiana di Scienze Forestali, Firenze, 257 p.
- Santos, M.N.S. 1995: Phytopathological situation of cork oak (*Quercus suber* L.) in Portugal. – IOBC/wprs Bull. 18(6): 38-42.
- Turco, E., Fantoni, E., Marianelli, L. 2004: Disseccamenti da *Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) O. Kuntze in un popolamento di *Quercus morisii* L. (Monti Pisani). Interventi di risanamento. – Inform. fitopat. 54 (4): 50-53.
- Vannini, A., Paganini, R. & Anselmi, N. 1996: Factors affecting discharge and germination of ascospores of *Hypoxylon mediterraneum* (De Not.) Mill. – Eur. J. For. Path. 26: 12-24.

Growth of *Biscogniauxia mediterranea* and plant free amino acids: might correlation exist?

Elena Turco¹, I. Lozzi², L. Calamai², L. Marianelli¹, M. Campaioli³, I. Dellavalle⁴,
P. Capretti¹, A. Ragazzi¹

¹ Department of Agricultural Biotechnology, Plant Pathology Section, P.le delle Cascine 28,
50144 Florence, Italy

² Department of Soil and Plant Nutrition, P.le delle Cascine 28, 50144 Florence, Italy

³ Freelance

⁴ Institute of Plant Protection, CNR, via Madonna del Piano, 50019 Sesto Fiorentino, Italy

Abstract: The presence on nutritive basal medium of L-amino acids (alanine, asparagine, glycine, and proline) influenced behaviour of *Biscogniauxia mediterranea*, a facultative nonaggressive parasite frequently isolated from healthy and declining oak trees. Larger colony growth and dry weight of mycelium was observed on asparagine-enriched medium, while limited performance was shown by glycine-enriched medium; in contrast, a variable behaviour of the isolates was reported when alanine and proline were the only nitrogen source. In the attempt to correlate these results to the plant N-metabolism, the composition of free amino acids and their precursors were analyzed in leaves of *Quercus pubescens* and *Q. robur* trees. Largely-variable distribution of individual amino acid concentration and of the aspartic acid/asparagine and glutamic acid/glutamine ratios was observed among healthy and declining oaks. Despite the in vitro results, it was not possible to apply the study to the amino acids as a distinctive marker for a stress condition in plants, especially in forest stands where many factors might influence the nitrogen plant metabolism.

Key words: *Biscogniauxia mediterranea*, amino acids, oak decline.

Introduction

The ascomycetes fungus *Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) O. Kuntze, family Xylariaceae, anamorph *Nodulisporium*-like, the causal agent of “charcoal canker”, is widespread in different broadleaf species, such as *Eucalyptus* spp., *Castanea* spp., *Fagus sylvatica* and *Quercus* spp. The micro-organism is well known as a facultative nonaggressive parasite, whose infection is characterized by dark exudation with a strong tannin odour appearing very soon after its colonization of plant tissues. As trees withstand prolonged water or drought stress and/or are damaged by fire, the pathogen quickly colonises bark and wood tissues; black and oblong perithecia are completely immersed in carbonaceous stromata that erupt from bark. In a single growing season, the whole plant can die (Vannini & Valentini, 1994).

B. mediterranea is frequently isolated from declining oak trees, located in the south of Europe and North Africa; it was reported on *Quercus ilex* L. and *Q. suber* L. in Morocco, Spain and Portugal as well as on *Q. cerris* L. in central Italy (Capretti & Mugnai, 1987; Vannini et al., 1996), on *Q. suber* in Sardinia (Franceschini et al., 1993) and on *Q. morisii* L. in Tuscany (Turco et al., 2004). The micro-organism has been isolated in different host tissue and organs (e.g. buds, twigs and leaves) in an endophytic phase of its life-cycle (Ragazzi et al., 2003); its isolation frequency varies considerably depending on the oak species, age and position in the stand, the organ sampled, the ecological site, and the sampling period (e.g.

season, years). In close association with host tissue and other organisms, *B. mediterranea* is able to survive in a latent phase without producing external symptoms.

Which and how many factors permit the organisms to overcome the parasitic phase and become pathogens, as soon as the plant weakens, are still not clear. Genetic variation in the host combined to pedo-climatic conditions may influence the susceptibility of trees, highly variable among the genus and species; *Q. cerris* shows lower resistance to *B. mediterranea* due to its high water requirements. On the other hand, changes in plant susceptibility to disease can be observed as the results of a change in the nutrition of the host. The nitrogen supply of the host plant has been known to exert a considerable effect on both host and pathogen (van Andel, 1966).

The amino acids, topics of this paper, can stimulate or inhibit fungal parasitic development; when their balance in host tissues is switched from normal; changes in nutritional conditions for the fungus might result.

To determine possible cause-effect relationships, in vivo growth of *B. mediterranea* on L-amino acids sources and the composition of free amino acids and their precursors in leaves of *Q. pubescens* Willd. and *Q. robur* L. trees were investigated.

Material and methods

Growth of *B. mediterranea*

Eleven single ascospore isolates of *B. mediterranea* were each obtained at random from cankers on branches of 11 out of 30 *Q. cerris* trees, in a 20-year-old natural stand located in Ulgiano (Pisa, Tuscany). Ascospore discharge, from the perithecial stromata, was obtained by placing pieces of stroma on the lid of Petri dishes containing potato-dextrose-agar medium (PDA) supplemented with 0.06 g/l of streptomycin to avoid bacterial contamination, and maintained in the dark at 20°C. The dishes were examined at 64 x magnification and well separated single ascospores were picked and transferred to a PDA medium. A number-letter-number code was used to identify each single ascospore isolate, as follows: the first number indicated the isolate, the C letter for *Q. cerris* and the second number was referred to the randomly selected plant from the stand.

Colony radial growth rate and dry weight of mycelium of all the ascospore isolates were determined on a basal medium containing glucose 28 mM, MgSO₄ 2 mM, CaCl₂ 0.9 mM supplemented with micro-, macro-elements, thiamine and biotin; stock solutions of asparagine, proline, alanine and glycine, all L-amino acids, were prepared at 24 mM nitrogen equivalents, as reported by Griffin et al. (1986); 20 g/l of agar-agar were added to the media. The basal medium, the single amino acid solution and the remainder of the ingredients were autoclaved separately to avoid caramelization reactions of the elements and to prevent the phosphate precipitation.

To test the colony growth rate, a 6 mm-diameter plug cut from 7-day-old colony, for each ascospore isolate, was transferred on the experimental Petri dishes. Five plates for each single ascospore isolates and amino acid source were measured. As control, the radial growth was taken from colony growing on PDA and on basal medium without any nitrogen source. The plates were incubated in the dark at 20°C; the colony growth was measured taking the two major diameters at intervals of 24 hours.

To evaluate the dry weight of mycelium, three 6 mm-diameter plugs of 7-day-old colony of *B. mediterranea*, taken from the colony edge, were added in a flask containing 50 ml of each medium prepared as above, incubated in shake culture at 20°C for 7 days, in the dark. The contents of each flask were hence filtered through a Whatman-1 filter paper and oven-dried at 70°C for 36 hours; the dry weight of mycelium was considered. The control test was

represented by mycelium growth on potato-dextrose broth (PDB) and on basal medium without the amino acid source, as reported above. Five replicates for each single ascospore isolates and amino acid combinations were considered.

All the experiments were conducted threefold to confirm the results.

Plant free amino acids composition

Leaves from healthy and declining oak trees (*Q. pubescens* and *Q. robur*) were sampled in 2002 and immediately stored at -20°C ; two sampling dates (April and October) and sites (Ulgiano and Parco San Rossore, Pisa, Tuscany) were considered. Free amino acids were extracted and purified from leaf specimens by liquid nitrogen grinding according to the methodology reported by Griffin et al. (1991). Two gram aliquots of samples were used, instead of the 0.5 g recommended by the original method, to account for the presumed smaller amounts of free AA present in our samples. The samples were then adsorbed on 3 cm columns of Dowex 50 W x 8, 100-200 mesh, H form, prepared in 60% methanol. The sample was applied, washed with four volumes of 60% methanol, and then eluted with 6N NH_4OH in 60% methanol. The second 1 ml fraction containing the amino ethanol/water/triethylamine/phenylisothiocyanate was detected according to the method reported by Bidlingmeyer et al. (1984). The derivatized amino acids were then separated and quantified by HPLC using a Perkin Elmer diode array detector at 230 nm (Sarwar & Botting, 1990). Calibration curves were constructed with a solution mix of pure AA of known concentration. All solvents were Ultra gradient HPLC grade (J.T. Baker, Holland). Ultra high quality water (UHQ) at 18 Mohms, obtained with an Elgastat equipment (Micromeg, England), was used for HPLC mobile phase and thorough the experiments.

Data analysis

Analysis of variance of all data from the in vitro experiments and from analysis of plant free amino acids were performed using the GLM procedure of the Systat (Systat Software Inc., version 10, Richmond, CA, USA); logarithmic transformation of data was done to meet differences between the two variables (ascospore isolates, media) and their interaction on growth of *B. mediterranea*.

Results and discussion

Growth of B. mediterranea

When the effect of the amino acids sources was tested on radial colony growth of *B. mediterranea*, a wide variation on each single ascospore isolate was observed ($p \leq 0.01$). Host age and position in the stand can affect the typology of the pathogen probably as the result of a genetic heterogeneity among the population. Optimum hyphal growth was obtained on asparagine-enriched medium; although the lowest colony radial growth was reported on glycine as amino acid source, alanine, proline and glycine gave no statistically significant performances (Tab. 1). Griffin et al. (1986) focusing on the role of 6 amino acids on regulation of hyphal growth rate of *Hypoxylon mammatum*, found that the radial growth rates were largely and positively influenced by proline and, to half extent, by asparagine.

Colony growth on liquid medium, enriched with the four amino acids, showed a widely variable response for the 11 isolates of *B. mediterranea*. When the mycelium was grown on glycine-enriched medium, a mean value significantly lower than that of the basal medium was observed ($p \leq 0.01$), as reported in table 2. The best performance was observed on PDB, showing values at least threefold higher than those recorded for the basal medium enriched with each of the L-amino acids tested. Stimulation of growth rate of *B. mediterranea* could not be detected on liquid culture, probably due to the effect of oxygen on the colony surface.

Table 1. Colony radial growth value (mm average from 24 to 168 hours $\pm$ 1.298 S.E.) of a random sample of single ascospore isolates from cankers of oak trees on PDA and basal medium supplemented with amino acids at 24 mM nitrogen equivalents

ISOLATES	PDA	BASAL MEDIUM	ALANINE	ASPARAGINE	GLYCINE	PROLINE
1-C-12	39.09	22.17	18.73	26.33	20.19	18.86
2-C-7	68.71	49.70	50.76	62.03	42.66	55.95
3-C-1	31.85	17.15	12.90	19.12	15.08	15.41
4-C-9	68.68	48.54	44.57	61.28	50.50	48.87
5-C-21	55.44	21.47	19.32	31.66	20.85	22.9
6-C-24	64.31	51.11	50.25	62.90	36.26	52.46
7-C-14	71.81	58.27	59.74	66.63	55.26	62.36
8-C-5	51.00	20.63	19.75	28.17	17.97	18.79
9-C-18	66.39	48.56	14.99	54.69	23.03	60.97
10-C-22	30.33	13.06	10.58	19.13	9.65	13.52
11-C-29	65.19	47.31	47.9	62.97	38.43	52.29
Mean	55.7	36.2	31.8 NS	44.9	29.9 NS	38.4 NS

NS indicates a mean value not significantly different from that of the basal medium

Free AA composition

Large variations in AA composition of fresh leaves were observed depending on the sampling date, provenance and oak species considered regardless of their health state (data not shown). However, when samples of the same species (*Q. robur*) sampling date and site were compared (Tab. 3), higher concentrations of free AA were generally found. The mean concentration of either the total AA concentration or the individual AA considered in this study were higher for declining trees (Fig.1) in comparison with the healthy ones, even if large variations still exist among samples. A 2-to-7-fold concentration for arginine, leucine, isoleucine and tryptophan was observed in declining than in healthy trees, while total AA concentration was 3-times higher in declining than in healthy trees. Largely-variable distribution of the aspartic acid/asparagine and glutamic acid/glutamine ratios was observed among healthy and declining oaks as showed in table 4. Lansac et al. (1994) reported a variable concentration of proline in leaves of Mediterranean shrub and tree species, depending on sampling date, species and leaf size considered; the values were also strictly correlated to the leaf water potential changes. Otherwise, few authors indicated that although a significantly increasing concentration of proline was observed under water stress, this amino acid could not play a role in osmotic adjustment (Irigoyen et al., 1992; Sánchez et al., 1998). The role of this and other amino acids as stress indicators is not really clear; many factors may influence their concentration in leaves and green tissues of plant.

The data here reported indicate that for the “in situ studies” of amino acids in forest stands, a large variability exists, depending on pedo-climatic conditions, age of trees, leaf position on crown and, finally, on genetic variability of trees. Fungal pathogens and/or endophytic population composition in a tree can influence one or more biochemical pathways; or, alternatively, the plant can adapt itself to constrain the infection process.

Table 2. Dry weight of mycelium ($\text{mg} \pm 5.629 \text{ S.E.}$) of a random sample of single ascospore isolates from cankers of oak trees on PDB and basal medium supplemented with amino acids at 24 mM nitrogen equivalents

ISOLATES	PDB	BASAL MEDIUM	ALANINE	ASPARAGINE	GLYCINE	PROLINE
1-C-12	215.6	56.4	99.4	77.4	57.8	68.2
2-C-7	126	58.4	99.4	42.2	21.4	30
3-C-1	64.2	19.4	29.8	30.4	20.4	25.2
4-C-9	144.8	58.6	46	44.2	18.6	24.4
5-C-21	101.6	29	29	33.6	20.2	26.8
6-C-24	152.2	15	19	48.2	23.4	28.2
7-C-14	168.4	36.4	51.8	38.6	26.8	31.8
8-C-5	50.2	16	25.4	23.4	16	24.8
9-C-18	161.6	41.4	47.4	48.6	25.8	25.6
10-C-22	191.4	17.2	38.6	48.2	19	40.4
11-C-29	139.8	61.6	22.4	37	20	24
Mean	137.8	39.7	46.2 NS	42.9 NS	24.5	31.8 NS

NS indicates a mean value not significantly different from that of the basal medium

Table 3. Free amino acids composition in leaf samples of healthy (H) and declining (D) *Quercus robur* trees sampled in October 2002. The concentration is reported as μg of each AA/ g^{-1} of fresh leaves

	ASP	GLU	ASN	GLN	ARG	ALA	PRO	LEU	ILE	TRP	TOTAL
H	3.04	5.23	1.57	1.55	1.53	7.50	2.44	0.00	0.00	0.00	35.60
H	0.79	1.93	0.83	0.60	0.46	0.49	1.14	0.59	0.56	2.18	9.56
H	3.01	6.36	3.76	1.49	3.61	9.33	2.47	1.39	1.25	2.95	35.60
H	1.25	3.40	2.03	2.86	3.21	17.26	1.59	0.00	1.05	7.23	39.88
H	3.66	6.63	1.50	3.83	16.92	10.20	1.17	0.00	1.59	2.35	47.85
D	2.18	5.84	2.42	2.46	2.58	7.99	1.49	1.46	1.39	4.26	32.08
D	5.17	6.83	1.98	3.46	51.99	20.43	1.60	0.05	0.00	1.72	93.24
D	1.80	2.92	1.19	2.08	3.97	8.98	1.2	0.00	21.37	23.07	66.58
D	3.92	6.55	4.83	6.01	71.66	17.68	1.65	15.71	7.11	20.97	156.08
D	5.07	5.38	2.84	1.81	30.14	14.95	1.35	3.17	0.00	15.66	80.37

In our study, 2002 was a year characterized by variable climatic conditions with high summer rainfall; the data analyzed from the October sampling probably reflect an earlier senescence status of the oak trees due to an excess of soil water than a real water stress. Under these conditions, the nitrogen plant metabolism in the healthy trees seems to be switched on

the AA precursors (aspartic acid and glutamic acid) than on their final products (asparagine and glutamine); many reasons can explain this. Firstly, the final products can be better utilized by micro-organisms for their growth; secondly, the plant under stress conditions may switch its nitrogen metabolism to other pathways not really involved in the accumulation and/or amino acid synthesis; thirdly, the nitrogen metabolism doesn't work well.

Despite the *in vitro* results showing a significant effect of the amino acid fonts on the mycelium growth of *B. mediterranea*, it was not possible to use the amino acids as stress indicators in forest plants. A suitable sampling design should be developed to separate the sources of variability at statistical level, especially when studying oak decline, a complex disease where many factors interact.

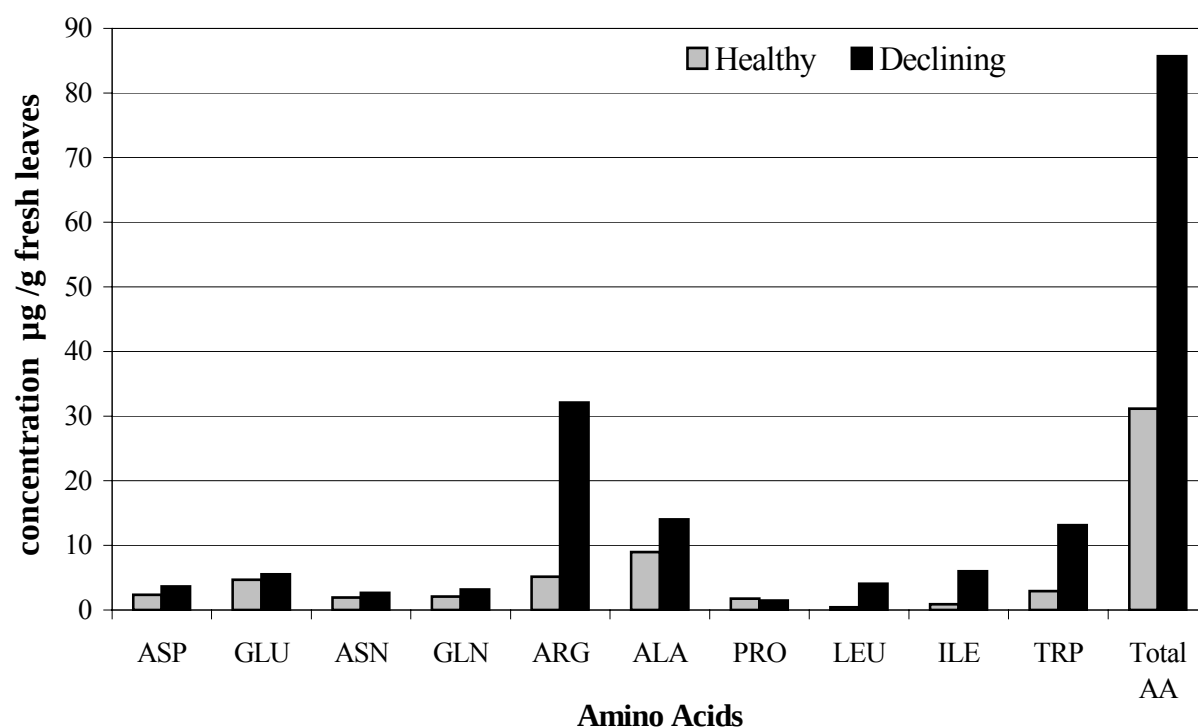


Figure 1. Mean value of free amino acids composition in leaf samples of healthy and declining *Quercus robur* trees collected on October 2002. The concentration is reported as µg of each AA g⁻¹ of fresh leaves.

Table 4. Aspartic acid/asparagine and glutamic acid/glutamine ratios in leaf samples of healthy and declining *Quercus robur* trees collected on October 2002

	ASP/ASN	GLU/GLN
Healthy	1,35	2,76
Declining	1,52	1,96

References

- Bidlingmeyer, B.A., Cohen, S.A. & Tarvin, T.L. 1984: Rapid analysis of amino acids using pre-column derivatization. – J. Chrom. 336: 93-104.
- Capretti, P. & Mugnai, L. 1987: Disseccamenti di cerro da *Hypoxylon mediterraneum* (De Not.) Mill. – Infor. Fitopatol. 37: 39-41.
- Griffin, D. H., Quinn, K. & McMillen, B. 1986: Regulation of hyphal growth rate of *Hypoxylon mammatum* by amino acids: stimulation by proline. – Exp. Mycology 10: 307-314.
- Griffin, D.H., Schaedle, M., Manion, P.D. & DeVit, M. 1991: Clonal variation in amino acid content of roots, stems, and leaves of aspen (*Populus tremuloides* Michx.) as influenced by diurnal drought stress. – Tree Physiology 8: 337-350.
- Franceschini, A., Marras, F. & Sechi, C. 1993: Funghi segnalati sulla quercia da sughera (*Quercus suber* L.). – Collana Biologica n.3, Stazione Sperimentale del Sughero, Tempio Pausania (SS), Stampacolor, Sassari: 136 p.
- Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. & Sánchez-Díaz, M. 1992: Water stress induced changes in concentrations of proline and total sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. – Physiol. Plantarum 84: 55-60.
- Lansac, A.R., Zaballos, J.P. & Martin, A. 1994: Seasonal water potential changes and proline accumulation in mediterranean shrubland species. – Vegetatio 113: 141-154.
- Ragazzi, A., Moricca, S., Capretti, P., Dellavalle, I. & Turco, E. 2003: Differences in composition of endophytic mycobiota in twigs and leaves of healthy and declining *Quercus* species in Italy. – For. Path. 33: 31-38.
- Sánchez, F.J., Manzanares M., de Andrei, E.F., Tenorio, J.L. & Acerbe, L. 1998: Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. – Field Crop Res. 59: 225-235.
- Sarwar, G. & Botting, H.G. 1990: Rapid analysis of nutritionally important free amino acids in serum and organs (liver, brain, and heart) by liquid chromatography of precolumn phenylisothiocyanate derivatives. – J. Ass. off. Analyt. Chem. 73: 470-475.
- Turco, E., Fantoni, E. & Marianelli, L. 2004: Disseccamenti da *Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) O. Kuntze in un popolamento di *Quercus morisii* L. (Monti Pisani). Interventi di risanamento. – Infor. Fitopatol. 54: 50-53.
- Vannini, A. & Valentini, R. 1994: Influence of water relations in *Quercus cerris* – *Hypoxylon mediterraneum* interaction: a model of drought induced susceptibility to a weakness parasite. – Tree Physiol. 14: 129-139.
- Vannini, A., Valentini, R. & Luisi, N. 1996: Impact of climatic changes and secondary stress factors on oak decline: effect of drought and *Hypoxylon mediterraneum* in Mediterranean region. – Ann. For. Science 53: 72-81.
- Van Andel, O. M. 1966: Amino acids and plant diseases. – Ann. Rev. Phytopath. 4: 349-368.

Antagonism of endophytic fungi of *Quercus* towards *Biscogniauxia mediterranea*

Angelo Mazzaglia, Naldo Anselmi, Marco Nasini

Department of Plant Protection, University of Tuscia. Via S. Camillo de Lellis snc. 01100, Viterbo, Italy

Abstract: In the complex of fungi isolated from healthy tissues of *Quercus* trees, some are known pathogens (many are “weakness pathogens”) and others belong to genera in which some species are reported as antagonists. A preliminary investigation was attempted on the potential role of the antagonist fungi against *Biscogniauxia mediterranea*, the main pathogenic endophyte involved in oak decline in Mediterranean countries. The capability of seven fungal endophytes to inhibit the in vitro growth of this pathogen was assessed. *Trichoderma* sp. seems to be the most effective against *B. mediterranea*.

Key words: endophytism, antagonism, oak decline, *Biscogniauxia mediterranea*

Introduction

Various fungal species, both potentially pathogenic or not, can be detected in different tree tissues as endophytes (Petrini, 1996). On *Quercus* trees, it was demonstrated that many such endophytes are “weakness pathogens” involved in oak decline (Franceschini & Marras, 2002; Ragazzi et al., 2000). They mainly cause bark necrosis and, among them, *Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) Kuntze seems to be the most dangerous in Mediterranean areas.

On the other hand, many other endophytes isolated from oak tissues are not pathogenic; furthermore, some belong to genera that include species known as antagonists of fungal parasites (Harman et al., 2004). However, the interactions among the complex of fungal endophytes inside plant tissues are not still documented.

In order to investigate the occurrence of antagonism among the different fungi living endophytically inside the same tissue, proper dual culture experiments with different potential antagonists vs. *B. mediterranea* were carried out.

Material and methods

Three strains each of *Acremonium* sp., *Aureobasidium pullulans* (De Bary) Arnaud, *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Vries, *Epicoccum nigrum* Link, *Gliocladium roseum* Bain., *Trichoderma viride* Pers. and *Verticillium* sp. were randomly selected. All these strains were isolated from healthy tissues of *Quercus cerris* L. in which *B. mediterranea* was also retrieved. Three strains of *B. mediterranea* from different geographical origin were evaluated in each comparison with dual culturing.

The tests were carried out in Petri dishes (9 cm ø) on PDA. In each dual culture, two plugs (0.5 cm ø) of agar colonised by the isolates were inoculated at 1.5 cm from the edge of the plate (at 6 cm between the two inoculum points) and then maintained at 20°C in the dark.

The daily growth of both fungi along three orthogonal directions was recorded and compared with that of single control cultures. The data obtained were statistically analysed.

Due to the high growth rate of *B. mediterranea*, besides simultaneous inoculation, its inoculation on culture plates four days after the potential antagonist was also attempted.

Results

All the 3 strains of *B. mediterranea* revealed a noticeable vigour and an impressive growth rate, in comparison with the chosen “antagonists”, except only *Trichoderma* strains that showed comparable features. This is a great advantage for an endophytic life strategy, leading to a quick colonisation of those tissues not yet invaded by any other organism.

In fact, the strains of both *A. pullulans* and *C. cladosporioides* did not show any kind of inhibition, at least during 10 days of observation; however, after this period, the mycelium of the pathogen had completely colonised the plate submerging the antagonist.

Acremonium sp. strains showed a limiting effect against *B. mediterranea* only after the two mycelia were in contact; the two colonies remained well distinct from each other.

E. nigrum and *Verticillium* strains are able to reduce the growth of *B. mediterranea* colony before the contact between mycelia, as confirmed also by statistical analysis of growth rate. It could be related to the release in the culture medium of some antibiotic substance. Furthermore, analysing the tests with delayed inoculum of the pathogen, this property seems to increase with the augment in concentration of metabolites. After the contact, also in this case the two colonies remained well distinct from each other.

Only one *G. roseum* strain has shown both a weak antibiotic action and, moreover, a mycoparasitic one that needs further investigations.

Finally, *Trichoderma* proved to be the only effective antagonist of *B. mediterranea*. The tested strains did not show any at distance inhibition; but after the contact they were able to rapidly parasitize the mycelium of *B. mediterranea* and to actively reduce its growth, limiting it to a very little portion of the plate or destroying it completely.

In conclusion, these results, although just a preliminary approach to this topic, evidenced the complexity of the possible interactions among microorganisms living inside host tissues. The colonization of plant tissues, that is most likely one of the main goals in the life strategy of endophytes, depends on their ability to compete with each other. Further, these reciprocal relationships, in firm connection to their interactions with the host, are probably the key to understand the final expression of the health status of the plant.

Acknowledgement

This research was supported by the Project MIUR PRIN 2003: “Endofitismo e controllo biologico naturale di patogeni coinvolti nel deperimento della quercia”.

References

- Franceschini, A. & Marras, F. (eds.) 2002: Atti Convegno: L'endofitismo di funghi e batteri patogeni in piante arboree e arbustive. Sassari-Tempio Pausania, 19-21 Maggio: 403 pp.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. & Lorito, M. 2004: *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. – Nature Reviews 2: 43-56.
- Petrini, O. 1996: Ecological and physiological aspects of host specificity in endophytic fungi. – In: Endophytic Fungi in Grasses and Woody Plants, Systematics, Ecology and Evolution S.C. Redlin & L.M. Carris eds. APS Press, St. Paul, MN: 87-100.
- Ragazzi, A. & Della Valle, I. (eds.) 2000: Decline of oak species in Italy: problems and perspectives. – Accademia Italiana Scienze Forestali, Firenze: 257 pp.

Correlation between the incidence of endophytic pathogenic fungi and oak decline in *Quercus ilex* L. after fire damages

Naldo Anselmi, Angelo Mazzaglia

Department of Plant Protection, University of Tuscia. Via S. Camillo de Lellis snc. 01100, Viterbo, Italy

Abstract: During the year 2000, a severe fire burned about 270 hectares of the Natural Reserve of Latium Coasts, and notably the historical forest of Castel Fusano mostly composed of pine and holm oak trees. The recovery and the restoration of the forest require particular attention due to phytopathological problems. A thorough investigation followed the development of the whole parasite complex, both on pine and broadleaf trees of the reserve. Our research focusing on *Quercus ilex* aimed at detecting the presence of fungal parasites living asymptomatically as endophytes in crown tissues of healthy and fire damaged trees, the latter being distributed in three classes of damage.

Several fungal endophytes were present in all the analysed tissues of both the healthy and damaged plants. Several species (*Biscognauxia mediterranea*, *Phomopsis* spp.) are well known as pathogens, while others are considered indifferent, not pathogenic or antagonists (i.e. *Trichoderma*).

The total amount of endophytes was comparable in both healthy and damaged plants but their specific composition greatly differ: for example, in healthy plants, *Trichoderma* amount was low, while those of *Discula quercina*, *Phomopsis* and particularly *Biscognauxia mediterranea* were significantly high; the presence of non pathogenic endophytes was higher in buds than in other tissues. It could be hypothesized that a number of these fungi have an antagonistic behaviour against pathogenic species.

Finally, the plant suffering induced by fire seems to stimulate the dissemination of fungal pathogens, particularly *B. mediterranea*. Its endophytic incidence appeared to be related to the plant damage intensity. The dehydration of the tissues could perhaps be the main factor that triggered the symptomatic attacks. Finally, we showed that, also in *Q. ilex*, some weakness fungal pathogens, such as *B. mediterranea*, are capable remaining latent in plant tissues: damages by fire seem to be a factor inducing these organisms to change from endophytes to pathogens.

Key words: fire, weakness parasites, endophytism, *Biscognauxia mediterranea*

Introduction

The fires in forest can induce great disorder in natural ecosystems and also can trigger serious phytosanitary problems (Monti et al., 1992; Anselmi et al., 2002). Beside the several diseases usually occurring in a forest, after a fire many opportunistic parasites, also defined as “weakness parasites”, can spread. They are innocuous on healthy plants but dangerous on weakened ones that have a reduced reactivity (Anselmi et al., 2002). Among the fungal pathogens, the agents of bark necrosis have great relevance.

The pine forest of Castel Fusano, the Presidential Reserve of Castel Porziano and the pine forest of Ostia comprise the main forest complex of the Rome’s coastal region; it covers a surface of 1100 hectares and, since 1996, belongs to the Natural Reserve of Roman Coast. On 3rd and 4th July 2000, it endured a catastrophic fire, probably of malicious origin: the fire, which spread rapidly due to a strong sirocco wind, invested about 270 hectares of timber trees (mainly pine and holm oak trees) and Mediterranean undergrowth. At the edge of the fire,

stands mostly with *Quercus ilex* were less damaged, also due to the intrinsic reduced flammability of this tree, which was estimated to thrive again in about 20 years.

However, this wretched event gave us the opportunity to carry out observations on phytosanitary aspects both on plant which survived the fire, as well as on the natural renewal of plants and the new specimens planted (Anselmi et al., 2002).

Many individuals of this species, even if critically damaged by the fire, were nevertheless capable of new vegetation. But, at the same time, a great number of the damaged individuals then suffered intense attacks of *Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) O. Kuntze and other bark pathogens, usually weakness parasites. These heavy aggressions often caused the death of the plants. It seemed plausible that the prompt increase of attack incidence by these pathogens could be related to their previous presence in the host tissues in asymptomatic status (Fisher et al., 1994; Nasini & Mazzaglia, 2004) or to an increase in their endophytic incidence.

This study aimed to confirm this hypothesis and more exactly to define: (a) which pathogenic fungal species are able to live as endophytes asymptotically in epigeous tissues of holm oaks, either damaged or not by the fire; (b) if the fire could induce their endophytic status to transform in pathogenic phase and, consequently, (c) their being involved in the oak decline after the burning; (d) if there is a relation between their incidence and the external pathological symptoms.

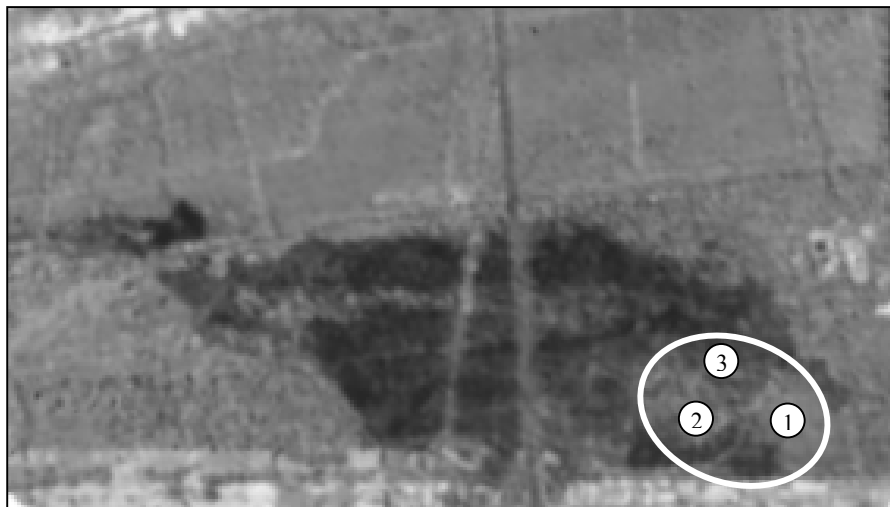


Figure 1. 20th August 2000, Satellite IKONOS. Photo of the Natural Reserve of Latium Coast after the fire passage; the burned area is clearly evident.

The circle indicates the area investigated in this research and the numbers localize the sampling plots: (1) healthy plants; (2) slightly damaged plants; (3) seriously damaged plants.

Materials and methods

In November 2000, 4 months after the fire, when *B. mediterranea* attacks were still infrequent, a series of sampling on healthy plants to be used as starting reference for isolation data was carried out.

During the spring 2002, two years after the fire, in these areas, according to the presence of dead twigs or branches and the incidence of *B. mediterranea* symptoms, three categories of plants were defined as follows:

1. healthy, without dead branches or bark cankers by *B. mediterranea* on the crown;
2. slightly damaged, about 25-30% of the crown with dead branches and few (1-3) scattered bark cankers on branches or trunk;
3. seriously damaged, about 50-60% of the crown with dead branches and at least 5-7 carbonaceous cankers on branches or trunk.

Sampling

Following these criteria, 3 plants per each class were selected and 4 healthy branches per each plant were sampled and conserved at 4°C until the following experimental steps.

Then, on each branch, 4 buds, 4 fragments (2-3 mm³) from one-year-old twigs and 4 similar fragments from the bark of 3-years-old branches were randomly collected, so that 48 samples per tree and a trial of 432 samples were examined in 2002 (144 samples in 2000).

Isolation of endophytes

The samples were surface sterilized with a proper protocol for endophyte isolation that includes their immersion in H₂O₂ (10%) for 15 min (woody samples) or 5 min (herbaceous samples), then a repeated rinse in sterile water (5 times). The fragments were then transferred on Potato Dextrose Agar (PDA) with 0.06 g/l of streptomycin (to prevent any bacterial growth) and incubated at 20°C, 100% R.H. in the dark for mycelium development.

After several days, propagules from the edge of any fungal colony grown on substrate were transferred to a new Petri plate in order to obtain pure cultures. After 20 days in the same growing conditions, these were firstly catalogued and then subjected to the identification of fungal species and to the evaluation of their incidence as endophytes.

Identification and quantification of the species

Almost all the colonies obtained were identified mainly by morphological analysis (macro- and microscopic observations) according to proper taxonomic keys (Von Arx, 1981; Sutton, 1980; Booth, 1971).

A quantitative analysis of fungal endophytes incidence, either pathogens (with particular reference to *B. mediterranea*) or not, followed. The isolation frequency (number of isolates of a species/number of attempted isolations x 100) was calculated.

Results

In 2002 experiments, 377 isolates on 432 attempted isolations were obtained, equivalent to 87.3 % of isolation frequency, higher than in 2000 (58%). In all the *Q. ilex* trees a very relevant presence of fungal endophytes was observed. The fungal species most frequently isolated, from higher to lesser frequencies, were *B. mediterranea*, *Trichoderma* spp., *Penicillium* sp., *Botrytis cinerea* Pers., *Phomopsis quercina* (Sacc.) Höhn. and *Discula quercina* (West.) Arx.

The isolation frequencies in 2002 were quite similar in the three considered classes: 93% in healthy plants, 88.19% in slightly damaged plants and 90.97% in seriously damaged plants, showing an infection level evidently higher than that in 2000 (Fig. 2).

Among the retrieved endophytes, several belonged to pathogenic species such as, in particular, *B. mediterranea*, *P. quercina* and *D. quercina*.

In all the damage classes and all the tissues *B. mediterranea*, known as a weakness pathogen involved in oak decline in Mediterranean areas, was clearly prevalent.

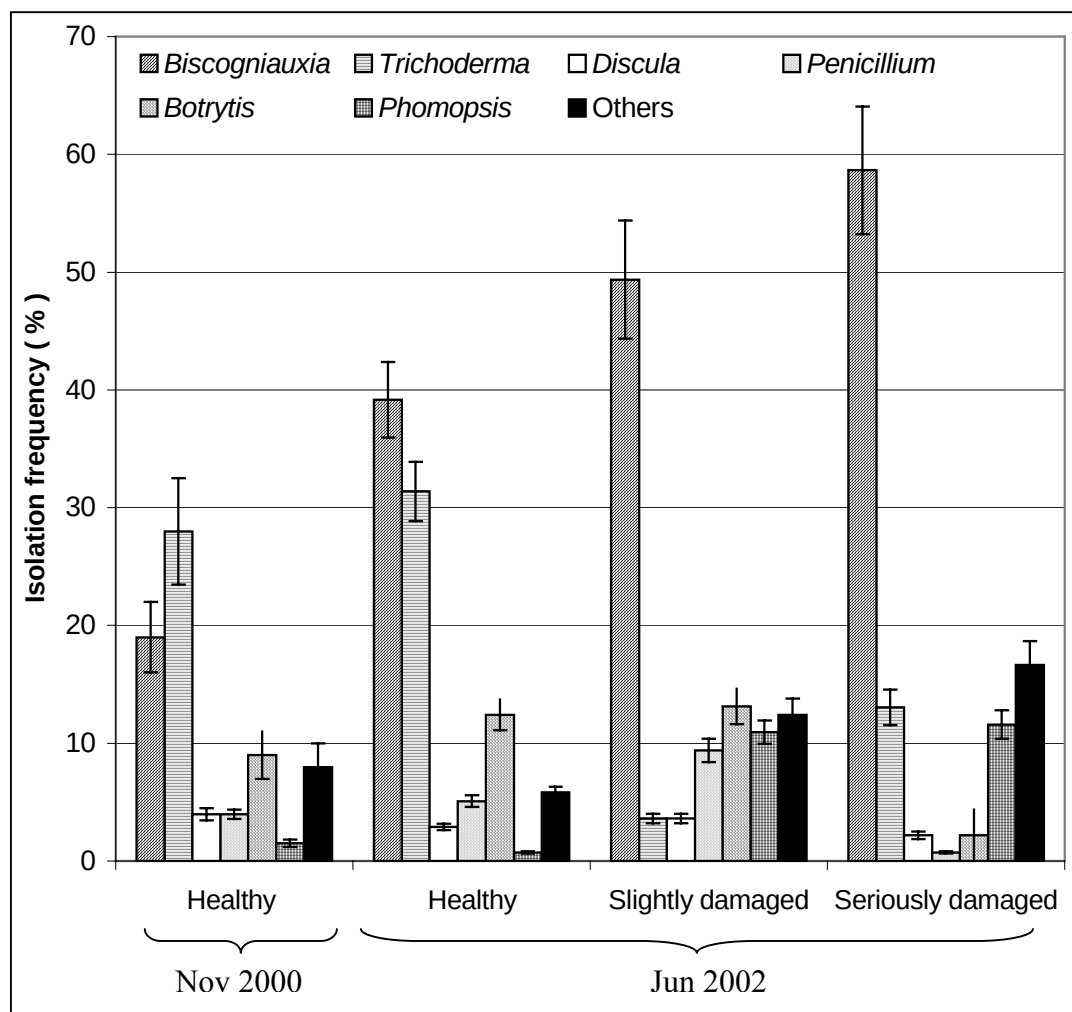


Figure 2. Forest of Castel Fusano (Rome) affected by fire in July 2000. Isolation frequencies (%) of the fungal endophytes isolated from healthy plants of *Quercus ilex* in November 2000 and from healthy, slightly damaged and seriously damaged plants two years after the fire (average data from buds, twigs and branches).

Relationships with health status of the plants

The isolation frequencies varied between plant classes. *B. mediterranea*, already cited as the most abundant endophyte, revealed an higher incidence in the damaged plants than in the healthy ones; in the healthy plants it strongly increased during the period 2000-2002. A similar trend was shown by *Phomopsis*. *D. quercina*, a pathogen that attacks mainly leaves and twigs, on the contrary, was quite homogeneous in all the plants.

Among the other fungi, *Trichoderma*, also known as plant symbiont (Harman et al., 2004) and as antagonist against several fungi, was isolated more frequently from healthy plants than in slightly damaged ones, again abundant in the heavy damaged plants. It could be hypothesized that its high presence in healthy plants is biologically linked to an antagonistic action against endophytic pathogens.

The incidence of both *B. mediterranea* and *P. quercina* was significantly higher in 2002 than in 2000.

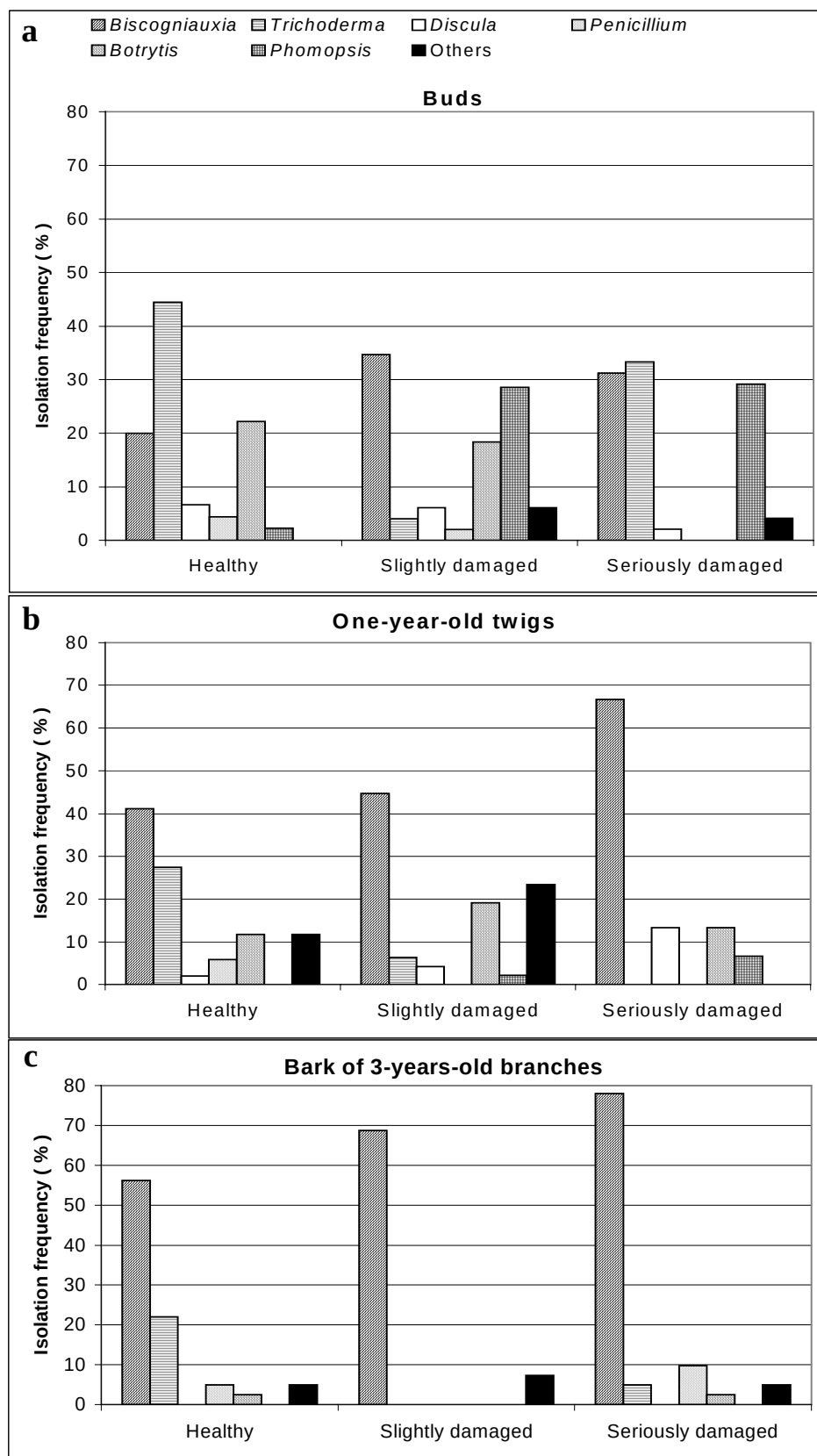


Figure 3. Castel Fusano (Rome), 2002. Isolation frequencies (%) of the fungal endophytes from (a) buds, (b) twigs and (c) branches of *Quercus ilex* plants showing different fire damage.

Incidence in different plant tissues

The incidence of fungal endophytes was consistent either in buds, in 1-year-old twigs and in the bark of 3-years-old branches (Fig. 3).

Buds. The incidence of indifferent or potentially antagonistic fungi as *Trichoderma* and *Botrytis* in the buds sampled from healthy plants was higher than that of pathogenic fungi as *B. mediterranea*, *D. quercina* and *P. quercina*. On the other hand, in the buds of plants damaged by fire, *B. mediterranea* and *Phomopsis* were isolated with the higher frequencies (Fig. 3a).

One-year-old twigs. From these samples *B. mediterranea* was always the most diffused endophyte. Again, its incidence increased from the healthy to the heavy damaged plants, as for *D. quercina* and *P. quercina*, even with lower frequencies (Fig. 3b).

Bark from 3-year-old branches. Also in this tissue *B. mediterranea* was absolutely the most diffused endophyte with its incidence increasing from the healthy to the damaged trees (Fig. 3c). In this case, the incidence of indifferent or potentially antagonistic fungi was very low also in healthy trees.

Conclusions

The results obtained in this study indicate that in all the plants, both healthy and damaged, and in all the examined tissues (buds, twigs and bark of 3-years-old branches) numerous fungal species can live as endophytes.

Several of those species could be considered as indifferent or not pathogenic or, maybe, as antagonists (e.g. *Trichoderma*); others are known pathogens. Among the latter, the most diffused are *B. mediterranea*, *P. quercina* and *D. quercina*.

An increase of the incidence of these species from 2000 to 2002 was clearly evidenced. In 2002 isolations, there was a valuable difference in the total amount of fungal endophytes between healthy and damaged plants, with an increase of the pathogenic species (e.g. *B. mediterranea* and *P. quercina*) and decrease of the indifferent ones (e.g. *Trichoderma*) from healthy to damaged trees. The endophytes without pathogenic behaviour were isolated more frequently in buds than in other tissues. Certain species could perhaps have an antagonistic action against pathogens inside host tissues.

It is very plausible that the increase of inoculum pressure related to the spreading of reproductive structures after the fire, permitted new infections, also on healthy plants.

However, it seems quite clear that the plant decay consequent to the fire stimulated the latent infection of fungal pathogens, mainly of *B. mediterranea*. Its endophytic incidence, in all the examined tissues, appears to be related to the intensity of damage. Probably the loss of water in the tissues could be the main factor that induced symptomatic attacks.

Furthermore, the pathogenic attacks appear to be influenced by the climatic trend. Indeed, it is plausible that the drought periods, which occurred during the vegetative season of 2002, also encouraged the incidence of the weakness parasites, including *B. mediterranea*.

Finally, it appeared that the quantification of *B. mediterranea* incidence represents a good “risk index” to forecast the development of forest decline.

Acknowledgements

This research was supported by Dipartimento X, Politiche Ambientali ed Agricole, Municipality of Rome, Italy.

References

- Anselmi, N., Paparatti, B., Vannini, A., Mazzaglia, A., Bucin, D. & Gori, M. 2002: Problemi fitosanitari. – In: Il recupero ambientale della pineta di Castel Fusano. Studi e monitoraggi. Ed. Palombi: 29-34.
- Arx, J.A. von 1981: The genera of fungi sporulating in pure culture. 3rd ed. – J. Cramer, Vaduz. 424 p.
- Booth, C. 1971: Methods in Microbiology, vol. 4. – Academic Press, London: 795 p.
- Fisher, P. J., Petrini O., Petrini L.E. & Sutton B.C. 1994: Fungal endophytes from the leaves and twigs of *Q. ilex* L. from England, Majorca and Switzerland. – New Phytol. 127: 133-137.
- Harman, G.E., Howell C.R., Viterbo, A., Chet, I. & Lorito, M. 2004: *Trichoderma* species, opportunistic, avirulent plant symbionts. – Nature Reviews 2: 43-56.
- Monti, G., Marchetti, M. & Gorreri, L. 1992: Funghi e cenosi di aree bruciate. Ed. Pacini, 149 p.
- Nasini, M. & Mazzaglia, A. 2004: Endofiti fungini su leccio. – Micologia Italiana (in press).
- Sutton, B.C. 1980: The *Coelomycetes*. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. – Commonwealth Mycological Institute, Kew, 696 p.

Preliminary in vitro investigation on the interactions among endophytic fungi isolated from *Quercus* spp.

Benedetto Teodoro Linaldeddu, Lucia Maddau, Antonio Franceschini

Dipartimento di Protezione delle Piante – Sezione di Patologia vegetale – Università degli Studi di Sassari, Via E. De Nicola, 9 – 07100 Sassari, Italy.

Abstract: In this preliminary work, the interactions between mycelia of 12 endophytic fungi and 3 fungal pathogens (*Biscogniauxia mediterranea*, *Diplodia corticola* and *Discula quercina*) isolated from asymptomatic and declining plants of *Quercus suber* and *Q. pubescens*, in dual plate cultures on PDA were examined. Antagonism was measured as the ability of the endophytic fungi to determine hyphal interference and inhibition of the colony growth of the pathogens. *Trichoderma fertile* and *Dictyochaeta parva* showed relevant antagonistic properties.

Key words: oak decline, endophytic fungi, antagonism, biological control

Introduction

The fungal community in asymptomatic and declining plants of *Quercus* species in Mediterranean countries include common saprophytes, endophytes and also pathogens involved in oak decline (Franceschini et al., 2002; Ragazzi et al., 2003). Several studies have focused on the distribution and incidence of these fungi in declining oak stands, but their biology and ecology, and above all, the nature of their interactions have not been adequately investigated. The aim of this study was to investigate the antagonistic activity *in vitro* of 12 endophytic fungi against 3 pathogens: *Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) O. Kuntze, *Diplodia corticola* A.J.L. Phillips, Alves & Luque and *Discula quercina* (West.) Arx, isolated from *Quercus* spp.

Materials and methods

The pathogens and the endophytic fungi reported in table 1, were isolated from leaves, twigs or buds of *Quercus* species in declining oak stands in Sardinia and Sicily.

Screening for antagonistic effects of the endophytic fungi was carried out by testing all possible combinations of pathogens and potential antagonists in dual cultures on potato-dextrose-agar (PDA) in 12 cm Petri dishes. In each dish, two 5 mm diameter mycelial dishes, one from the pathogen colony and one from the potential antagonist, were placed on the agar surface 40 mm apart. The trials was replicated three times for each pairing.

The antagonism index (AI) and competitive interactions among mycelia of endophytic fungi were determined using a rating scale for the 3 main types of reactions (A, B, C) and 4 sub-types (C_{A1} , C_{B1} , C_{A2} , C_{B2}) (Badalyan et al., 2002).

Results and discussion

Among the endophytes tested, *Trichoderma fertile* and *Dictyochaeta parva*, showed a strong competitive ability against all three pathogens, although presenting different mechanisms of action (Tab.1). They inhibited mycelial growth at distance by the production of toxic

metabolites. *T. fertile* was also able to parasitize the colonies of three pathogens and to sporulate on them. Both of these endophytic fungi make up two natural potential antagonists which could be used in biological control programs.

Among the pathogenic species, *B. mediterranea* is not as sensitive as other pathogens to the antagonistic activity of the endophytes; and in some cases it inhibited their micelial growth and parasitized their colonies.

Table 1. Interactions between mycelia of 12 endophytic fungi and the 3 pathogens

Endophytic fungi	Type of interaction ^a			Total (AI) ^b
	<i>Biscogniauxia mediterranea</i>	<i>Diplodia corticola</i>	<i>Discula quercina</i>	
<i>Aureobasidium pullulans</i>	C _{A2} *	C _{A1} *	B	2
<i>Bionectria solani</i>	C _{A1}	C _{B1}	C _{B1}	11,5
<i>Dictyochoeta parva</i>	B	B	B	6
<i>Epicoccum nigrum</i>	C _{A2} *	B	B	4
<i>Penicillium purpurogenum</i>	B	B	B	6
<i>Seimatosporium glandigenum</i>	C _{A2} *	C _{A2} *	A	1
<i>Sporormiella minima</i>	B	B	B	6
<i>Trichoderma asperellum</i>	C _{A1}	C _{B2}	C _{B2}	13,5
<i>T. fertile</i>	C _{B2}	C _{B2}	C _{B2}	15
<i>T. harzianum</i>	C _{A1}	C _{B2}	C _{B2}	13,5
Yeast-like	B	B	B	6
<i>Mycelia sterilia</i>	C _{A2} *	C _{A2} *	A	1

^a) A = deadlock after mycelial contact; B = deadlock at a distance; C = overgrowth without initial deadlock; C_{A1} = partial replacement after initial deadlock at contact; C_{A2} = complete replacement after initial deadlock at contact; C_{B1} = partial replacement after initial deadlock at a distance; C_{B2} = complete replacement after initial deadlock at a distance.

^b) AI = $\sum n \times i$, where n = number of each type of reaction; i = corresponding score (A = 1; B = 2; C = 3; C_{A1} = 3,5; C_{B1} = 4; C_{A2} = 4,5; C_{B2} = 5).

*) Pathogen growth over the endophytic fungus colony.

References

- Badalyan, S.M., Innocenti, G. & Garibyan, N.G. 2002: Antagonistic activity of xylotrophic mushrooms against pathogenic fungi of cereals in dual culture. – *Phytopathol. Medit.* 41: 220-225.
- Franceschini, A., Maddau, L. & Marras, F. 2002: Incidence d'endophytes fongiques impliqués dans le dépérissement du chêne-liège. – *IOBC/wprs Bull.* 25 (5): 29-36.
- Ragazzi, A., Moricca, S., Capretti, P., Dellavalle, I. & Turco, E. 2003: Differences in composition of endophytic mycobiota in twigs and leaves of healthy and declining *Quercus* species in Italy. – *For. Path.* 33: 31-38.

Etude de la durabilité naturelle du chêne européen

Foued Aloui¹, Bertrand Charrier², André Merlin¹, Béatrice George¹

¹ LERMAB Laboratoire d'Etudes et de Recherche sur le Matériau Bois, UMR INRA 1093,
Unité Mixte de Recherche INRA/ENGREF/UHP Nancy, Faculté des Sciences et Techniques
Université H. Poincaré Nancy 1, Vandoeuvre les Nancy, France,
Aloui.Foued@lermab.uhp-nancy.fr

² IUT des pays de l'Adour, SGM-Bois, 40 004 Mont de Marsan, France,
bertrand.charrier@univ-pau.fr

Résumé : Les chênes européens (*Quercus petraea* et *Q. robur*), connus depuis longtemps pour leur durabilité naturelle, occupent en France 4,1 millions d'hectares. Ces essences constituent une importante ressource pour la production de bois d'œuvre. Utilisé en extérieur, le bois de chêne est considéré comme durable, selon le standard européen EN 350-2, puisque ses substances hydrosolubles résistent au lessivage. Le présent travail, intégré au programme Durachene, s'intéresse à la résistance du chêne au champignon lignivore *Coriolus versicolor* et aux facteurs mis en jeu (composition chimique du bois) dans ce processus. Des essais biologiques (confrontation bois-champignon, test de lessivage, dosages des phénols totaux, dosages des ellagitannins par HPLC) ont été réalisés sur 21 arbres (11 chênes pédonculés et 10 sessiles). Tous ne résistent pas de la même manière à *Coriolus versicolor* : d'après les classes définies par le calcul des pertes de masse absolue dues aux attaques fongiques (normes EN 113 et EN 350), il apparaît que 70% des échantillons appartiennent à la classe très durable et 25% le demeurent après un test de lessivage. Pour s'affranchir des longs essais nécessaires à l'évaluation de la durabilité naturelle, nous avons recherché l'existence d'éventuelles corrélations entre durabilité et composition chimique des extraits. La durabilité du bois paraît liée aux fortes teneurs en ellagitannins : 15,6 et 16,19mg/g de bois sec respectivement pour la roburine et la castalagine.

Mots clés : chêne européen, *Quercus petraea*, *Q. robur*, *Coriolus versicolor*, durabilité naturelle, résistance, dégradation, lessivage, phénols totaux, ellagitannins, HPLC

Introduction

Le bois en tant que matériau biodégradable peut, suivant ses conditions d'utilisation, subir une biodégradation sous l'action de différents agents : microorganismes (champignons, bactéries), insectes (termites et coléoptères) et mollusques térébrants marins. La durabilité naturelle du bois est sa résistance intrinsèque aux attaques de ces organismes (EN 350-2). Elle est dépendante de la concentration en substances toxiques (extraits antifongiques) qui sont considérées comme les principaux facteurs de résistance du bois. Le chêne fait partie, avec le châtaignier et le robinier, des rares essences feuillues européennes dont le bois est biologiquement résistant ; les tannins qu'il contient représentant 10% de son poids sec (Charrier et al, 1995). Le duramen chargé de tannins résiste ainsi aux organismes destructeurs.

Les chênes européens (*Quercus petraea* et *Q. robur*), connus depuis longtemps pour leur durabilité naturelle, occupent en France 4,1 millions d'hectares. Utilisé en extérieur, leur bois est considéré comme durable selon le standard européen EN 350-2, puisque ses substances hydrosolubles résistent au lessivage. Dans la présente étude, nous avons étudié sa durabilité naturelle, la variabilité de sa résistance aux champignons lignivores (*Coriolus versicolor*) et les substances chimiques mises en jeu.

Pour tester la durabilité, plusieurs méthodes existent mais les recherches se poursuivent pour déterminer quels tests sont les plus rapides et les mieux appropriés (Dirol, 2001). La plupart des tests d'évaluation de la résistance d'un bois sont basés sur la perte de masse mesurée après une confrontation bois/champignon en conditions contrôlées (milieu de culture, environnement). Rares sont les essais basés sur la mesure du diamètre du mycélium.

Suivant la norme EN 113, La durabilité est estimée par la perte de masse du bois après confrontation bois-champignon pendant plus de 5 semaines en salle climatisée. La recherche des facteurs intervenant dans la résistance aux champignons est basée sur une analyse chimique du bois par extraction des tannins : dosage des phénols totaux et détermination de la teneur en divers composés par une analyse HPLC. Pour mieux évaluer l'importance des extraits, un test de lessivage basé sur la norme NF EN 84 a été effectué.

Matériels et méthodes

Matériel végétal

L'échantillonnage concerne 21 arbres (11 chênes pédonculés et 10 chênes sessiles) provenant de 6 origines géographiques françaises (Citeaux, Darney, Jupiles, Gers, St Plais et Tronçais). Sur les billons de 21 arbres, coupés à 1,30 m du sol, des éprouvettes ont été découpées dans des lattes rabotées d'une section de $20 \times 15 \times 15 \text{ mm}^3$ en direction RTL, comme indiqué sur la norme EN 350-1. Les lattes ont été découpées en comptant 5 cernes à partir de l'aubier, après avoir éliminé la partie supérieure du billon directement exposée aux agents d'altération (rayonnement UV, eau, moisissures).

Pour chacun des 21 arbres, nous avons prélevé (figure 1) : une éprouvette pour la détermination de la masse sèche, 10 pour le lessivage, 10 autres non lessivées et une dernière pour la quantification des tannins après extraction (dosage des phénols totaux et analyses HPLC). Les éprouvettes non lessivées et celles lessivées ont été ensuite soumises aux tests biologiques (confrontation avec *Coriolus versicolor*). Suivant la norme EN 350-1, nous avons utilisé l'aubier de hêtre (*Fagus sylvatica*) comme essence de référence.

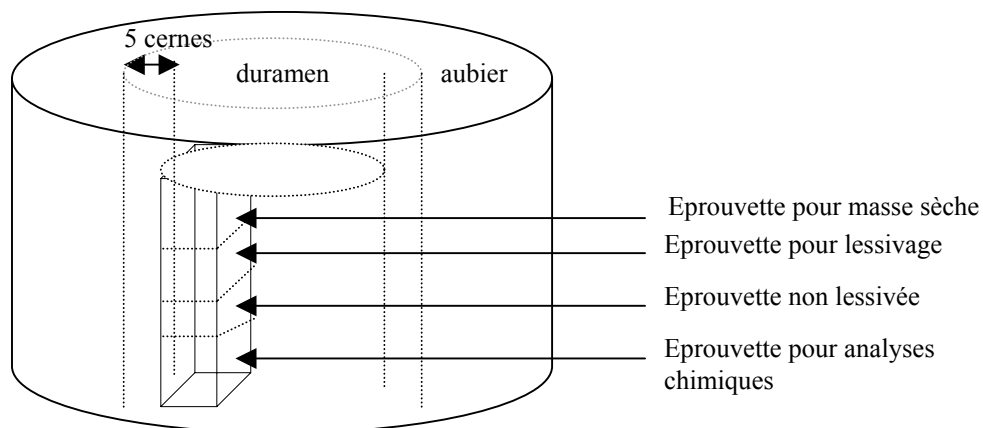


Figure 1. Protocole de prélèvement des différentes éprouvettes à partir d'un billon de chêne

Conditionnement et mesures physiques

Après découpe, toutes les éprouvettes de bois utilisées (de chêne et de hêtre) ont été conditionnées dans une enceinte climatique bien aérée et maintenue (suivant la norme EN

113) à $20 \pm 2^\circ\text{C}$ et $65 \pm 5\%$ d'humidité relative jusqu'à masse constante (plus de 4 semaines). Après conditionnement, ces éprouvettes ont été pesées à l'aide d'une balance à 0,001g près.

Afin d'éviter la modification de certaines substances du bois lors du séchage, les éprouvettes à utiliser dans les essais biologiques ne doivent pas être séchées à l'étuve avant l'essai. Pour cela, nous avons eu recours à la détermination de la masse sèche théorique. Un lot de 21 éprouvettes a été prélevé (1 éprouvette de chaque arbre). Ces éprouvettes ont été ensuite séchées à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ jusqu'à masse constante.

La masse théorique sèche (m_{sth}) est déterminée par la formule :

$$m_{sth} = 100 * m_{cond} / (100 + u) \quad [1]$$

où m_{cond} est la masse de l'éprouvette après conditionnement, et u le pourcentage moyen d'humidité calculé après conditionnement (formule [2]).

La quantité d'eau rapportée à la masse anhydre (u) donne le pourcentage en eau du bois selon la formule :

$$u = ((M1 - M2) / M2) * 100 \quad [2]$$

avec $M1$ masse de l'éprouvette après conditionnement (avant étuvage), et $M2$ sa masse après étuvage.

Essais biologiques

Pour ces essais, nous avons utilisé *Coriolus versicolor* qui est un champignon de pourriture fibreuse blanche sur les bois des feuillus. C'est le plus virulent champignon lignivore de la classe des basidiomycètes. Ce champignon se développe rapidement sur un milieu nutritif Malt - Agar.

Ce milieu a été préparé dans des fioles roux avec 8g d'extrait de malt contenant 0,9% d'azote, et 4g d'agar-agar renfermant environ 0,3% d'azote. La culture de ces champignons a été effectuée dans une enceinte d'essai à 75% d'humidité relative et à une température de 25°C . La stérilisation des éprouvettes d'essai a été réalisée à l'autoclave pendant 20 minutes à 103°C . L'exposition aux champignons a été effectuée après recouvrement entier de la plage du milieu de culture de chaque fiole par le mycélium de *Coriolus versicolor*. Cette confrontation bois/champignon s'est déroulée dans l'enceinte d'essai pendant environ 6 semaines. Le pourcentage de perte de masse suite à l'attaque des champignons (% pm) ramené à la masse sèche est donné par :

$$\% pm = ((m_{cond} - m_{conf}) / m_{sth}) * 100 \quad [3]$$

où m_{sth} est donnée par la formule [1] et m_{conf} est la masse de l'éprouvette après enlèvement du mycélium adhérent aux échantillons et séchage à l'étuve à 103°C pendant au moins 48h.

Afin de parvenir à une harmonisation européenne de la propriété de classes de durabilité vis-à-vis la résistance aux champignons lignivores, la classification est basée sur la norme européenne EN 350 –1. S'appuyant sur le calcul de perte de masse moyenne (x) déterminée par la formule [3], la classification est donnée par le tableau 1.

Essai de lessivage

Nous avons pris 10 éprouvettes de chaque arbre. Au total 210 éprouvettes ont subi le test de lessivage dans deux dessiccateurs de capacité comprise entre 8 et 10 litres. Nous avons adopté la norme EN 84 conçue pour le lessivage des produits de préservation. Grâce à l'immersion dans l'eau et le maintien sous-vide des éprouvettes de bois, ce protocole est considéré comme étant le test de lessivage le plus sévère.

Tableau 1. Détermination de la classe de durabilité à partir de la perte de masse absolue causée par *Coriolus versicolor*

Classe de durabilité	Description	Perte de masse absolue x (%)
1	Très durable	$x \leq 5$
2	Durable	$5 < x \leq 10$
3	Moyennement durable	$10 < x \leq 20$
4	Peu durable	$20 < x \leq 30$
5	Non durable	$30 < x$

Analyses chimiques

L'extraction des tannins et des monomères phénoliques dérivés de la lignine (Scalbert et al, 1988), permet de quantifier les phénols et de déterminer par analyses HPLC la teneur en ellagitannins présents dans le bois de chêne. Une extraction simple à froid a été réalisée pendant 6 heures sur agitateur magnétique. A chaque fois, trois échantillons de sciure ont été extraits avec 5ml de la solution d'extraction : MeOH/H₂O/H₃PO₄ 2/97/1 V/V/V, le pyrogallol étant utilisé comme standard interne pour les analyses HPLC (100mg/l).

Le dosage des phénols totaux est la technique de base qui permet d'apprécier globalement la richesse en composés phénoliques extractibles du bois (les tannins chez le chêne). La mesure des phénols totaux a été effectuée par la méthode de Folin Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965). La concentration est calculée à l'aide de l'équation de Beer Lambert :

$$A = \varepsilon * l * C \quad [4]$$

avec A : absorbance, ε : coefficient d'absorption molaire, l : épaisseur de la cuvette, C : concentration.

Le dosage des ellagitannins a été effectué par HPLC (Chromatographie Liquide à Haute Performance) à l'aide du matériel Waters composé d'une pompe à Hélium 600^E, d'un injecteur automatique Waters 717, d'un système PDA, et d'une colonne. Pour la séparation des ellagitannins, deux solvants sont utilisés pour l'élution : B : MeOH-H₃PO₄ (1000 :1 ; V :V) et C : H₂O-H₃PO₄ (1000 :1 ; V :V). Le pyrogallol (100 mg/l de la solution d'extraction) a servi de standard interne.

Pour la détermination des teneurs en ellagitannins, Scalbert (1990) signalait que ces derniers ont une absorption spectroscopique presque identique, sans maximum, aux alentours de 240-400 nm. A partir des profils chromatographiques, les ellagitannins ont été identifiés et quantifiés par comparaison avec les temps de rétention cités dans des travaux antérieurs (Mosedale et al. 1996).

Résultats et discussion

Evaluation de la durabilité

Après 6 semaines de confrontation bois-champignon, la perte de masse moyenne des éprouvettes de bois de hêtre est de 46,67% (tableau 2). Par ailleurs, d'après la norme NF EN 113, toutes les pertes de masse des échantillons de hêtre sont supérieures à 30% ; le champignon a été suffisamment virulent et l'essai est donc valide. Le bois du chêne pédonculé naturel est, avec 4% de perte de masse moyenne, plus résistant que celui du chêne rouvre dont la perte de masse moyenne atteint 6,15%.

Tableau 2. Perte de masse du bois (%) après 6 semaines de confrontation avec *Coriolus versicolor*

	Moyenne	Ecart type	Min-Max	Intervalle de confiance
Hêtre	46,7	9,5	30,2-64,1	43,9-49,4
Chêne pédonculé naturel	4,1	1,5	3,1-8,2	3,1-5,0
Chêne pédonculé lessivé	7,5	2,5	4,7-12,1	5,9-9,1
Chêne rouvre naturel	6,1	3,0	2,9-12,9	4,2-8,1
Chêne rouvre lessivé	7,3	2,6	4,7-11,8	5,6-9,0

La perte de masse occasionnée par *Coriolus versicolor* atteint entre 3 et 8% pour le chêne pédonculé et 2 et 13% pour le chêne rouvre. Cette différence augmente nettement après lessivage du bois (Fig. 2).

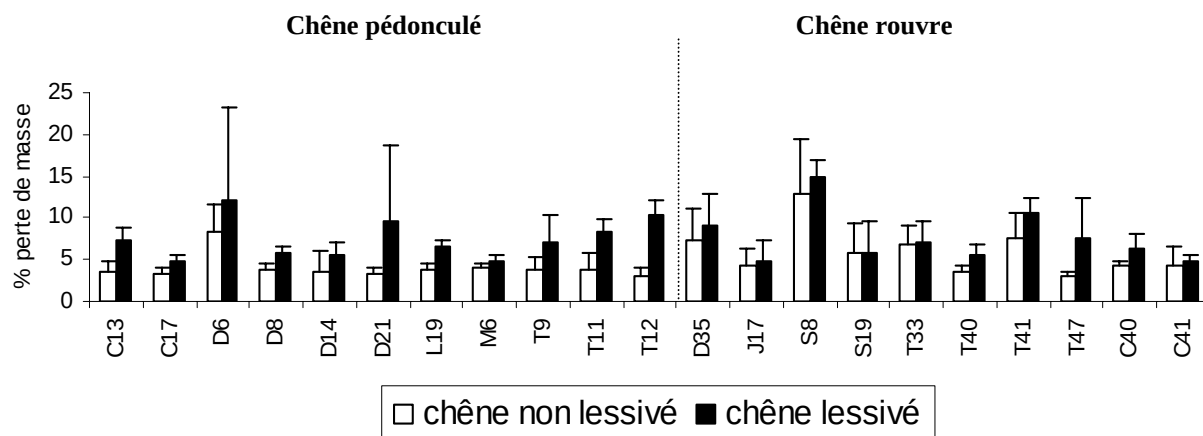


Figure 2. Effet du lessivage sur la résistance du bois au champignon *Coriolus versicolor*

En se référant aux classes de durabilité définies par le calcul des pertes de masse absolues (Tab. 1), nous observons une nette différence dans chaque classe de fréquence entre bois lessivé et bois non lessivé (Fig. 3). La classe très durable comprend ainsi 70% de bois non lessivé et seulement 20% de bois lessivé alors que la classe durable renferme 55% de bois lessivé et 25% de bois non lessivé.

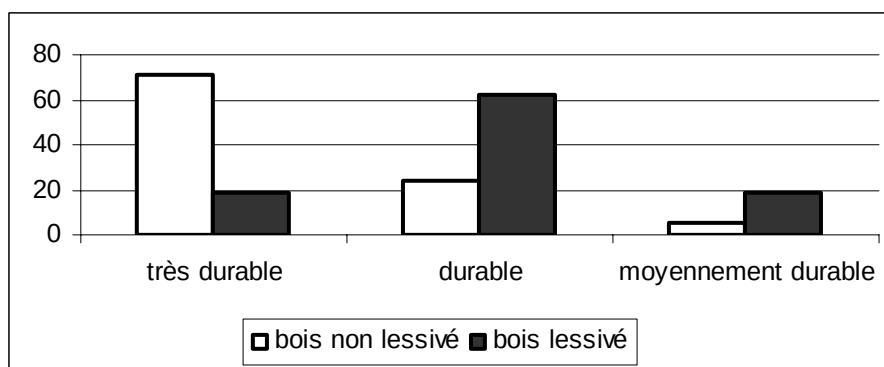


Figure 3. Distribution des fréquences des classes de durabilité

Le lessivage entraîne donc une diminution de la durabilité du bois de chêne dont beaucoup d'échantillons passent de la classe très durable vers la classe durable.

La différence de résistance entre échantillons jumeaux (issus du même arbre) de bois lessivé et non lessivé témoigne de l'importance de certaines substances chimiques (extraits) sur sa résistance aux champignons lignivores, d'où l'intérêt d'une analyse chimique du bois pour mieux comprendre le phénomène de durabilité naturelle.

Durabilité et composition chimique du bois de chêne

On connaît depuis longtemps le rôle antifongique des extraits de bois. La concentration en substances phénoliques conditionne la durabilité naturelle du bois. Le bois des chênes contient jusqu'à 10% de tannins (par rapport au poids sec). Dans nos analyses, quatre ellagitannins ont été identifiés : la roburine, la grandanine, la vescalagine et la castalagine (Fig. 4). L'objectif était de mettre en évidence d'éventuelles relations entre les pertes de masse et la concentration de ces différents composés chimiques.

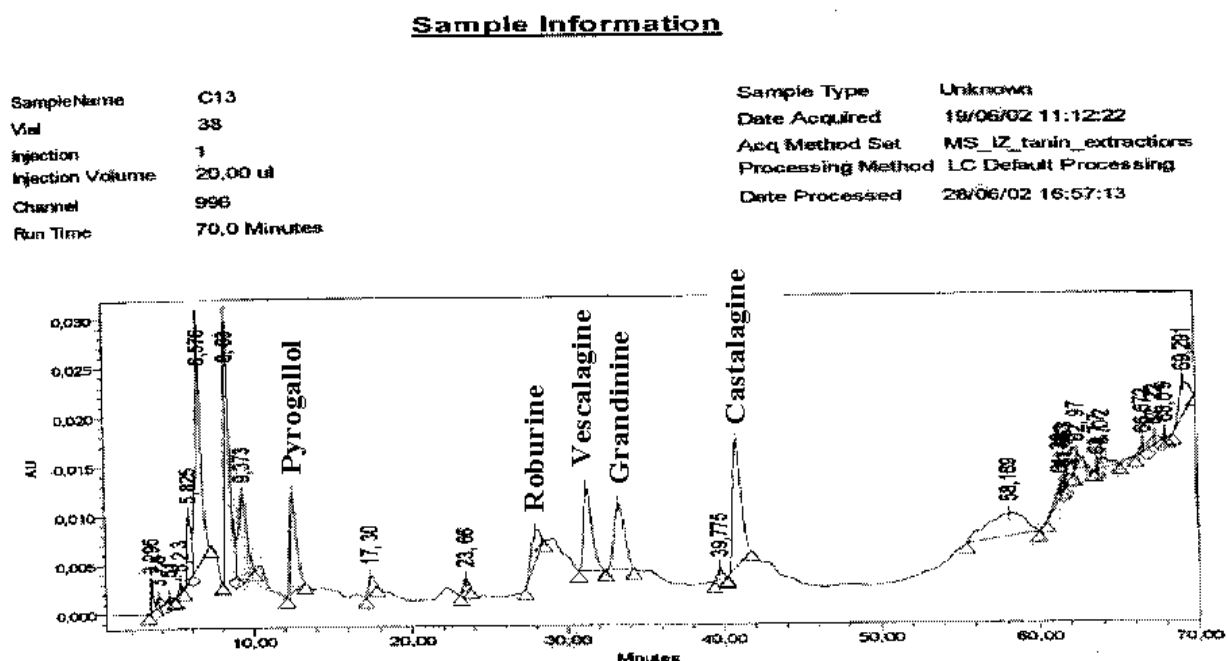


Figure 4. Profil chromatographique obtenu par analyse HPLC des ellagitannins du chêne après extraction MeOH/ H₂O (exemple de l'arbre C13).

D'après la matrice de corrélation (Tab. 3), la perte de masse (et donc la durabilité) du chêne n'est pas corrélée à la concentration en phénols totaux (R^2 de 3 à 10%), mais plutôt à celle de certains ellagitannins. La durabilité du bois lessivé est liée à la teneur en castalagine et en grandanine ($R^2 = 34$ et 31% respectivement) et celle du bois non lessivé à la teneur en roburine ($R^2 = 48\%$), en vescalagine ($R^2 = 47\%$) et en grandanine ($R^2 = 35\%$). Une analyse en composantes principales a montré que, parmi les arbres testés, ceux dont les teneurs en ellagitannins sont les plus faibles sont associés aux classes de durabilité 3 et 2 alors que ceux qui possèdent de fortes teneurs en vescalagine, castalagine et grandanine (respectivement 46, 35 et 48 mg/g de bois sec, équivalent pyrogallol) montrent une excellente résistance aux attaques fongiques (perte de masse de 4 à 6 %).

Tableau 3. Matrice de corrélation entre perte de masse (durabilité) et composition chimique (phénols totaux).

PMNL : perte masse non lessivé, PML : perte masse lessivé, PT : phénols totaux, TR : teneur en roburine, TG : teneur en grandinine, TV : teneur en vescalagine, TC : teneur en castalagine

	% PMNL	% PML	PT	TR	TG	TV	TC
% PMNL	1	0.65	0.10	- 0.48	- 0.35	- 0.47	- 0.16
% PML	0.65	1	0.03	- 0.07	- 0.31	0.20	- 0.34
PT	0.10	0.03	1	- 0.15	0.39	0.08	- 0.04
TR	- 0.48	- 0.07	- 0.15	1	0.23	0.37	0.04
TG	- 0.35	- 0.31	0.39	0.23	1	0.84	- 0.08
TV	- 0.47	0.20	0.08	0.37	0.84	1	- 0.20
TC	- 0.16	- 0.34	- 0.04	0.05	- 0.08	- 0.20	1

Conclusion

L'échantillonnage, les tests et analyses effectués dans cette étude mettent en évidence la résistance naturelle de nombreux individus de chênes européens, mais aussi le rôle important de certains composés chimiques (extraits du bois) dans le maintien de cette durabilité. La classe très durable comprend 70% de bois non lessivé et seulement 20% de bois lessivé et la classe durable 55% de bois lessivé et 25% de bois non lessivé. Ainsi, l'« effet lessivage » entraîne une diminution de la résistance du bois aux champignons lignivores.

La durabilité du chêne semble être liée à la concentration de certains composés phénoliques. De fortes teneurs en ellagitannins (au delà de 15,6 et 16,1 mg/g bois sec, respectivement, pour la roburine et la castalagine) rendent le bois très durable, alors que les plus faibles concentrations correspondent à des bois de durabilité moindre (classe durable et moyennement durable).

Cette étude montre que certains individus (25% des individus très durables avant lessivage), présentent une teneur en extractibles leur permettant de demeurer dans la classe très durable après un lessivage. Ces bois très durables pourraient être utilisés en extérieur sans traitement, ce qui conduit à la recherche de nouveaux outils (NIRS par exemple) permettant de les identifier directement en scierie (Baillers, 2001).

Références

- Baillers, H. 2001 : Développement d'une méthode spectroscopique non destructive d'évaluation de la durabilité naturelle ; Projet ADEME bois-matériaux ; 10.
- Charrier, B. 1995 : Characterisation of european oak wood constituents acting in the brown discoloration during kiln drying. – *Holzforschung*, n° 49 : 168-172.
- Dirol, D. 2001 : Durabilité des bois et problèmes associés : Dégradation du bois par les champignons Traitements préventifs et curatifs. – Hermès Sciences Publications : 193-227.
- EN 113 : Wood preservatives: determination of the toxic values against wood destroying basidiomycetes cultured on an agar medium. – Comité Européen de Normalisation, Décembre 1986, 23 p.
- EN 350-1 : Durability of wood and wood-based products. Natural durability of solid wood, Part 1. – In : Guide to the principles of testing and classification of the natural durability of wood, Comité Européen de Normalisation, Juillet 1994, 16 p.

- EN 350-1: Durability of wood and wood-based products. Natural durability of solid wood, Part 2. – In : Guide to natural durability and treatability of selected wood species of importance in Europe. Comité Européen de Normalisation, Juillet 1994, 40 p.
- EN 84 : Produits de préservation du bois. Epreuves de vieillissement accéléré des bois traités avant essais biologiques. – Epreuve de délavage. Comité Européen de Normalisation, Juillet 1997.
- Mosedale, J.R., Charrier, B., Crouch, N., Janin, G. & Savill, P.S. 1996: Variation in the composition and content of ellagitannins in the heartwood of European oaks (*Quercus robur* and *Q. petraea*). A comparison of two French forests and variation within heartwood age. – Ann. Sci. For. 53: 1005–1018.
- Scalbert, A., Duval, L., Peng, S., Monties, B. & Herve de Penhoat, C.L.M. 1990 : Polyphenols of *Quercus robur* L. II: Preparative isolation by low-pressure and high-pressure liquid chromatography of heartwood ellagitanins. – J. Chromatogr. 502: 107-119.
- Scalbert, A., Monties, B. & Favre, J.-M. 1988 : Polyphenols of *Quercus robur* L.: adult tree and in vitro grown calli and shoots. – Phytochem. 27: 3483-3488.
- Singleton, V.L. & Rossi, J.A. 1965 : Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. – Am. J. Enol. Vitic. 16: 144–158.

Natural durability of the European oak

Abstract: The European oaks (*Quercus petraea* and *Quercus robur*), the first French tree species occupying 4.1 million hectares, are well known for their natural durability and represent the main resource for wood work production. When used outside, oak wood is considered as durable, according to the European Standard EN 350-2, when subjected to the leaching of its water-soluble substances. This study, within the framework of the Duracene program, is focused on the variability of the oak wood resistance to a xylophagous fungus, *Coriolus versicolor*, and on the implied factors (chemical composition of wood). Biological tests (confrontation wood-fungus, leaching test, quantity of total phenols and of ellagitannins using HPLC) were carried out on 21 trees (11 peduncle oaks and 10 robur oaks). Oak trees were not equal with regard to *Coriolus versicolor*, with reference to the durability classes defined by calculation of the absolute mass losses due to fungi attacks (according to EN 113 and 350), it appears that 70% of the samples belong to the very durable class and remain in this class after the leaching test. In order to be exempted from the long biological tests, which are necessary to characterise the natural durability, we performed chemical analyses to detect possible correlations between durability and extract composition, before and after the leaching test. Wood durability seems to be related to strong contents of ellagitannins: above 15.6 and 16.19 mg/g of dry wood respectively for the roburine and castalagine.

Key words: European oak, *Quercus petraea*, *Q. robur*, *Coriolus versicolor*, natural durability, degradation, leaching, total phenols, ellagitannins, HPLC.

Les agents biotiques antagonistes du chêne vert (*Quercus ilex* L.) dans la région de Sétif (Nord-Est algérien)

Farida Benia¹, Mustapha Bounechada¹, Mohamed Anouar Khellil²

¹Université de Sétif, Faculté des Sciences, Département d'Agronomie. 19000 Sétif (Algérie).

²Université de Tlemcen, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Tlemcen (Algérie)

Résumé : Le peuplement naturel de chêne vert (*Quercus ilex*) de la forêt domaniale de Taffet au Nord de Sétif subit depuis 2001 un dépérissement qui a entraîné la mort de plusieurs arbres. Des observations préliminaires ont permis de déceler la présence de champignons pathogènes (*Hypoxylon* et *Ophistoma*).

Mots clés : forêts, chêne vert, champignons pathogènes, Algérie

Introduction

Comme de nombreuses forêts méditerranéennes, la forêt de chêne vert en Algérie souffre de dépérissement depuis quelques années. Contrairement au chêne-liège, peu de travaux ont été publiés dans ce pays sur les antagonistes de cette essence, hormis ceux de Saâdoun (1989), Attal-Bedreddine (1994), Chakali et al. (2002) et Sayeh (2003). Le déclin de la forêt domaniale de Taffet, située dans les monts de Bougaâ, au nord de la wilaya de Sétif (Nord-Est de l'Algérie), nous a conduit à nous intéresser aux facteurs susceptibles d'intervenir dans la progression de ce fléau.

La forêt de Taffet est un peuplement naturel (futaie) de 1 950 ha, composé d'un mélange de chêne vert (*Quercus ilex*), d'érable rouge (*Acer rubrum*) et de genévrier (*Juniperus oxycedrus*). Elle est située à 1 449 m d'altitude sur un sol pentu (40%), fait de roche marno-calcaire et de marne grise imperméable, qui est soumis à une forte érosion. Ce massif fait partie de l'étage bioclimatique sub-humide à hiver frais à froid ; il reçoit environ 600 mm de pluies par an. Entre 2000 et 2004, l'humidité relative moyenne était de 65% ; la température moyenne mensuelle maximale a atteint 33°C en août et la température minimale 2,6°C en février. Le chêne vert, qui représente 90% du peuplement est la principale essence affectée par le dépérissement. Celui-ci s'est manifesté après trois années de sécheresse (2000-2002). Entre juin et octobre 2002, 105 arbres ont montré des signes d'affaiblissement.

Symptômes du dépérissement

Les observations effectuées en été entre 2002 et 2004, ont montré que le dépérissement affectait des arbres de différents âges, en bordure comme à l'intérieur du peuplement. Il se manifeste par un dessèchement du feuillage. Les feuilles prennent une coloration marron de plus en plus foncée ; certaines portent des galles dues à la cécydomie *Dryomia lichtensteini* (Diptère Cecydomiidae). Ces galles, souvent nombreuses, forment de petites bourses dures et pubescentes à la face inférieure du limbe (Saâdoun, 1989, Villemant & Fraval, 1991).

L'année suivante, les arbres atteints ont des rameaux entièrement défoliés et des chancres se développent au niveau de l'écorce. La mort des rameaux et la défoliation seraient dues au champignon *Ophistoma roboris* (identification du Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Sétif).

Des chancres en forme de plaques charbonneuses sont dus à un champignon du genre *Hypoxylon* (identification I.N.R.F., Alger). Les dégâts du charbon du chêne, *Biscogniauxia mediterranea* (= *Hypoxylon mediterraneum*), sont connus depuis longtemps en Algérie et au Maroc (Malençon & Marion, 1951). C'est l'un des champignons les plus communément associés au dépérissement des chênes méditerranéens (Schiaffino et al, 2002). Lorsque les jeunes plants de chêne vert sont infectés, ils présentent d'abord des boursouflures qui se fendillent puis forment des crevasses. A mesure que le champignon se développe, des plages nécrosées apparaissent sur le tronc et les rameaux. Le bois, qui est finalement mis à nu, est de couleur noirâtre, avec un début de pourriture cubique (Fig. 1).



Figure 1. Chancre cortical à *Hypoxylon*. Stade très avancé où le bois est mis à nu et noirci.

Références

- Attal-Bedreddine, A. 1994: Contribution à l'étude des insectes du chêne vert, *Quercus ilex* L., dans le parc national de Chréa. – Thèse de Magister, Institut national agronomique, El-Harrach, Alger, 97 p.
- Chakali, G., Attal-Bedreddine, A. & Ouzani, H. 2002: Les insectes ravageurs des chênes, *Quercus suber* et *Q. ilex*, en Algérie. – IOBC/wprs Bull. 25 (5): 93-102.
- Malençon, G. & Marion, J. 1951: Un parasite des subéraies nord-africaines, l'*Hypoxylon mediterraneum* (D. Ntrs) Ces ; et Ntrs. – Rev. For. Fr. 11: 682-686.
- Sayeh, T. 2003 : Les ennemis du chêne vert (*Quercus ilex* L.) dans la région de Bordj-Bou-Arrerridj. – Thèse de Magister, Université de Constantine, Faculté des Sciences, Constantine, 160 p.
- Saadoun, H. 1989: Les insectes du chêne vert (*Quercus ilex* L.) dans la forêt du massif de Zaccar (Miliana). – Thèse d'ingénieur, I.N.A., El-Harrach, Alger, 96 p.
- Schiaffino, A., Franceschini, A., Maddau, L. & Serra S. 2002: Molecular characterisation of *Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) O. Kuntze strains isolated from declining trees of *Quercus suber* L. in Sardinia. – IOBC/wprs Bull. 25 (5): 37-40.
- Villemant, C. & Fraval, A. (eds.) 1991: La faune du chêne-liège. – Actes Editions, Rabat, 336 p.

Antagonistic agents of holm oak (*Quercus ilex* L.) in the Setif region (North-East of Algeria)

Abstract: Since 2001, natural holm oak (*Quercus ilex*) stands of the Taffet forest in the Setif region underwent a decline, which induced the mortality of several trees. First investigations revealed the presence of pathogenic fungi (*Hypoxylon* and *Ophiostoma*).

Keywords: oak forest, holm oak, pathogenic fungi

Les principales maladies des peuplements de chêne-liège et de chêne vert au Portugal

Maria Lurdes Inácio, Helena Bragança, Helena Machado, Joana Henriques, Fátima Moniz

INIAP–Estação Florestal Nacional; Departamento de Protecção Florestal, Quinta do Marquês 2780–Oeiras, Portugal. lurdes.inacio@efn.com.pt

Résumé : Le dépérissement des peuplements de chêne-liège et de chêne vert au Portugal semble être le résultat de l'action graduelle et continue de plusieurs facteurs, abiotiques et biotiques, parmi lesquels les champignons pathogènes peuvent être directement impliqués dans une séquence d'affaiblissement. Ce travail fait la synthèse des principales maladies associées aux arbres dépérissants, selon les différentes parties de l'arbre (feuillage, tronc et racines) ; il décrit la répartition temporelle de leur symptomatologie et présente des fiches descriptives pour le diagnostic de ces maladies, notamment celles provoquées par *Armillaria mellea*, *Biscogniauxia mediterranea*, *Endothiella gyrosa*, *Diplodia mutila* et *Phytophthora cinnamomi*.

Mots clés : chêne-liège, chêne vert, dépérissement, champignon pathogène

Introduction

Les prospections et observations entreprises au Portugal au cours des dernières décennies, ont montré une augmentation de la mortalité des chênes-lièges (Barros et al., 2002) et rapporté son association avec la présence de ravageurs et maladies (Sousa, 1995 ; Santos et al., 1999 ; Moreira, 2002).

Parmi les nombreux champignons détectés sur le chêne-liège au Portugal (Azevedo, 1971 ; Fonseca 1991; Santos, 1992, 1998 ; Brasier et al., 1992), plusieurs sont considérés comme pathogènes pour cette espèce : *Armillaria mellea* (Fr.) Kummer., *Biscogniauxia mediterranea* (de Not.) Kuntze, *Endothiella gyrosa* Sacc., *Diplodia mutila* Fr. apu Mont et *Phytophthora cinnamomi* Rands.

Néanmoins, dans la plupart des cas, les relations qui s'établissent entre hôte et parasites ne sont pas complètement définies. Cette complexité peut apparaître plus grande encore si on considère les associations beaucoup plus complexes qui s'établissent entre insectes, champignons et arbre hôte, comme est le cas pour *Platypus cylindrus*, responsable du transport et de l'inoculation de champignons, dont quelques-uns peuvent éventuellement être pathogènes pour le chêne-liège et même le chêne vert (Sousa et al., 1995 ; Sousa & Guedes, 1998, Santos et al., 1999).

Quoi qu'il en soit, comme le dit Shut (1992), la recherche sur ces maladies complexes n'est pas la tâche d'un seul pathologiste. Seule la collaboration entre chercheurs en travaillant dans différentes disciplines biologiques et environnementales peut conduire à une gestion réussie des complexes de maladies, comme est le cas pour le dépérissement des chênaies.

L'objectif de ce travail est fondamentalement de fournir un outil technique avec lequel, techniciens et producteurs peuvent effectuer un premier diagnostic du problème en mettant en évidence la présence éventuelle de maladies (Fig. 1 et 2). Il s'agit naturellement d'une façon simple d'aborder la question mais elle devrait permettre par la suite une identification plus rapide des facteurs en cause.

<i>Armillaria mellea</i> (POURRIDIE AGARIC)					
PRÉSENCE DANS LE PEUPLEMENT (● Presque nulle; ◆ Peau probable; ■ Très probable)	SYMPTÔMES				
		HIVER	PRINTEMPS	ÉTÉ	AUTOMNE
PLANTATION ◆ JEUNE ◆ ADULTE ◆ ARBRE VIEILLISANT ◆	MYCELIUM				
	CARPOPHORE				
	RHIZOMORPHE				

<i>Phytophthora cinnamomi</i>					
PRÉSENCE DANS LE PEUPLEMENT (● Presque nulle; ◆ Peau probable; ■ Très probable)	SYMPTÔMES				
		HIVER	PRINTEMPS	ÉTÉ	AUTOMNE
PLANTATION ■ JEUNE ■ ADULTE ■ ARBRE VIEILLISANT ◆	DÉPÉRISSEMENT				
	LÉSIONS CORTICALES				
	POURRITURE DES RACINES				

<i>Biscogniauxia mediterranea</i> (CHARBON DE LA MÈRE)					
PRÉSENCE DANS LE PEUPLEMENT (● Presque nulle; ◆ Peau probable; ■ Très probable)	SYMPTÔMES				
		HIVER	PRINTEMPS	ÉTÉ	AUTOMNE
PLANTATION ● JEUNE ◆ ADULTE ◆ ARBRE VIEILLISANT ■	SUINTEMENTS				
	PLAQUES CHARBONNEUSES				

<i>Endothiella gyrosa</i> (ROUILLE ORANGÉE)					
PRÉSENCE DANS LE PEUPLEMENT (● Presque nulle; ◆ Peau probable; ■ Très probable)	SYMPTÔMES				
		HIVER	PRINTEMPS	ÉTÉ	AUTOMNE
PLANTATION ● JEUNE ◆ ADULTE ◆ ARBRE VIEILLISANT ■	SÉCHERESSE DES RAMEAUX				
	FRUCTIFICATION				

<i>Diplodia mutila</i>					
PRÉSENCE DANS LE PEUPLEMENT (● Presque nulle; ◆ Peau probable; ■ Très probable)	SYMPTÔMES				
		HIVER	PRINTEMPS	ÉTÉ	AUTOMNE
PLANTATION ● JEUNE ● ADULTE ■ ARBRE VIEILLISANT ◆	FISSURES AU TRONC				
	CHANCRE				
	NÉCROSE				
	FRUCTIFICATION				

Figure 1. Évolution temporelle des symptômes et probabilité de présence dans le peuplement des principaux champignons pathogènes du chêne vert et du chêne-liège au Portugal

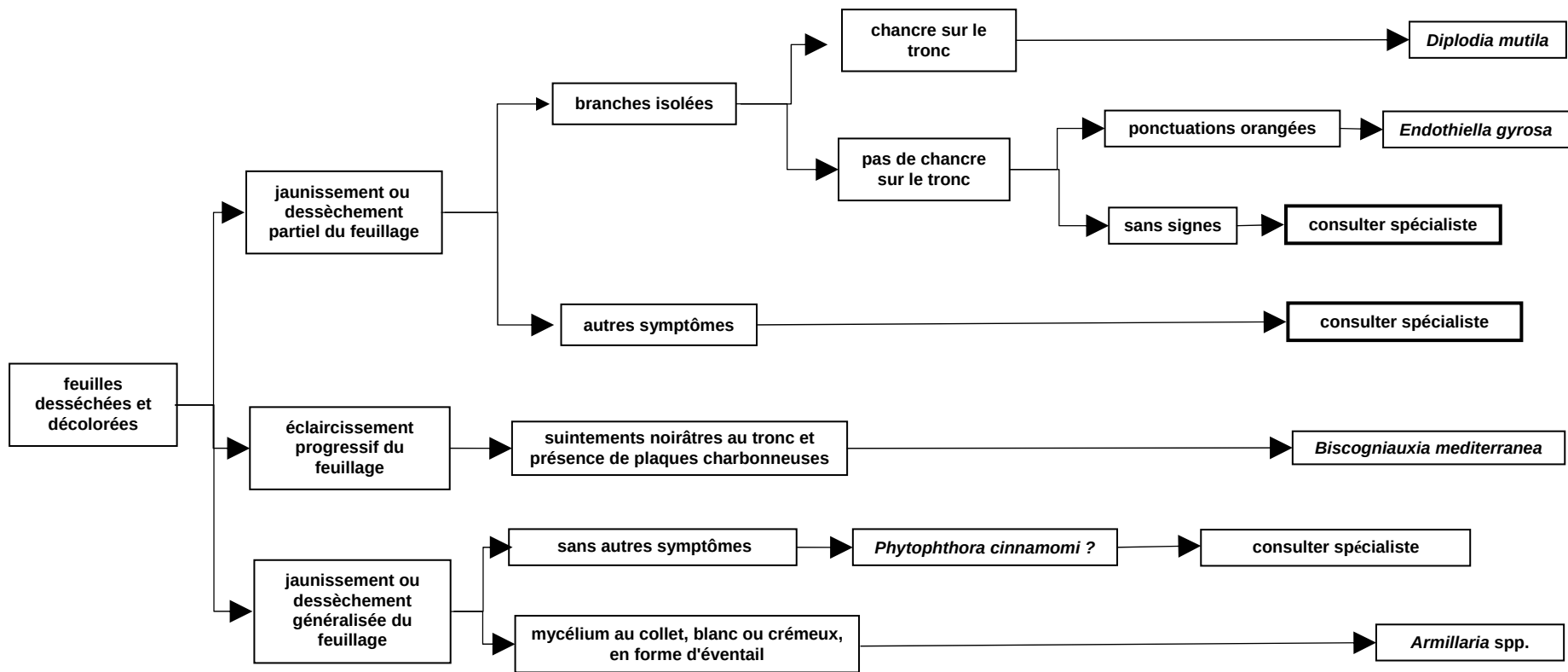


Figure 2. Clé de détermination des principales maladies du chêne vert et du chêne-liège au Portugal.

Remerciements

Les auteurs remercient Monsieur Edmundo de Sousa, de l'Estação Florestal Nacional tant pour son assistance scientifique que pour l'aide matérielle qu'il a apportée à cette étude.

Références

- Azevedo, N.S. 1971 : Forest Tree Diseases. – Direcção Geral dos Serviços Florestais e Aquícolas. Lisboa, 101 p.
- Barros, M.C ; Mateus, F. & Rodrigues, J.M. 2002 : The main regions of cork oak decline in Portugal. – IOBC/wprs Bull. 25 (5) : 17-20.
- Brasier, C.M. ; Moreira, A.C. ; Ferraz, J.F. & Kirk, S. 1992 : High mortality in Portugal associated with *Phytophthora cinnamomi*. – Proceedings of an International Congress "Recent Advances in Studies on oak decline". Selva di Fasano (Brindisi), Italy: 461-462.
- Fonseca, N.S. 1991: cancro e seca dos ramos em sobreiro e azinheira. – Floresta e Ambiente. 13 : 60.
- Moreira, C. 2002 : Distribution de *Phytophthora cinnamomi* dans les subéraies du Portugal. – IOBC/wprs Bull. 25 (5) : 41-48.
- Santos, M.N., 1992 : Micoflora do entrecasco de sobreiros em declínio. – – Actas do 2ª Encontro sobre os Montados de Sobre e Azinho. Évora. Portugal : 211-216.
- Santos, M.N. 1998 : Cork oak-*Hypoxylon mediterraneum* de Not.: pathogenicity tests. – Physiology and Genetics of Tree-Phytophage Interactions. Gujan (France). INRA Editions: 279-283.
- Santos, M.N.; Machado, M.H.; Bragança, M.H.; Ramos, H.P.; Sousa, E.M. & Tomaz, I. 1999. Micoflora associated with cork oak (*Quercus suber* L.) in Portugal. – IOBC/wprs Bull. 22 (3) : 25-28.
- Shutt, P. 1992 : Oak decline in central Europe and eastern Europe. A critical review of a little understood phenomenon. – Proceedings of an International Congress "Recent Advances in Studies on oak decline". Selva di Fasano (Brindisi), Italy: 235-239.
- Sousa, E.M. 1995 : Les principaux ravageurs du chêne liège au Portugal. Leurs relations avec le déclin des peuplements. – IOBC/wprs Bull. 18 (6) : 18-23.
- Sousa E.M.; Debouzie, D. & Pereira, H. 1995 : Le rôle de l'insect *Platypus cylindrus* (Coleoptera: Platypodidae) dans le processus de dépérissement des peuplements du chêne liège au Portugal. – IOBC/wprs Bull. 18 (6) : 43-49.
- Sousa, E.M & Guedes, M.E. 1998 : Main fungi associated with *Platypus cylindrus* F. (Coleoptera: Platypodidae) on *Quercus suber* L.: toxicity bioassays. – Les Colloques, INRA Editions, 90 : 275-279.

Principal diseases of the of cork oak and holm oak stands in Portugal

Abstract: The decline of cork oak and holm oak stands in Portugal seems to be the result of the gradual and continuous action of various biotic and abiotic factors, among which the pathogenic fungi can be directly implied in the tree weakening process. This work synthesizes the principal diseases associated with the different parts of the decaying trees (foliage, trunk and roots); it describes the temporal distribution of their symptomatology and presents descriptive tables for disease diagnostic, in particular those induced by *Armillaria mellea*, *Biscogniauxia mediterranea*, *Endothiella gyrosa*, *Diplodia mutila* and *Phytophthora cinnamomi*.

Key words: cork oak, holm oak, decline, pathogenous fungi

Influence of some abiotic factors on cork and holm oak infection caused by *Phytophthora cinnamomi*

Ana Cristina Moreira

Departimento Protecção de Plantas, Estação Agronómica Nacional, Av. da República, 2784-505 Oeiras, Portugal

Abstract: Cork oak and holm oak mortality in Portugal was notably associated with the presence of *Phytophthora cinnamomi*, a soil-borne pathogen that infects and destroys the root system, leading plant to death several years after infection. The fungus is widespread in Portugal. Soil type and other site factors might contribute to the probability of an increase in *P. cinnamomi* occurrence. The aim of this study was to investigate the interaction between infection severity and several abiotic factors such as soil type and soil water conditions in cork and holm oak plants under controlled conditions.

Keywords: *Phytophthora cinnamomi*, *Quercus suber*, *Q. rotundifolia*, decline, soil type, soil water conditions

Introduction

In Portugal, cork and holm oak decline has been observed since the end of the 19th century (Almeida, 1898). The relation between *Phytophthora cinnamomi* and oak decline was evidenced in Spain and southern Portugal, this association being favoured by alternating prolonged droughts and water-logging periods (Brasier et al., 1993). All studies noted the influence of environmental factors on *P. cinnamomi* activity. In cork oak stands, *P. cinnamomi* incidence might be influenced by some edaphic and physiographic factors (Moreira & Martins, 2004). Soils with high clay and silt contents usually yielded high *P. cinnamomi* frequencies in roots, while soil type and topography might contribute to the probability of an increase in *P. cinnamomi* occurrence. The present study aimed at analysing, under controlled conditions, the influence of two different soil types and two watering regimes on the severity of the decline induced by *P. cinnamomi* on cork and holm oak plants.

Material and methods

Two different soil types were used for soil infestation tests: “loamy sand” was a light mixture of a dry clay soil mixed with washed sand at a 1:4 ratio; “clay” was a clay soil collected in the field at a 10 to 30 cm depth, subsequently dried and sieved. Both soils were infested with seeds of *Panicum milliaceum* colonised during two weeks by *P. cinnamomi* isolates in a proportion of 60g of seeds/pot. Six-month-old cork and holm oak seedlings were transplanted in these soils concomitantly to their infestation. Controls received only sterilized seeds. Plants were subjected to flooding 2 days/per week episodes during 4 months before the treatments, which combined “soil type” (clay and loamy sand) with “watering levels” (field capacity and near wilting point). Plants were kept in the greenhouse during 11 months, at a temperature varying from 15 to 26°C . Eight plants were used by treatment. At the end of the experiment, plant weakening was assessed by root and shoot dry weight.

Results and discussion

Phytophthora cinnamomi was re-isolated from both soil samples and various diseased root fragments of the infected oak plants. This recovery demonstrates the survival of the isolates in the two soil types and the infection occurrence. Drought conditions induced a reduced root and shoot development of control plants, which were higher under field conditions (Tab. 1). Die-back of fine roots and necroses on taproots occurred in several control plants of both species, particularly under drought conditions, but in smaller proportion than in infected plants. Infected holm oak plants showed higher weakening values than cork oaks, irrespective of the treatment. This agreed with Robin et al. (1998) and Sanchez et al. (2002) who showed that holm oak is more vulnerable than cork oak to *P. cinnamomi* infection.

On most infected plants, root and shoot biomass tend to be reduced in comparison to the controls in both soils, and these differences were more evident and even significant for holm oak plants subjected to watering field capacity (Tab. 1). Clay soil greatly influenced cork oak infection. This agreed with the Stern et al. (1977) assertion that disease severity is higher with high soil water content, and soil texture is an important factor of disease expression. It also concords with our field observations: disease severity is usually higher in shallow soils rich in clay, which are common in southern Portugal (Moreira & Martins, 2004).

Table 1. Influence of two watering regimens and two soil types infested with *P. cinnamomi* on severity of cork and holm oak plants

Treatments	Cork oak plants				Holm oak plants			
	Root biomass ^a		Shoot biomass		Root biomass		Shoot biomass	
	Tested	Control	Tested	Control	Tested	Control	Tested	Control
FC/ C soil	10.9 b*	21.1 a	15.9 a	19.8 a	4.7 c	10.3 a	6.8 e	11.8 c
D/ C soil	10.7 b	13.1 b	9.5 a	15.4 a	7.6 abc	7.8 abc	8.9 de	8.9 de
FC/ LS soil	12.4 b	20.0 a	10.5 a	12.9 a	4.3 c	10.4 a	6.4 e	15.7 b
D/ LS soil	12.2 b	14.7 b	9.5 a	12.5 a	5.6 bc	8.8 ab	6.0 e	10.7 cd

FC: field capacity; D: drought; C: clay; LS: Loamy sand; a: dry weight; *: numbers followed by the same letters are not significantly different at the 5% level.

References

- Almeida, V. 1898: Àcerca dos montados de sobro. – Agric. Contemp. 8: 375-381.
- Brasier, C.M., Moreira, A.C., Ferraz, J.F.P. & Kirk, S. 1993: High mortality of cork oak in Portugal associated with *Phytophthora cinnamomi*. – In: Recent advances in studies on oak decline. Proceedings of an international congress, Bari, Italy: 461-462.
- Moreira, A.C. & Martins, J.M.S. 2004: Influence of site factors on the impact of *Phytophthora cinnamomi* in cork oak stands in Portugal (submitted to Forest Pathology).
- Robin, C., Desprez-Loustau, M.L., Capron, G. & Delatour, C. 1998: First record of *Phytophthora cinnamomi* on cork and holm oaks in France and evidence of pathogenicity. – Ann. Sci. For. 55: 869-883.
- Sánchez, M.E., Caetano, P., Ferraz, J. & Trapero, A. 2002: *Phytophthora* disease of *Quercus ilex* in south-western Spain. – For. Pathol. 32: 5-18.
- Stern, R.E., Zentmyer, G.A. & Kaufmann, M.R., 1977: The influence of matric potential, soil texture, and soil amendment on root disease caused by *Phytophthora cinnamomi*. – Phytopathology 67: 1495-1500.

First report of *Phytophthora cinnamomi* associated with *Quercus ilex* L. in nurseries in Italy

Paola Nipoti ¹, Lucio Flamini ², Anna Maria Vettraino ³, Marcello Carboni ²,
Laura Pizzichini ², Silvia Sandalo ¹, Andrea Vannini ³

¹ Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali, Università di Bologna, Bologna, Italy

² Servizio Fitosanitario Regionale, ASSAM, Agenzia Servizi Settore Agroalimentare Marche, Ancona, Italy.

³ Dipartimento Protezione delle Piante, Università degli Studi della Tuscia, Viterbo (Italy)

Abstract: Wilting and mortality of 2-year old plants of *Quercus ilex* were recently observed in some nurseries in Ascoli Piceno (Italy). Stocks showed symptoms resembling those of ink disease with dark stained necrosis of the bark at collar level. *Phytophthora cinnamomi* was frequently isolated from infected tissues. The isolates were identified by morphological traits of reproductive structures and RFLP analysis of ITS regions. Pathogenicity of the isolates to *Q. ilex* was confirmed with different methods. *P. cinnamomi* was previously reported as a pathogen of *Q. ilex* in Spanish, French and Italian natural forests. This study represents the first record of *P. cinnamomi* causing wilting and mortality of *Q. ilex* in nurseries in Italy.

Key words: *Phytophthora cinnamomi*, *Quercus ilex*, nurseries, Italy, PCR

Introduction

The genus *Phytophthora* is responsible for a number of plant diseases and most have a significant economic impact (Erwin & Ribeiro, 1996). Some species are host-specific and others display a wide range of hosts. Soil-borne phytophthoras, with few exceptions (i.e. *Phytophthora ramorum*), are the most harmful to woody hosts. Records of *Phytophthora* spp. in nurseries and nursery stocks have been frequently reported in recent years (Benson et al., 2001). One of the most harmful soil-borne phytophthoras, *P. cinnamomi*, is commonly present in nurseries on a wide range of hosts. This species may cause devastating epidemics in natural ecosystems as well as in plantations, where it is frequently introduced through infected nursery stocks. European oak are also susceptible to *P. cinnamomi*. However the most vulnerable species is holm oak, *Quercus ilex* L. (Robin et al., 2001). *P. cinnamomi* have been recorded on holm oak in Italy in natural forests (Vettraino et al., 2001a). The present paper describes the first record of *P. cinnamomi* on holm oak in nurseries in Italy.

Material and methods

Symptomatology

The observations were carried out in some nurseries in the Marche Region, in the area of Ascoli Piceno. Young holm oak plants (2 yr old) showed a red-brown discoloration at the collar, where the tissues appeared sunken with longitudinal cankers. Frequently these symptoms extended to the main roots. The crown first appeared thinner and lighter, and eventually showed apical dieback. Following the appearance of symptoms, the plants rapidly wilted and died.

Isolation and identification of the pathogen

Samples of infected tissues taken from symptomatic plants of holm oak were plated directly on selective medium PAR (CMA + antibiotics) in Petri dishes and incubated at 20°C, in the dark. Sporangia were produced by growing the isolates on carrot agar according to Chen and Zentmyer (1970). Growth patterns of *Phytophthora* isolates were studied at 20°–25°–33°C on AS, PAR, CzA, MA; Hohl-P3 and P4 (P3 contains asparagine and P4 NaNO₃).

Pathogenicity tests

Two years old holm oak stocks were challenged with the *Phytophthora* isolates through soil and stem inoculation. Pathogenicity tests were carried out according to 4 modalities: collar and soil inoculation singly, collar + soil inoculation, control plants; six replications for each. Pathogenicity tests were carried out in a greenhouse at 22°C, 12 hours light and 80-85% RH.

Results and discussion

Isolates were heterothallic, with chlamydospores abundantly formed in culture and coralloid-type mycelium. Sporangia were ovoid and non papillate. The optimal growth temperatures were 20 and 25°C on all the substrates tested. The best media were PAR, AS and P4.

Species identification was confirmed by comparison of the RFLP's patterns of ITS1-5.8S-ITS2 region of ribosomal DNA with those of known species according to Vettraino et al (2001b). On the basis of the morphological, biometric and molecular features, the isolates from infected tissues of holm oak were identified as *Phytophthora cinnamomi* Rands (Erwin & Ribeiro, 1996). Pathogenicity tests reproduced the symptoms observed in the nurseries on natural infected plants. The incidence of the symptoms was greater in the tests where both collar and soil inoculation were performed together. *P. cinnamomi* has been re-isolated from the symptomatic tissues of plants.

This is the first report of *P. cinnamomi* infecting holm oak plants in nurseries in Italy. The ability of *P. cinnamomi* to spread in different environments with great efficiency, makes the introduction of control measures warranted in order to prevent the introduction of the species in new ecosystems. Early diagnosis and periodical control of nursery stocks represent one of the most important control measures against *P. cinnamomi*. In particular, young holm oak plants are utilized for reforestation activities in Italy. The presence of infected plants from nursery stocks may allow the pathogen to be introduced in mesophilic forests with unexpected ecological consequences.

References

- Benson, D. & Von Broembsen, S. 2001: *Phytophthora* root rot and dieback. – In: Diseases of Woody Ornamentals and Trees in Nurseries. Eds. Jones and Benson, APS Press: 52-56.
- Chen, D.W. & Zentmyer, G.A. 1970: Production of sporangia by *Phytophthora cinnamomi* in axenic culture. – Mycologia 62: 397-402
- Erwin, D.C. & Ribeiro, O.K. 1996: *Phytophthora* diseases worldwide. – APS Press: 1-561.
- Robin, C. et al. 2001: Root infection by *Phytophthora cinnamomi* in seedlings of three oak species. – Plant Pathol. 50: 708-716.
- Vettraino, A.M. et al. 2001a: Occurrence of *Phytophthora* species in oak stands in Italy. – For. Pathol. 31: 1-11.
- Vettraino, A.M. et al. 2001b: Recovery and pathogenicity of *Phytophthora* species associated with resurgence of ink disease on *Castanea sativa* in Italy. – Plant Pathol. 50: 90-96.

Implanting of two experimental plots to know the behavior of seven Mediterranean oaks in soils naturally infested by *Phytophthora cinnamomi*

Juan J. Tuset ¹, C. Hinarejos ¹, J.L. Mira ¹, G. Sanchez ², M. Prieto ², A. Nuñez ²

¹Departamento de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) Moncada, Valencia, Spain.

²Ministerio de Medio Ambiente. Dirección General para la Biodiversidad. Servicio de Protección Contra Agentes Nocivos. Madrid, Spain

Abstract: The Mycological Team of IVIA and the Servicio de Protección Contra Agentes Nocivos team of MMA aimed to know the susceptibility of various *Quercus* species to the natural infection of *Phytophthora cinnamomi*. In the year 2002, two experimental plots, with similar soil and climate conditions, were established in the Parque Natural de Monfragüe (Province of Cáceres) and in the Parque Natural de los Alcornocales, La Almoraima property (Province of Cadiz), respectively: the first in an area dominated by holm oak and the second by cork oak. 2-years old seedlings of seven *Quercus* species (*Q. rotundifolia*, *Q. suber*, *Q. faginea*, *Q. pyrenaica*, *Q. petraea*, *Q. robur* and *Q. canariensis*) were disposed in rectangular plantings (1.20 x 2.50 m) arranged in complete randomized blocks. Before the seedling plantation, the soil of both plots was carefully analyzed to detect the presence of the fungus.

Key words: *Phytophthora cinnamomi*, natural infections, oak decline, *Quercus. rotundifolia*, *Q. suber*, *Q. faginea*, *Q. pyrenaica*, *Q. petraea*, *Q. robur*, *Q. canariensis*

Introduction

To study the Mediterranean *Quercus* species and the soil fungus *Phytophthora cinnamomi* relationship, the IVIA Mycological Team carried out several trials over the last eight years in order to improve the knowledge of oak decline disease (in Spanish: “seca”).

In these trials, both adult and 1-3-years old young plants were used: the first in the field (Tuset et al., 1996), the latter disposed in containers in greenhouse or in a shaded place and subjected to the action of several types of stress (flooding, drying, etc.) (Tuset et al., 2001). This research proved the great pathogenicity of *P. cinnamomi* and was also used for a first evaluation of the sensibility of five Mediterranean *Quercus* species to this soil pathogen. The artificial inoculations in the various trials were always realized with mycelium and zoospores obtained from in vitro cultures of our fungus isolates.

The parasitical processes that happen more or less spontaneously in nature, in general, behave in different way from those promoted by the man. Therefore, besides the trials in the laboratory and greenhouse, it is very important and necessary to plan also trials with the natural presence of the fungus in the soil.

To evaluate the susceptibility of the Mediterranean *Quercus* species to the natural inoculum of *P. cinnamomi*, the IVIA Mycological Team and the Servicio de Protección contra Agentes Nocivos del Ministerio del Medio Ambiente planted two experimental plots, which will be followed meticulously over the next 15 years to verify the appearance and subsequent development of the oak decline disease in the plants.

Material and methods

Experimental plots

Plot A is located in an area where the holm oak is the predominant tree, in the Parque Natural de Mofragüe (province of Cáceres): area with continental climate with rainy winters, hot and dry summers, intense illumination; it required irrigation during the first years. Plot B is located in an area where the cork oak is the basic tree, in the Parque Natural de los Alcornocales, “La Almoraima” property (province of Cadiz): area of Mediterranean climate with abundant rains in winter and springtime, and hot and dry summers, intense illumination (sunny land); it required some irrigations to aid.

Species of Quercus

Plot A: *Q. rotundifolia*, *Q. suber*, *Q. faginea*, *Q. pyrenaica*, *Q. robur* and *Q. petraea*. Plot B: the same species and besides *Q. canariensis*. All the plants employed were 2-years old.

Scheme of the plantation

The young plants were disposed in rectangular plantings (1.20 X 2.50 m) and several *Quercus* species in complete randomized blocks. Total area of the plots: A, 1200 m²; B, 1800 m². Number of plants: in the plot A, 340; in the plot B, 420.

Results and discussion

The experimentation started in the year 2002, the data collection being only recently initiated. In the two plots the young plants showed normal growth. To determine the possible fungus infection, samples of feeder roots will be collected 4-5 years after plantation. At that time, the few plant failures observed in both plots would have been caused by the transplant effect. To date, no *P. cinnamomi* infection was detected. In the two experimental plots, the normal agricultural practices (irrigations, soil works, phytosanitary treatments against insects, etc.) are carried out.

References

- Tuset, J.J., Hinarejos, C., Mira, J.L. & Cobos, J.M. 1996: Implicación de *Phytophthora cinnamomi* en la enfermedad de la “seca” de encinas y alcornoques. – Bol. San. Veg., Plagas 22: 491-499.
- Tuset, J.J., Cots, F., Hinarejos, C. & Mira, J.L. 2001: Suspensiones de zoosporas de *Phytophthora cinnamomi* que causan la “seca” en 5 especies de *Quercus* Mediterráneos. – Bol. San. Veg. Plagas 27: 103-115.

Isolation of *Phytophthora cinnamomi* in several layers of soil profiles carried out in *Quercus* areas with oak decline symptoms

Juan J. Tuset, C. Hinarejos, J.L. Mira

Departamento de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Moncada, Valencia, Spain

Abstract: *Quercus rotundifolia* and *Q. suber* are the trees that show serious symptoms of oak decline. Soil profiles have been carried out to determine the presence of *Phytophthora cinnamomi* in several soil layers. From 102 samples of soil and feeder roots, the 126 positive isolations obtained, were distributed as follows: 28 in the surface (0-30 cm), 37 in the medium (30-60 cm), 43 in the deep (60-100 cm) and 18 in the very deep layer (>100 cm). Soil humidity below 4-5% and over 20% clearly reduced the fungus isolations. In the Spanish *Quercus* areas, the *P. cinnamomi* zoospores occur more frequently in medium and deep soil layers. this normally suggests to sample these two soil layers to diagnose the oak decline disease caused by this fungus.

Key words: *Phytophthora cinnamomi*, *Quercus rotundifolia*, *Q. suber*, “seca”

Introduction

The holm oak (*Quercus rotundifolia* Lam.) and the cork oak (*Q. suber* L.) are the two *Quercus* species severely affected by oak decline (“seca” in Spanish) in Spain. *Phytophthora cinnamomi* Rands is the soil fungus associated with this disease. Its presence and distribution in the affected areas varies, and is often difficult to detect. It can complicate carrying out a good diagnosis. This unsteady behavior of the fungus is generally linked to: i) the obtention of feeder roots of the tree; ii) the soil moisture (Tuset et al., 2002). Both factors clearly influence the possibility isolating the fungus.

Due to the distribution of the deep root system and the shortage or lack of roots in the superficial soil layer, consecutive to climate alterations and human intervention (specially by soil cultivation), it is necessary to achieve near the diseased trees (drip zone) soil profiles at a higher than 100 cm depth, in order to obtain the indispensable “substratum” (feeder roots and suitable soil moisture) for *P. cinnamomi* (zoospores or chlamydospores), which improves the possibilities of isolating this fungus.

Materials and methods

The fungus isolations were always made from soil and feeder roots of trees showing oak decline symptoms. 33 soil profiles from a depth not smaller than 100 cm were carried out in damaged stands: 20 in holm oak areas and 13 in cork oak areas. A total of 102 samples were obtained from the following soil layers: superficial, 0-30 cm depth; medium, 30-60 cm; deep, 60-100 cm; very deep, over 100 cm. The samples were collected in spring and autumn in various orographic situations (plane, valley and hillside). The methodology used for the isolation of *P. cinnamomi* referred to Tuset et al. (2002).

Results and discussion

P. cinnamomi was detected with a total of 126 positive isolations (Tab. 1). The fungus isolates were obtained from all soil profiles and also in all soil layers. The number of isolations from the soil was always higher than from the feeder roots. The medium and deep soil layers held more fungus propagules than the superficial and very deep ones. As to soil moisture, the most copious isolations were obtained in the interval 5% and 15% (Tab. 2). When the soil moisture was 20% or over, a drastic reduction in the positive isolations was observed.

Table 1. Isolation of *Phytophthora cinnamomi* in the different soil layers from profiles achieved in holm oak and cork oak areas with oak decline

Soil profile		Holm oak area		Cork oak area	
Soil layer	Depth in cm	Soil	Feeder roots	Soil	Feeder roots
Surface	0 – 30	12	6	6	4
Medium	30 – 60	10	8	8	11
Deep	60 – 100	14	9	14	6
Very deep	> 100	6	4	5	3

Table 2. Isolation of *Phytophthora cinnamomi* in the different soil layers in relation to the soil moisture of profiles achieved in holm oak and cork oak areas with oak decline

Depth in cm	% soil moisture									
	Holm oak area					Cork oak area				
	0 - 5	5 - 10	10 - 15	15 - 20	> 20	0 - 5	5 - 10	10 - 15	15 - 20	> 20
0 – 30	1	7	8	1	1	1	5	3	1	–
30 – 60	3	5	4	6	–	–	7	9	2	1
60 – 100	2	7	9	4	1	–	8	9	2	1
> 100	–	5	3	1	1	–	1	5	–	2

The constant presence of *P. cinnamomi* in the *Quercus* areas with oak decline confirmed the close association of this fungus with the disease. It is necessary to carry out soil profiles to detect the fungus in many stands, since its presence is more frequent in the medium and deep soil layers than in the surface ones. Also, the soil moisture is important; for this reason it is sometimes necessary to wet the soil some days (a week approximately) before collecting samples of soil and feeder roots. So, sampling the medium and deep soil layers is almost obligatory to diagnose the oak decline caused by this fungus in Spanish conditions.

References

- Tuset, J.J., Hinarejos, C., Mira, J.L. & Cobos, J.M., 2002: Distribution of the isolations of *Phytophthora cinnamomi* in the Spanish *Quercus* areas with oak decline disease. – IOBC/wprs Bull. 25 (5): 49-52.

Studies on virus-infected cork oak (*Quercus suber* L.)

Filomena Nóbrega¹, Rui Vidal², Rita Serrano³, Raúl Sardinha⁴, Raúl Bruno de Sousa⁴

¹ Estação Florestal Nacional, Avenida da República, Quinta do Marquês, P-2780-159 Oeiras, Portugal; ² Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Avenida das Forças Armadas, P-1600-083 Lisboa, Portugal; ³ Instituto PIAGET, Centro Internacional de Epistemologia e Reflexão Transdisciplinar, Avenida João Paulo II, Lote 544-2º, P-1900-726 Lisboa ; ⁴ Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, P-1349-018 Lisboa, Portugal

Abstract: The typical forest stand of *Quercus suber* (montados) is one of the most important ecosystems in Portugal and is of great social, ecological and economical importance for rural populations; it contributes extensively to Portuguese PNB through cork production and transformation. However, over the last few decades, ecophysiological disturbances of the montados were observed. In affected areas, the decline symptoms of cork oak trees evolved by the deterioration of the crown which, starting with leaf necrosis, led some trees to sudden death. Virus particles on cork tree leaves were detected by SEM observation and partial dsDNA sequences of three different reverse transcribing-like viruses from *Q. suber* leaves were already determined. Our study aims to increase the knowledge about the infectious agents in order to better understand the cork oak decline and define suitable measures to overcome them.

Key words: virus, cork oak decline, *Quercus suber*

Introduction

One of the most important ecosystems in Portugal are the typical *Quercus suber* stands (“montados”) which have great social, ecological and economical importance for rural populations. A gradual reduction of the *Quercus* spp. area and density was observed in Portugal, mainly during the last two decades, related to the general degradation of the ecosystems and the spreading of tree decline phenomena. In the affected areas, the decline symptoms in cork trees was evidenced by crown deterioration which started by vigour loss and leaf necrosis inducing the sudden death of some trees.

The “montados” health loss in Portugal seems to depend on natural causes, anthropogenic influences, inadequate management practices and pests and disease incidence. However, correlating the abiotic or biotic factors with decline process is difficult and research results have not yet satisfactorily explained the specific causes of the phenomena. The same general decline phenomena was observed in European oak; the inducing factors involved are mainly biological agents such as fungi, bacteria or viruses. However, concerning virus-infecting oak trees, the available information is still very limited, because they are known, but not yet fully characterized; the ssRNA tobamoviruses were isolated from diseased *Quercus robur* (Sabine et al., 2003; Steinmüller et al., 2004) in Germany and the oak ringspot virus from *Quercus marilandica* and *Quercus velutina* in USA (Plant Viruses Online).

Therefore, in order to obtain more consistent knowledge about the cork oak decline process in Portugal, we initiated a polymerase chain reaction (PCR)-base screening program to detect mobile genetic elements on genomic DNA isolated from cork oak leaves. The results revealed a genetic variability due to R4-like non-LTR retrotransposons (RTns) insertions on

Quercus suber genome (Nóbrega et al., 2004) as well as the presence of at least three different types of LTR RTNs, whose partial sequences were determined. They were deposited on GenBank database under the following accession numbers: AY099465 (for a Ty1/*copia* RTn named Melmoth), AF512588 (for a Ty3/*gypsy* RTn designated as QSUGY-G1) and AY428554 (for a Tat1-like RTn also belonging to the Ty3/*gypsy*-type LTR RTNs). The last one seems to be active, and therefore able to be packaged into virus-like particles (VLPs). Aiming at elucidating this probability, we initiated another detection program of virus particles or VLPs, using scanning electron microscopic (SEM) and transmission electron microscopic (TEM) observations.

Besides confirming our already reported results concerning the presence of VLPs in cork oak leaves (Serrano et al., 2003), the present work also provides evidence, for the first time, of genomic polymorphisms due to Tat1-like RTn insertions on *Quercus suber* genomic DNA as well as the presence of unusual virus particles on leaves of diseased cork oak trees.

Methods

Isolation of nucleic acids

Total genomic DNA was extracted from leaves using Qiagen Maxi and Mini DNAeasy kits according to the manufacturer's instructions.

Detection of retrotransposon insertions

PCR amplifications were carried out with a Hybaid Express thermocycler, using Qiagen Taq PCR Master Mix kit with a set of specific gl8 gene primers (primer gl8a58, 5'-AAGAGTGTGGCGCTGCTATG-3' and primer gl8ain, 5'-CTCAGGAGGTAATGGTAG-3'). For purification and cloning of the PCR products, the following Qiagen kits were used according to the manufacturer's instructions: QIAquick-DNA extraction kit, PCR cloning ligation kit and PCR cloning transformation kit. Both strands of each of several cloned PCR products were sequenced by the sequencing services of "MWG Biotech AG" (Ebersberg, Germany).

TEM and SEM observations

For TEM observations, 5 g of infected leaves were macerated with an equal volume of sterilized water and the resulting suspension was filtrated by using a series of funnels (Duran Schott) of successive pore sizes (40-100 µm, 16-40 µm and 10-16 µm). The final fluid was centrifuged for 15 mn at 14000xg and the pellet then stained by standard TEM techniques before observation. For SEM observations, a few fresh infected *Q. suber* leaves showing disease symptoms were stored overnight at -20 °C and then ground in liquid nitrogen with a pestle and mortar. The resulting powder was coated with gold and examined with a JEOL scanning electron microscope (JSM-5220 LV, 15 kV).

Results and discussion

Q. suber genetic variability due to Tat1-Like insertions

Since the Tat1-like RTn above mentioned seems to be an active genetic element, total genomic DNA was isolated from each one of 17 cork oaks, and directly amplified by PCR using the primer pair gl8. The results showed multiple products on each PCR profile. However, the 249 bp PCR product, corresponding to the Tat1-like RTn partial sequence (GenBank AY428554), was only present on 5 of them (Fig. 1, lanes 1, 2, 4, 5 and 15) although with different yields.

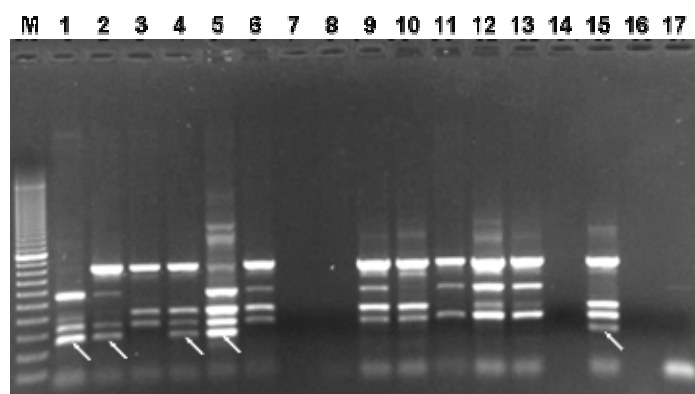


Figure 1. 0,8% AGE of PCR products amplified from the genomic DNA templates, isolated from 17 cork oaks. The position of the 249 bp PCR product, corresponding to the Tat1-like RTn partial sequence, is indicated by an arrow. Lane M – 100 bp DNA Ladder

This means that some of the genetic variabilities previously observed on *Q. suber* genomic DNAs could in fact also be due to active Tat1-like RTn insertions, because retrotransposition is an irreversible process resulting in insertions of RTns without loss of the parental copies. Otherwise, in the case of an inactive element, it would be either present or absent on all of the investigated DNA templates.

TEM and SEM observations

As active RTns propagates via a mRNA intermediate which is then reverse-transcribed and packaged into VLPs (Suoniemi et al., 1998), TEM observations were performed as indicated, to confirm or nullify the putative Tat1-like RTn activity. The results demonstrated the presence of abundant VLPs approximately isometric, about 20 nm in diameter, on the infected *Q. suber* leaves, either as aggregated or individual particles (Fig. 2). However, further studies are presently in progress for a definitive validation of these observations, in order to know whether any of the nucleic acid components of the observed VLPs corresponds to an active Tat1-like RTn element.

Meanwhile, SEM observations were also carried out on diseased *Q. suber* leaves. Unexpectedly, the results showed the presence of 5-6 giant, unusual rod-shaped virus particles about 2-3 μm in length, with a rounded end and the other flattened, emerging from a broken, putative proteinaceous occlusion body (Fig. 3).

As those virions had some resemblance to the viral particles characterised as Baculovirus (a virus often found on cork oak but not pathogenic for the tree), total nucleic acid extracts were obtained from another set of partially purified viral preparations corresponding to the viral particles shown in figure 3. These particles were digested with DNase I as well as RNase A according to standard procedures, and the resulting products split by AGE. The results apparently revealed that these particles may harbour a supercoiled DNA (cccDNA) since its nucleic acid component was DNase I sensitive, but they showed a much slower relative electrophoretic mobility (REM) after the RNase A digestion.

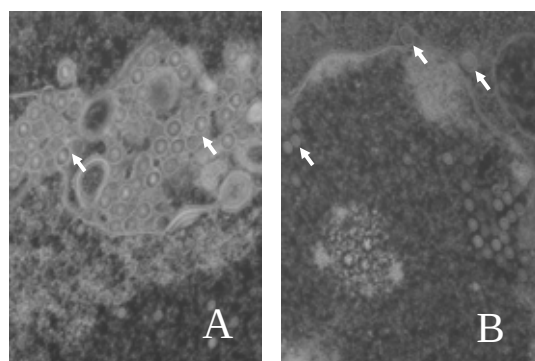


Figure 2. TEM observations on the final fluid of macerated *Q. suber* leaves showing aggregates of VLPs (A) and individual VLPs (B)



Figure 3. SEM observation on diseased *Q. suber* leaves showing 5-6 rod-shaped virus particles with a flattened end (arrow)

Therefore, this REM, shifted from 9.4-23 kb to more than 100 kb, could be due to a single cccDNA genome such as reported for the nucleopolyhedroviruses of the Baculoviridae family, which contain a total genome length of 90-165 kb. However, the remaining morphological features of the observed viral particles are not those of the nucleopolyhedroviruses, since they possess 2-3 µm in length and one flattened end (a typical characteristic of the cytorhabdoviruses that harbour a negative-sense single-stranded RNA genome).

Consequently, does this mean that a new type of virus, not yet reported, was found on *Q. suber* leaves? Studies are in progress in order to elucidate this situation.

Conclusions

Based on these results, the major conclusions are as follows:

1. Some of the *Quercus suber* genetic variability could be due to the active Tat1-like RTn because of VLPs detected on diseased cork oak leaves;
2. An apparent new type of giant, unusual virus, not yet reported but with some resemblances to nucleo-polyhedroviruses and cytorhabdoviruses, was also found on diseased cork oak trees;
3. To date, No tobamovirus particles were detected on the Portuguese cork oak leaves, contrary to the situation reported for diseased *Quercus robur* in Germany.

References

- Sabine, H., Bandte, M., Obermeier, C. & Büttner, C. 2003: Investigation on virus-diseased European oak (*Quercus robur* L.). – In: 8th International Congress of Plant Pathology, Christchurch, New Zealand, 2-7 February 2003.
- Steinmüller, S., Bandte, M. & Büttner, C. 2004: Investigations into the pathogen of chlorotic ring spots on oak trees (*Quercus robur*). – *Gesunde Pflanzen* 56 (1): 11-16.
- Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. – In: Image.fs.uidaho.edu/vide/refs.htm.
- Nóbrega, F., Vidal, R., Sardinha, R. & Bruno de Sousa, R. 2004: Retrotransposons as sources of *Quercus suber* genetic variabilities. – In: 31rd Jornadas Portuguesas de Genética, Oeiras, Portugal, 5-6 February 2004.
- Serrano, R., Nóbrega, F. & Vidal, R. 2003: Detection of viral particles on *Quercus suber* L. leaves: preliminary results. – In: Congresso Nacional de Microbiologia, Micro-2003, Tomar, Portugal, 29 November-2 December 2003.
- Suoniemi, A., Tanskanen, J. & Schulman, A. H. 1998: Gypsy-like retrotransposons are widespread in the plant kingdom. – *Plant J.* 13 (5): 699-705.

Le développement de champignons, un facteur limitant la conservation à long terme des glands de chêne-liège (*Quercus suber* L.)

Hachemi Merouani¹, Roman Trubat², Maria João Lourenço¹, Teresa Sampaio¹,
Maria de Lourdes Santos³, Jordi Cortina², João Santos Pereira¹, Maria Helena Almeida¹

¹ Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia (ISA), Tapada de Ajuda
1349-047 Lisboa Cedex, Portugal, hmerouani@isa.utl.pt

² Depto. de Ecología. Universita de Alicante. Ap. 99 03080 Alicante, Spain

³ Estação Florestal Nacional, Quinta do Marquês, Oeiras, Portugal

Résumé: Dans le cadre d'un accord entre le Centre de Recherche Forestière (ISA, Portugal) et l'Université d'Alicante, nous avons testé le comportement germinatif des glands de *Quercus suber* initialement traités par thermothérapie et conservés durant 5 (5MC) ou 17 mois (17MC) à 0 °C et à 85% d'humidité relative. L'analyse morphologique et physiologique des glands a été faite à huit niveaux différents au cours du processus de germination, le niveau 0 (témoin) correspondant à la sortie des glands de la chambre de conservation. Les résultats montrent que le développement de champignons sur les glands de 17MC a entraîné une réduction significative de leur germination. En effet, au 16^{ème} jour de germination 18% des glands 17MC présentaient des mycéliums, bien que 42% aient déjà germés. A la fin du test (28^{ème} j), l'attaque fongique avait atteint des valeurs critiques de 40%. L'attaque est localisée au niveau des glands et non due à une contamination du substrat de culture. L'augmentation de la teneur en eau de l'embryon au cours de la germination et le test au tetrazolium des glands non germés ont montré que 75% des glands de 17MC étaient viables. Au contraire, aucune contamination n'a été notée sur les glands de 5MC, la germination étant significativement plus rapide et plus groupée ; elle atteignait 96% au 16^{ème} jour. À la fin du test, 71% des glands 5MC avaient émis un épicotyle. La comparaison avec des résultats antérieurs permet de conclure à l'inefficacité de la thermothérapie après plus de 12 mois de conservation.

Mots-clés: conservation des glands, germination, émergence des semis, champignons, *Quercus suber*

Introduction

L'importance socio-économique et écologique du chêne-liège (*Quercus suber* L.) nous incite à augmenter les efforts en vue de la réhabilitation des subéraies. Les problèmes dont souffrent les subéraies sont encore nombreux et peuvent être divisés en deux groupes interdépendants.

Le premier, difficilement contrôlable, englobe les problèmes liés: *i-* à la physiologie et écologie de l'arbre, comme le vieillissement et l'irrégularité des glandées (Sork & Bramble, 1993), *ii-* aux contraintes biotiques et abiotiques empêchant la régénération naturelle (Lorimer et al., 1994; Herrera, 1995; ASMRFC, 1998), notamment la déprédation exercée sur les glands par les champignons et les insectes, et les conséquences de la sécheresse (Cabral et al., 1993; Crawley & Long, 1995; Fuchs et al., 2000), et *iii-* au dépérissement des peuplements. Ce dernier problème a attiré l'attention de nombreux chercheurs, et en particulier celle des phytopathologistes, au cours de ces dernières années. Les activités humaines (gestion, incendies, déboisement, pâturage, etc...), considérées comme l'une des principales causes de la régression des subéraies (ASMRFC, 1998), entraînent une fragilisation des peuplements qui deviennent des foyers de prédilection pour différents agents antagonistes (champignons, bactéries, insectes).

Le second aspect lié à l'insuccès de la reforestation peut être surmonté par un recours à la régénération assistée. La régénération du chêne-liège par voie séminale, qu'elle soit artificielle (semi-directe) (Messaoudene, 1984 ; Sondergaard, 1991 ; Louro, 1999) ou naturelle (Díaz-Fernandez & Gil Sanchez, 1998 ; Hasnaoui, 1998 ; Messaoudene et al., 1998) demeure problématique. La lenteur de germination des glands frais augmenterait le risque de mortalité (dessiccation, attaque fongique, insectes) ou/et de prélèvement par les rongeurs (Merouani et al., 2001a, b ; 2003). Durant les dernières décennies, la régénération des subéraies par plantation a pris une place importante dans les projets de repeuplement des différents pays méditerranéens (projets nationaux, européens et de coopération). Cependant, pour ne citer que le Portugal, les plantations réalisées dans la région Sud ont conduit à des mortalités de plus de 50% (Louro, 1999). La qualité des plants (Aussenac et al., 1988 ; Tinus, 1996 ; Girard et al., 1997 ; O'Reilly et al., 1999), mais aussi les sites de plantation (M.H. Almeida, com.pers.) conditionnent le succès des plantations.

Nous avons démontré que la qualité des plants (rapidité-uniformité de l'émergence, potentiel de croissance, réserves, biomasse, rapport tige/racine) est significativement améliorée par la conservation des glands (Merouani et al., 2001b) et que le choix de leur période de production, de leur âge mais aussi de l'époque de leur installation peuvent être contrôlés (Merouani et al., 2001a, b). Des travaux récents (non publiés) montrent que le comportement germinatif des glands conservés à long-terme (25 mois) est affecté par la prolifération des champignons dans le milieu de culture.

La présente étude vient confirmer cet effet négatif en démontrant que la faible capacité germinative des glands conservés est due aux champignons présents à l'intérieur des glands à leur sortie de la chambre de conservation et non à la contamination du milieu de culture, comme on le suspectait dans le précédent travail.

Matériel et méthodes

Matériel végétal et protocole expérimental

Des lots de glands frais ont été récoltés à Herdade da Palma, Alcácer do Sal (Portugal) en novembre 2002 et 2003, traités par thermothérapie et conservés à 0°C et 85% d'humidité relative (HR) dans des sacs de polyéthylène (30 µm d'épaisseur, ≈3 kg/sac). Les caractéristiques climatiques du site de récolte, le mode de manipulation et de conservation des glands sont détaillés par Merouani et al. (2001a, c). En avril 2004, après respectivement 17 (17MC) et 5 mois (5MC) de conservation, 18 kg de glands (6 sacs, N ≈ 2200 glands) pour chaque traitement (17MC et 5MC) ont été retirés de la chambre de conservation en vue d'analyser leur comportement germinatif. A la sortie de la chambre, les glands ont été triés à vue et par flottement sur l'eau, pour éliminer ceux qui paraissaient inutilisables (pré-germés, vides, attaqués par les champignons). Seuls les glands intacts (sans rupture de péricarpe) ont été pris en compte dans l'expérimentation.

La capacité germinative des 2 lots de glands conservés a été étudiée 3 fois/semaine durant tout le processus de germination (28 jours), par des observations de leur état morphologique, le calcul du pourcentage de germination et la mesure de la teneur en eau du gland entier et de ses différentes composantes (péricarpe, cotylédons, axe embryonnaire). Au total, 8 étapes représentatives de ce processus ont été considérées. L'état physiologique des glands intacts (I=100%) est le niveau 0 (témoin T); les autres correspondent au moment où plus de 20% des glands ont atteint un état physiologique donné ou que ce dernier devient significatif (environ 50% des glands sont concernés) (Fig. 1).

Teneur en eau

La teneur en eau (TE) des glands entiers et de leurs composantes a été déterminée après 17h de séchage à $103 \pm 1^\circ\text{C}$ (PS : poids sec) (ISTA, 1985). Trois répétitions de 25 (glands entiers) et de 10 glands (composantes) ont été utilisées. TE, exprimée par rapport au poids frais (PF), a été calculée par la formule:

$$TE(\%) = \frac{PF - PS}{PF} \times 100$$

Germination

La germination des lots de glands a été conduite sur 10 répétitions de 1 120 glands chacune. Les glands, d'abord imbibés pendant 48 heures à 20°C , sont désinfectés 10 à 15 mn dans une solution de chlorure de sodium à 80% puis mis à germer dans du sable stérile ($200^\circ\text{C}/2\text{h}$), maintenu humide durant 28 jours à 20°C et à l'obscurité. Nous considérons qu'un gland germe dès que la radicule perce le péricarpe et montre un géotropisme positif. A la fin de l'expérience, la viabilité des glands (lot 17MC) non germés (glands intacts et glands à péricarpe à peine rompu) a été analysée par la méthode classique de tetrazolium (ISTA, 2003).

Résultats et discussion

Pertes de glands après 5 et 17 mois de conservation

Les pertes totales apparentes (glands pré-germés, vides et attaqués) sont présentées dans le tableau 1. Elles sont plus importantes pour les glands 17MC (11% environ) que pour les 5MC (3%). Aucune contamination apparente n'est observée sur les glands de 5MC, alors que 3% des 17MC présentaient des mycéliums en surface. Cette infection, bien que faible, nous semble préoccupante. Elle montre un développement de champignons durant la conservation, bien qu'un traitement thermique (thermothérapie) préalable ait été appliqué contre *Ciboria batschiana* (Delatour, 1977 : Delatour & Morelet, 1979 ; Delatour et al., 1982). L'analyse des glands intacts juste à leur sortie de la chambre de conservationa montré que les champignons, apparaissant sous forme de petites tâches brunâtres, sont localisés principalement du côté basal des cotylédons (côté hile); un taux d'infection initial d'environ 30% (17MC) et 4% (5MC) a été noté (données non reportées). Bonnet-Masimbert & Muller (1993) ont tenté de comprendre l'apparition de champignons sur des glands conservés dans des sacs de polyéthylène sellés. Dans des conditions de faible teneur en $[\text{O}_2]$ et de forte teneur en $[\text{CO}_2]$, on suspecte le développement de *Cylindrocarpon didymum* (Guthke & Spethmann, 1993). Cependant, nous n'avons observé aucun développement de champignons sur les glands conservés durant 12-13 mois (non publié). Ces résultats suggèrent que la thermothérapie est inefficace, même à 44°C durant 2 heures (Branco et al., 2002), au-delà d'une année de conservation en sacs de polyéthylène sellés.

Schröder (2002) a rapporté la fréquence des problèmes d'infection observés ces dernières années en Europe sur les glands de *Q. robur* et *Q. petraea* ; il l'explique par une plus grande extension des agents pathogènes ou par l'adaptation de certains d'entre eux aux fortes températures. En 2004, Schröder estimait (après 7 jours d'incubation, à l'obscurité et $10-20^\circ\text{C}$) la présence à plus de 80% de *C. batschiana* et à 31-50% l'infection due à l'association bactéries-champignons sur les glands de *Q. robur*. En conditions favorables, *C. batschiana* peut détruire une grande proportion de glands durant la conservation (Delatour et al., 1982).

A cette infection apparente, s'ajoutent 5% de pertes dues à la déshydratation et 3% dues à la pré-germination des glands à l'intérieur des sacs de conservation. Le total de glands utilisables, après élimination de ceux présentant une rupture du péricarpe, avoisine 90% (17 kg) et 83% (15 kg) pour 5MC et 17MC, respectivement (Tab. 1).

Tableau 1. Quantité de glands perdus (pré-germés, attaqués par les champignons ou vides), à péricarpe rompu ou utilisables après 5 mois (5MC) et 17 mois de conservation (17MC)

N° sacs	Poids (kg)		Pré-germés (kg)		Infectés (kg)		Vides (kg)		Péricarpe rompu (kg)		Utilisables (kg)	
	5MC	17MC	5MC	17MC	5MC	17MC	5MC	17MC	5MC	17MC	5MC	17MC
1	3	3	0,1	0,1			0	0,1	0,1	0,1	2,8	2,5
2	3,1	3,1	0	0,1			0	0,1	0,3	0	2,7	2,4
3	3,1	3	0	0			0	0,2	0,3	0	2,7	2,4
4	3,1	3,1	0	0,1			0	0,4	0,2	0	2,9	2,4
5	3	3,1	0,1	0,1			0	0,1	0,3	0,1	2,7	2,7
6	3,1	3,1	0	0,1			0	0,2	0,3	0	2,8	2,8
Total (kg)	18,4	18,4	0,2	0,5	0,1	1	0	1,1	1,5	0,2	16,6	15,2
Total %	100	100	1,1	2,7	0,5	5,4	0	6,0	8,2	1,1	90,2	82,6

Comportement germinatif des glands conservés

Les différences de comportement germinatif des lots de glands conservés (17MC et 5MC) sont présentées dans le tableau 2. Les plus importantes correspondent à l'apparition de champignons et à la faible capacité germinative des glands conservés durant 17 mois. En effet, 50% des glands 5MC ont émis une radicule ($G < 5$) dès le 10^{ème} jour de culture et 71% ont présenté une émergence d'épicotyle à la fin du processus de germination; aucune contamination par les champignons n'a été observée. Au contraire, au 16^{ème} jour de culture, seuls 42% des glands 17MC avaient germé et 18% présentaient déjà des mycéliums de champignons. Ces derniers ont proliféré graduellement jusqu'à atteindre 38% des glands à la fin de l'expérience, rendant difficile le comptage de glands germés (Fig. 1). Avant que l'infection fongique ne prolifère dans le milieu de culture, on a constaté que l'apparition des mycéliums se limitait exclusivement aux glands, ce qui montre que l'origine de l'infection fongique est endogène et non exogène. Au cours de la germination, la température et l'humidité ont favorisé la croissance des champignons et la prolifération de l'infection initiale à l'ensemble du lot.

À la fin de l'expérience, l'analyse au tétrazolium des glands non germés du lot 17MC, comptabilisant 12% de I (intacts) et 22% de RP (rupture du péricarpe), a permis d'estimer à 25% le total des glands non viables (Tab. 2). Par conséquent, à la sortie de la chambre de conservation, 75% des glands étaient viables, donc aptes à germer et à donner une plantule.

Par ailleurs, l'augmentation significative de la teneur en eau (TE) de l'embryon (Fig. 2) au cours de la germination, signifie que les glands des 2 traitements sont métaboliquement actifs. Cette activité métabolique confirme la viabilité des glands 17MC. Néanmoins, elle est moins intense pour les glands 17MC que pour les 5MC. En effet, la TE de l'embryon augmente significativement après 2 jours de germination pour les glands de 5MC et après 10 jours pour les 17MC (Fig. 2).

Ces résultats suggèrent donc que la réduction du taux final de germination (42%) observée pour les glands 17MC était due principalement à la prolifération de l'infection fongique dans le milieu de culture.

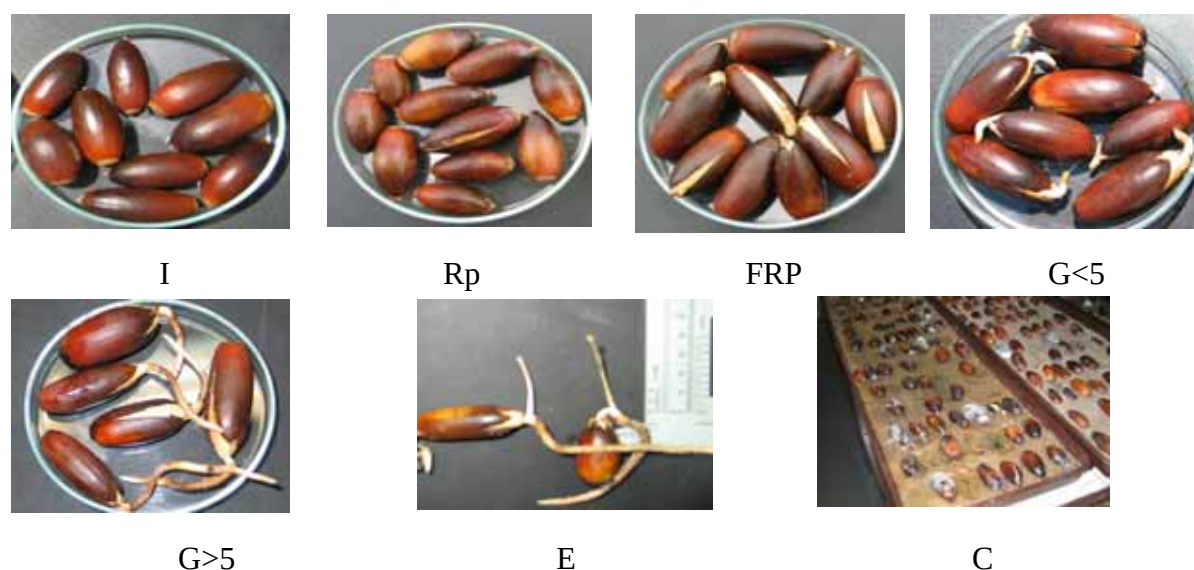


Figure 1. Les différents états physiologiques des glands durant le processus de germination.
 I: Intact; RP: Rupture du péricarpe; FRP: Forte rupture du péricarpe; G<5: Germination (radicule < 5 mm); G>5: Germination (radicule > 5 mm); E: Emergence; C: Champignons.

Tableau 2. Niveaux (N) et pourcentage de glands conservés (5MC et 17MC) ayant atteint un état physiologique donné durant le processus de germination.

I: Intact; **RP**: Rupture du péricarpe; **FRP**: Forte rupture du péricarpe; **G<5**: Germination (radicule < 5 mm); **G>5**: Germination (radicule > 5 mm); **E**: Emergence; **C**: Champignons. Les états soulignés interviennent dans la détermination de TE et des autres paramètres biochimiques

	Imbibition (20-25°C)			Germination (20°C, sable stérile, obscurité, 28 jours)				
	N 0	N I	N II	N III	N IV	N V	N VI	N VII
	0 jour (T)	1 jour (I1j)	2 jours (I2j)	7 jours (G7j)	10 jours (G10j)	16 jours (G16j)	21 jours (G21j)	28 jours (G28j)
5MC	100% <u>I</u>	84% <u>I</u>	40% <u>I</u>	17% I	8% I	4% I	4% I	4% I
		16% RP	60% <u>RP</u>	69% <u>FRP</u>	43% FRP	60% G<5	15% G<5	9% G<5
				15% G<5	49% <u>G<5</u>	36% <u>G>5</u>	58% G>5	16% G>5
17MC							23% E	71% <u>E</u>
	100% <u>I</u>	74% <u>I</u>	57% <u>I</u>	57% <u>I</u>	25% I	17% I	13% I	12% I
		26% RP	43% <u>RP</u>	34% RP	47% <u>RP</u>	23% RP	22% RP	22% RP
				11% G<5	28% G<5	33% <u>G<5</u>	23% G<5	24% <u>G>5</u>
						9% G>5	13% G>5	38% C
						18% C	29% C	4% E

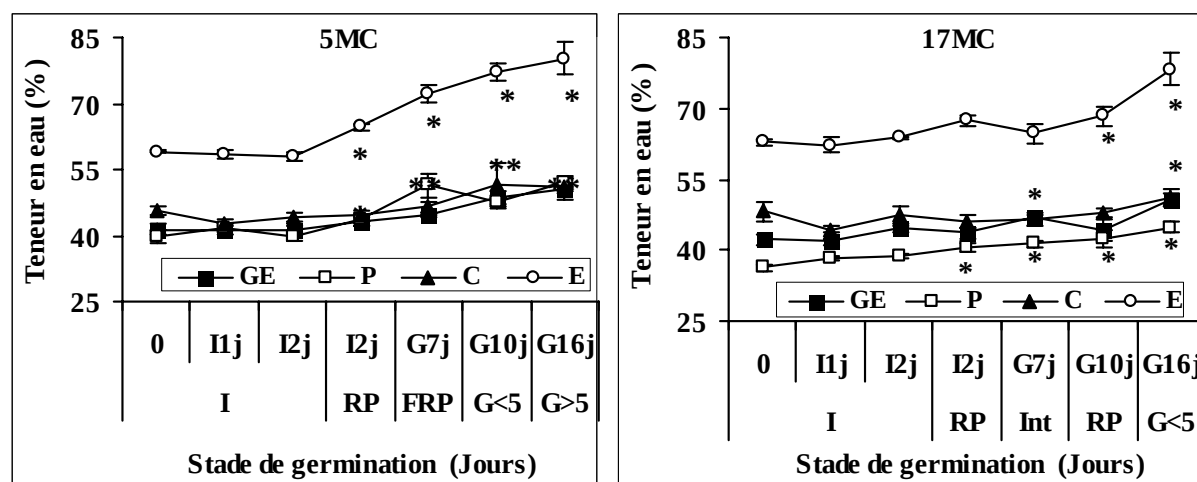


Figure 2. Evolution de la teneur en eau des glands entiers (GE), du péricarpe (P), des cotylédons (C) et de l'embryon (E) durant la germination des glands conservés durant 5 mois (5MC) et 17 mois (17MC) au froid (0°C) humide.

Conclusion

La conservation à long terme des glands, une alternative au succès de la reforestation des subéraies, est compromise par le développement des champignons après 17 mois de conservation au froid (0°C) humide dans des sacs de polyéthylène (30 µm d'épaisseur). La prolongation de la durée de conservation des glands dépend de la résolution de ce problème pathogénique complexe (endogène).

Remerciements

Nous remercions toutes les parties (FAIR5 CT97-3480; CREOAK, QLRT-2001-01594; FCT) qui ont participé aux financements de ce travail. Nous tenons à remercier vivement la Station Forestière Nationale (EFN, Oeiras) avec une mention particulière pour le Laboratoire d'Analyses des Semences qui ont collaboré avec leurs infrastructures.

Références

- ASMRF, Actes du Séminaire Méditerranéen sur la Régénération des Forêts de Chêne Liège, 1998 : Tabarka 22-24 Octobre 1996, Annales de l'INRGREF, N° spécial, 259 p.
- Aussenac, G., Guehl, J.M., Kaushal, P. Granier, A. & Grieu, Ph. 1988: Critères physiologiques pour l'évaluation de la qualité des plants forestiers avant plantation. – Rev. For. Fr. 40: 131-139.
- Bonnet-Masimbert, M. & Muller, C. 1993: Storage of acorns: limits and recent breakthroughs. – In: Anonymus: Internationales Symposium uber Forstsaatgut. 8-11 June 1993 Münster, Uelzen Proceeding: 119-130.
- Branco, M.; Branco, C., Merouani, H. & Almeida, M.H. 2002: Germination success, survival and seedling vigour of *Quercus suber* acorns in relation to insect damage. – For. Ecol. Manag. 166: 159-164.

- Cabral, M.T., Lopes, F. & Sardinha, R.A. 1993: Determinação das causas de morte do sobreiro de Santiago do Cacém, Grândola e Sines. Relatório de síntese. – Silva lusit. 1(1): 7-24.
- Crawley, M.J. & Long, C.R. 1995: Alternate bearing, predator satiation and seedling recruitment in *Quercus robur* L. – J. Ecol. 83: 683-696.
- Delatour, C. & Morelet, M. 1979: La pourriture noire des glands. – Rev. For. Fr. 31 : 101-115.
- Delatour, C. 1977: Recherche d'une méthode de lutte curative contre le *Ciboria batschiana* (Zopf) Buchwald chez les glands. – Eur. J. For. Pathol. 8 : 193-200.
- Delatour, C., Muller, C. & Bonnet-Masimbert, M. 1982: Progress in acorn treatment in a long term storage prospect. – In: IUFRO Working party on seed problems. Proceedings of the international symposium on forest tree storage, Septembre 23-27, 1980, ed Wang and Pitel, Petawa National Forest Institute. Canadian Forest Service: 126-133.
- Diáz-Fernandez, P.M & Gil Sanchez, L. 1998: La régénération naturelle dans les peuplements marginaux de chêne-liège. – In : Actes du séminaire méditerranéen sur la régénération des forêts de chêne-liège, Tabarka 22-24 Octobre 1996. Ann. INRGREF, N° spécial : 22-34.
- Fuchs, M.A., Krannitz, P.G. & Harestad, A.S. 2000: Factors affecting emergence and first-year survival of seedlings of Garry oaks (*Quercus garryana*) in British Columbia. – Can. For. Ecol. Manage. 137: 209-219.
- Girard S., Clément, C., Boulet-Gercourt, B. & Guehl J.M. 1997: Effects of exposure to air on planting stress in red oak seedlings. – Ann. Sci. For. 54: 395-401.
- Guthke, J. & Spethmann W., 1993: Physiological and pathological aspects of long-term storage of acorns. – Ann. Sci. For. 50 (suppl. 1): 384-387.
- Hasnaoui, B. 1998 : Régénération naturelle du chêne-liège: difficultés et proposition de solutions. – In : Actes du séminaire méditerranéen sur la régénération des forêts de chêne-liège, Tabarka 22-24 Octobre 1996, Ann. INRGREF, N° spécial : 126-147.
- Herrera, J. 1995 : Acorn predation and seedling production in a low-density population of cork oak (*Quercus suber* L.). – For. Ecol. Manage. 76: 197-201.
- ISTA, International Rules for Seed Testing 1985: Determination of moisture content. – Seed Sci. Techn. 13: 338-341.
- ISTA, International Rules for Seed Testing 2003: Biochemical test for viability. The topographical tetrazolium test. Annexe to Chapter 6: Tetrazolium Test 6A-1.
- Lorimer, C.G., Chapman, J.W. & Lambert, W.D. 1994: Tall understorey vegetation as a factor in the poor development of oak seedlings beneath mature stands. – J. Ecol. 8: 227-237.
- Louro, G. 1999: Avaliação da aplicação de programas de apoio à floresta na região do algarve. – Direcção Geral das Florestas (DGF-Lisboa), Portugal, 29 p.
- Merouani, H., Apolinário, L.M., Almeida, M.H. & Pereira, J.S. 2003: Maturation and acquisition of desiccation tolerance in acorns of cork oak (*Quercus suber* L.). – Seed Sci. Techn. 31: 111-124.
- Merouani, H., Branco, M., Almeida, M.H. & Pereira, J.S. 2001a: Comportement physiologique des glands de chêne-liège (*Quercus suber* L.) durant leur conservation et variabilité inter-individus producteurs. – Ann. For. Sci. 58: 143-153.
- Merouani, H., Branco, M., Almeida, M.H. & Pereira, J.S. 2001b: Effects of acorn storage duration and parental tree on emergence and physiological status of cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings. – Ann. For. Sci. 58: 543-554.

- Merouani, H., Branco, M., Almeida, M.H. & Pereira, J.S. 2001c: Management and long-term storage of cork-oak acorns. – In : A practical handbook, Priod, Monteleone & Belletti, DIVAPRA, University of Turing, Italy: 23 p.
- Messaoudène, M., Metna, B. & Djouaher N. 1998: La régénération naturelle de *Quercus suber* L. dans la forêt domaniale des Beni-Ghobri (Algérie). – In : Actes du séminaire méditerranéen sur la régénération des forêts de chêne-Liège, Tabarka 22-24 Octobre 1996, Ann. INRGREF, N° spécial: 73-86.
- Messaoudene, M. 1984 : Résultats des essais de semi-directs du chêne liège à Melata. – Rapport interne. Institut National de Recherche Forestière (INRF-Algérie): 10.
- O'Reilly, C., McCarthy, N., Keane, M., Harper, C.P. & Gardiner, J.J. 1999: The physiological status of Douglas fir seedlings and the field performance of freshly lifted and cold stored stock. – Ann. For. Sci. 56: 391-402.
- Schröder, T. 2002: On the geographic variation of *Ciboria batschiana* (Zopf) Buchwald, the main pathogenic fungus on acorns of *Quercus robur* and *Q. petraea* in Europe. – Dendrobiol. 47 (suppl.): 13-19.
- Schröder, T., Kehr, R., Procházkova, Z. & Sutherland, J.R. 2004: Practical methods for estimating the infection rate of *Quercus robur* acorn seedlots by *Ciboria batschiana*. – For. Path. 34: 187-196.
- Sondergaard, P. 1991: Essais de semis du chêne-liège *Quercus suber* L. dans la forêt de Bab-Azhar, une subéraie de montagne au Maroc. – Ann. Rech. Forest. Maroc 25:16-29.
- Sork, V.L. & Bramble, J.E. 1993: Prediction of acorn crops in three species of North American oaks: *Quercus alba*, *Q. rubra* and *Q. velutina*. – Ann. For. Sc. 50 (suppl. 1): 128-136.
- Tinus, R.W. 1996: Root growth potential as an indicator of drought stress history. – Tree Physiol. 16: 795-799.

Fungus development, a factor limiting the long-term storage of cork oak acorns

Abstract: With agreement between the Forest Research Center (ISA, Portugal) and the University of Alicante, a study was performed to test the germination of *Quercus suber* acorns treated by thermotherapy before being stored during 5 (5MC) or 17 months (17MC) at 0 °C and 85% of relative humidity. Morphological and physiological analyses were made at 8 different levels during the germination process, level 0 (control) corresponding to the moment at which acorns were kipped from the storage chamber. Results showed a significant development of fungi on 17MC-acorns, which led to a significant reduction in germination. Indeed, after the 16 day germination, 18% of the 17MC-acorns presented myceliums, although 42% were already germinated. At the test end (28th day), the fungal attack reached the critical values of 40%. The fungi attack was localized on the acorns and did not depend on medium contamination. The increase of embryo moisture content and Tetrazolium test demonstrated that 75% of 17MC acorns were viable. No fungi development was observed on 5MC acorns. Germination of 5M-acorns was significantly faster and uniform; at 16th day testing, germination reached 96%. At the end of the test, 71% of 5MC-acorns showed an epicotyl emergence. Comparisons with previous results concluded thermotherapy inefficiency after more than 12 months storage.

Key words: acorn storage, germination, seedling emergence, fungi, *Quercus suber*

Comparaison de la bio-écologie et du comportement de *Platypus cylindrus* F. (Coléoptère, Platypodidae) dans les subéraies portugaises et marocaines

Edmundo de Sousa¹, Maria Lurdes Inácio¹, Salwa El Antry², Mustapha Bakry², Zineb Atay Kadiri³

¹ Station Forestière Nationale, Oeiras, Portugal

² Division de Recherches et Expérimentations Forestières, Rabat, Maroc

³ Faculté des Sciences Université Mohamed V, Agdal, Rabat, Maroc

Résumé : L'étude a été réalisée dans les deux pays pour mieux connaître la biologie de *Platypus cylindrus*, sa répartition, son comportement et ses interactions avec les champignons symbiotiques. Le protocole expérimental était identique dans les deux pays de façon à pouvoir comparer les résultats. Dans des placettes expérimentales de même surface, choisies en fonction l'état sanitaire du peuplement, environ 200 chênes-lièges ont été cartographiés et caractérisés par 4 catégories de variables : localisation et morphologie du terrain, paramètres dendrométriques, exploitation et dépérissement. Le cycle biologique de l'insecte a été étudié au Portugal en 1993-1994 et au Maroc en 2002-2003. Le vol des adultes a été suivi à l'aide de pièges à glu passifs, installés à différentes hauteurs (60 cm, 1,20 m, 1,80 m et 2,40 m) et disposés au milieu du peuplement attaqué selon 4 expositions : est, ouest, sud et nord. Les adultes capturés ont été triés par sexe et dénombrés.

Mots-clés : *Platypus cylindrus*, bioécologie, subéraie, Portugal, Maroc

Introduction

Les subéraies, dont la surface totale est estimée à près de 2,4 millions d'hectares s'étendent surtout dans le bassin méditerranéen. Les peuplements méditerranéens soumis à la plus forte influence atlantique se trouvent essentiellement au Portugal (725 000 ha) et au Maroc (environ 376 700 ha), où ils représentent 48% de l'aire mondiale occupée par cette essence forestière.

Dès les années 1980, on a constaté un déclin généralisé des subéraies. Ce dépérissement dépend de facteurs, variables selon les régions, qui entraînent de façon directe ou indirecte une réduction graduelle de la vigueur des arbres, favorisant ainsi l'installation d'agents biotiques qui provoquent une accélération du dépérissement (Sousa & Debouzie, 1993).

Au Portugal et au Maroc, *Platypus cylindrus* F. est un ravageur dont les pullulations sont liées directement au dépérissement généralisé et à la mortalité des chênes-lièges. Cet insecte est pourtant encore considéré en Italie et en Tunisie comme un ravageur secondaire attaquant seulement des arbres presque morts ou très affaiblis.

Trois hypothèses sont émises pour expliquer la récente explosion de *P. cylindrus* dans les subéraies du Portugal : un changement de la dynamique des populations de l'insecte ou de ses ennemis naturels, le développement de mécanismes plus spécifiquement associé à la colonisation des hôtes ou une altération progressive de la dynamique des peuplements de chênes-lièges. Cependant, seule l'intégration de tous les résultats de recherche permettra de cerner la question et de faire ressortir les facteurs les plus directement liés au phénomène dans son ensemble. Un projet entrepris en 2002 entre le Portugal et le Maroc avait pour objectif de

mieux connaître la biologie de *P. cylindrus* grâce à une comparaison entre les deux pays de sa présence, de son comportement et de ses interactions avec les champignons symbiotiques.

Matériel et méthodes

Evolution des attaques au niveau du peuplement

Les observations ont été conduites au Maroc dans des placettes (AII 1, AIII 7) d'environ 200 arbres, installées dans la subéraie de la Mamora occidentale, dans des peuplements de chêne-liège présentant un fort niveau d'attaque de *P. cylindrus*. Les résultats ont été comparés à ceux obtenus au Portugal entre 1994 et 1996.

L'emplacement de tous les arbres a été cartographié et l'état général de la parcelle a été caractérisé par le relevé de quatre catégories de variables : localisation et morphologie du terrain ; paramètres dendrométriques (circonférence à 1,30 m ; hauteur totale ; hauteur des branches maîtresses) ; exploitation (hauteur et année de déliègeage) ; dépérissement (défoliation, décoloration) ; présence d'insectes ravageurs (*Platypus cylindrus*, *Lymantria dispar*, *Cerambyx cerdo*) et de champignons pathogènes (*Diplodia mutila* et *Hypoxylon mediterraneum*).

Cycle biologique de P. cylindrus

L'étude a été effectuée au Maroc car la biologie de l'insecte au Portugal est déjà connue (Sousa, 1996). Pour estimer le nombre de stades larvaires, on a mesuré la largeur des capsules céphaliques, puis tracé des histogrammes de fréquence. Les larves ont été obtenues en disséquant, toutes les deux semaines, les rondelles de quatre arbres sélectionnés à l'intérieur de la parcelle. Le vol de l'insecte a été étudié à l'aide de pièges à glu disposés à différentes hauteurs : 0,6 ; 1,20 ; 1,80 et 2,40 m, et selon quatre expositions : est, ouest, sud et nord. Ces pièges passifs sont faits de vitres en plastique de 30 x 30 cm, suspendues par une corde entre deux arbres. Chaque semaine, les insectes adultes interceptés ont été récoltés, dénombrés et triés par sexe au laboratoire. Au total, 32 pièges ont été installés dans chacune des deux parcelles de chaque pays.

L'association ectosymbiotique entre P. cylindrus et les champignons

L'étude morphologique des mycangia a été effectuée en 2003 sur des adultes récoltés au Portugal. Des interconnexions éventuelles entre les mycangia et d'autres glandes ou organes ont été recherchées sur des coupes histologiques faites au niveau du prothorax.

Pour être identifiés, les champignons ont été isolés des galeries de l'insecte présentes sur des tronçons d'arbres abattus au cours de l'hiver 2003, au Portugal et au Maroc. Les fragments de galeries ont été prélevés selon une stratification spatiale (Sousa, 1996) et le matériel préparé d'après la méthode de Norris & Baker (1968). Le développement des champignons a été réalisé sur différents milieux de culture.

Résultats et discussion

Evolution des attaques au niveau du peuplement

La distribution spatio-temporelle des attaques de *P. cylindrus* dans les peuplements de chêne-liège n'est pas aléatoire. Au Maroc, dans la parcelle AII 1, 72 arbres sur 196 présentaient des symptômes d'attaque de l'insecte. Dans la parcelle AIII 7 on a dénombré 58 arbres attaqués sur 202, cette dernière infestation est récente car elle a eu lieu après le déliègeage de juin 2002.

Les attaques de *P. cylindrus* au Maroc (parcelle AII 1) sont corrélées à la circonférence des arbres à 1,30 m ($F=12,883$; $ddl=1$; $p<0,0004$). Comme au Portugal, les arbres attaqués

sont en moyenne plus gros ($220 \pm 9,88$ cm de circonférence) que les arbres non attaqués ($177,7 \pm 6,63$). Par contre, aucune relation n'a pas été décelée au Maroc entre l'intensité des attaques et d'autres caractéristiques dimensionnelles (hauteur maximale) ou d'exploitation (année et importance de l'écorçage) ; les attaques de *P. cylindrus* dans ce pays sont cependant associées à certaines caractéristiques d'affaiblissement des arbres hôtes. Une analyse discriminante a montré qu'il existe une liaison statistique forte entre les attaques de l'insecte et la défoliation (Wilks' Lambda: 0,47117 ; F (2,161) =14,7253; $p < 0,00001$), ce qui confirme qu'il préfère les arbres dépérissants (Fig. 1). Des résultats similaires ont été obtenus au Portugal, où on a constaté aussi une relation avec la décoloration. De telles relations ont été signalées pour d'autres espèces forestières et d'autres insectes (Jacobs et al., 1992; Maréchal et al., 1992).

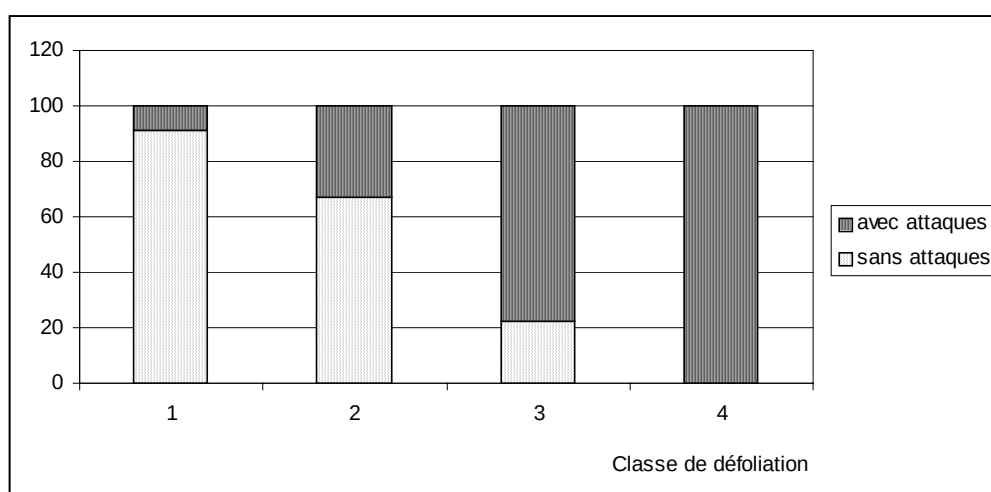


Figure 1. Fréquence relative des arbres attaqués par *Platypus cylindrus* selon la classe de défoliation (parcelle AII 1)

Par ailleurs, la majorité des chênes-lièges attaqués par *P. cylindrus* au Portugal et au Maroc abritent le champignon *H. mediterraneum* (De Not) Mill, dont rôle dans le dépérissement de *Q. suber* est bien connu (Torres Juan, 1975). La présence des deux espèces sur les mêmes arbres pourrait simplement dépendre d'exigences similaires lors de la colonisation de l'hôte. Aucune étude ne s'est encore intéressée aux relations spécifiques entre l'insecte et le champignon.

Les attaques de *P. cylindrus* sont corrélées à certaines caractéristiques des arbres hôtes, notamment leur affaiblissement, leur exploitation et leur morphologie (Fig. 2). Les corrélations obtenues ne signifient pourtant pas qu'il y ait une relation de causalité; le choix par l'insecte des hôtes les plus propices à une infestation obéit probablement à des stimuli plus complexes, en particulier olfactifs, et non pas seulement à la silhouette des arbres (Chararas, 1979; Byers et al., 1985). La composition et la concentration des substances volatiles, l'humidité du bois, la pression osmotique et le flux de sève sont des facteurs qui peuvent aussi influencer la sélection des arbres par l'insecte (Graham, 1968).

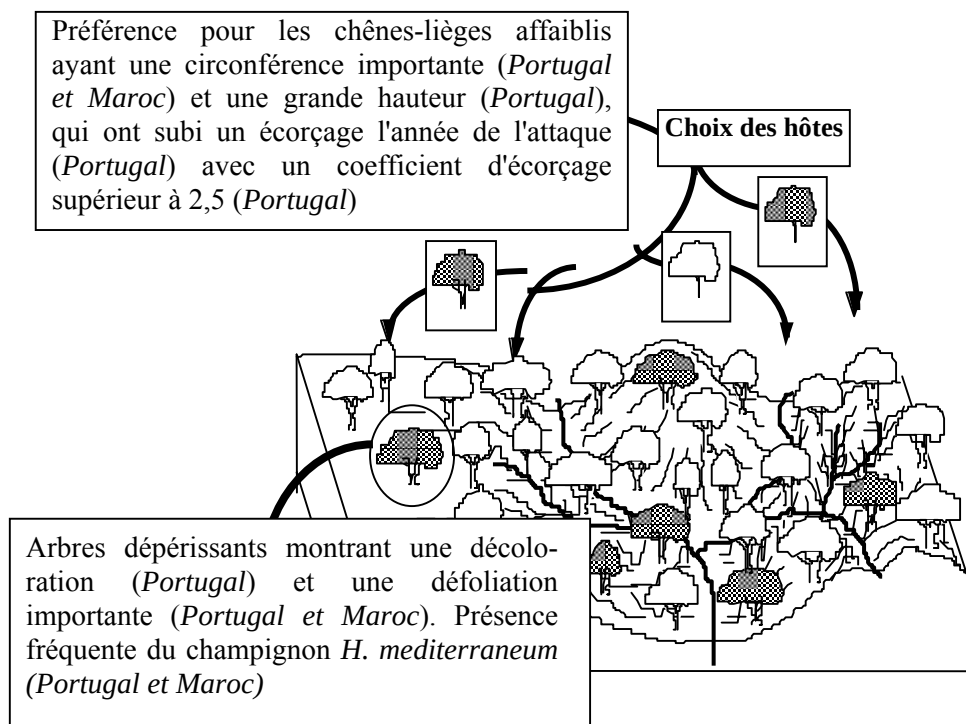


Figure 2. Schéma du processus de choix des hôtes par *P. cylindrus* (comparaison de la situation au Portugal et au Maroc)

Détermination du nombre de stades larvaires de *P. cylindrus*

702 larves de *P. cylindrus* ont été collectées au Maroc au cours de l'étude. Leurs capsules céphaliques mesurent de 0,25 à 1,36 mm avec une fréquence maximale entre 0,65 et 1,25 mm. La distribution des fréquences (Fig. 3) a permis de définir le nombre de stades larvaires de l'insecte. Bien qu'aucune séparation nette n'apparaisse, 4 groupes ont été distingués : 0,25-0,65 ; 0,65-0,90 ; 0,90-1,175, $\geq 1,175$.

Si, selon l'hypothèse de Imms (1957), le rapport entre les valeurs moyennes de deux stades consécutifs reste constant, cette règle donne des rapports compris entre 1,16 et 1,27 pour les trois derniers stades (Tab. 1). Il en découle que deux stades sont représentés par les largeurs de capsule inférieures à 0,65 (comme on l'a constaté au Portugal): le stade I correspondrait aux largeurs inférieures à 0,475, et le stade II à celles comprises entre 0,475 et 0,650. Toutefois, la valeur du rapport (1,64) entre les stades I et II est supérieure à la valeur limite (1,48) mentionnée pour les scolytes (Lekander, 1968).

Tableau 1. Largeur moyenne des capsules céphaliques des stades larvaires de *P. cylindrus*
Le rapport est calculé entre les moyennes de deux stades consécutifs

stade	effectif	moyenne	écart-type	rapport
I	8	0,390	0,130	
II	4	0,640	0,014	1,64
III	103	0,810	0,065	1,27
IV	499	1,080	0,069	1,33
V	88	1,250	0,039	1,16
VI	—	—	—	—

On a déterminé l'existence de cinq stades larvaires alors qu'on n'a pas récolté de larves dont les capsules céphaliques mesuraient plus de 1,36 mm de large, comme au Portugal. Ces variations peuvent être liées à l'existence de races physiologiques au sein de l'espèce considérée, à un nombre de mues variable selon le sexe, à la sous-alimentation ou encore à l'influence des conditions du milieu.

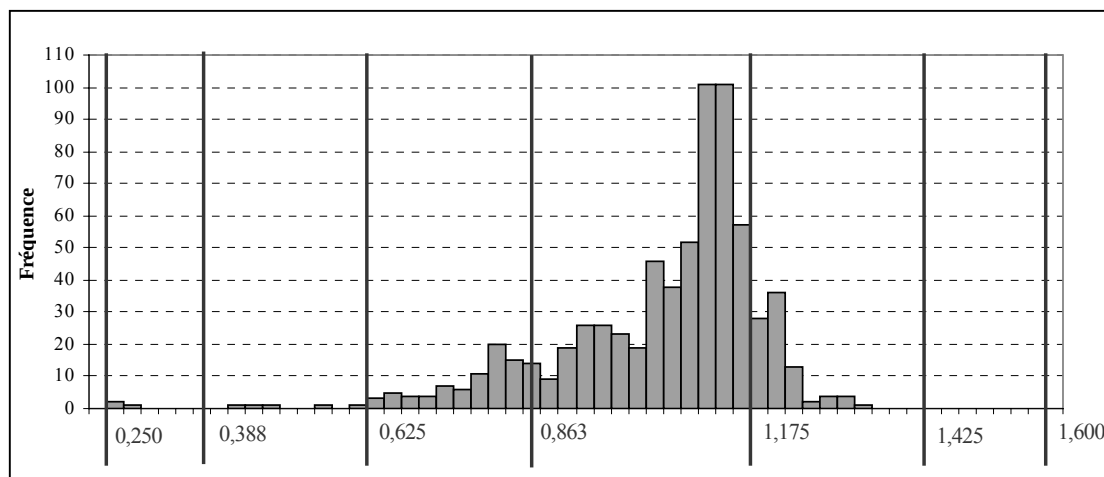


Figure 3. Distribution des fréquences des largeurs de capsules céphaliques.

Les classes ont été établies avec un pas de 0,025. Les valeurs en abscisse sont les limites des intervalles définis pour chaque stade larvaire au Portugal.

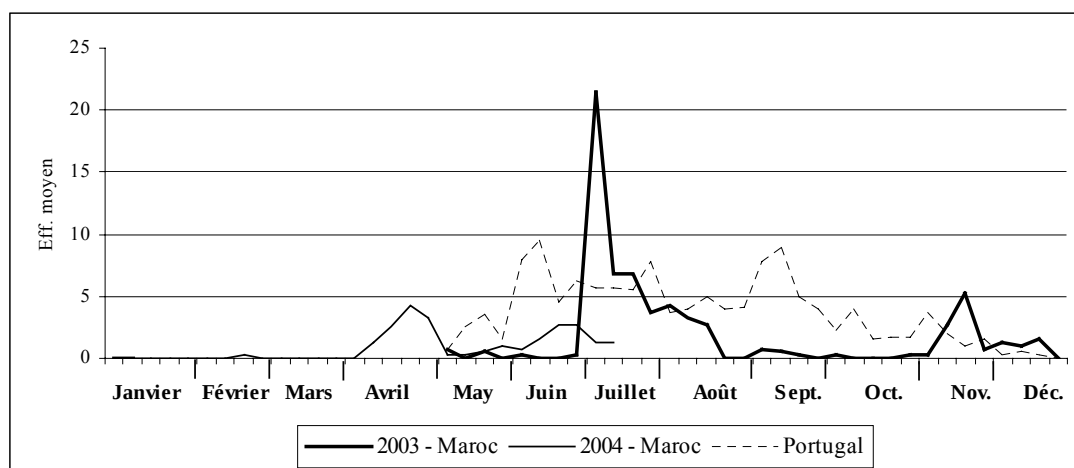


Figure 4. Courbes d'envol des adultes de *P. cylindrus* au Maroc et au Portugal

Densité des captures d'adultes dans les peuplements

Au Maroc, le vol de l'insecte a été étudié d'avril 2003 à juillet 2004. L'activité de vol des adultes en 2003 a été continue pendant neuf mois. Sur la courbe d'envol (Fig. 4), on remarque un échelonnement des émergences avec un pic en juillet-août et un autre plus discret en novembre-décembre. En 2004 toutefois, la période de vol de *P. cylindrus* a débuté dès le mois d'avril puisqu'on a obtenu alors un nombre significatif de captures. De petites différences semblent exister entre les deux pays car, au Portugal, la période de vol a commencé en mai et s'est prolongée jusqu'en décembre avec deux pics, en juin et en septembre. Le climat, plus chaud au Maroc, peut expliquer ces décalages.

La sex-ratio globale des adultes capturés en vol est déséquilibrée en faveur des femelles (66,3% des femelles), comme au Portugal.

L'association ectosymbiotique entre P. cylindrus et les champignons associés

Les femelles de *P. cylindrus* possèdent au niveau du prothorax, un organe spécialisé dans le transport des spores des champignons symbiotiques : le mycangium. De forme ovoïde, à contour précis, le mycangium présente un nombre variable de trous, estimé à 330 ± 104 (Cassier et al., 1996). Des observations microscopiques sur un petit nombre d'individus, montrent que les mycangia des mâles ont un contour imprécis et un nombre de trous réduit : variant de 1 à 45.

L'observation visuelle des galeries de l'insecte a permis de confirmer la présence, surtout là où les larves se nourrissent, d'un revêtement très mince de couleur claire, fait d'hyphes de champignon. Le bois environnant présente une coloration brun foncé due à sa colonisation par les champignons. On a isolé au total 17 champignons au Portugal et 14 au Maroc ; parmi ces derniers certains n'ont pas encore été identifiés (Tab. 2).

Tableau 2. Les champignons (isolés et identifiés) associés à *P. cylindrus* au Portugal et au Maroc

Champignons isolés au Portugal	Champignons isolés au Maroc
Ascomycotina	
<i>Ascoidea</i> sp.	
<i>Eurotium</i> sp.	
Basidiomycotina	
Basidiomycète non identifié	
<i>Punctularia strigoso-zonata</i> (Schwein.)	
Talbot	
Deuteromycotina	
<i>Aspergillus carbonarius</i> (Bainier) Thom.	<i>Aspergillus</i> sp.
<i>Cephalosporium</i> sp.	
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	
<i>Gliocladium roseum</i> Bainier	<i>Gliocladium</i> sp.
<i>Gliocladium solani</i> (Hartig) Petch.	
hyphomycète non identifié	
<i>Nodulisporium</i> sp.	<i>Nodulisporium</i> sp.
<i>Penicillium</i> sp.	<i>Penicillium</i> spp.
<i>Raffaelea ambrosiae</i> v. Arx & Henneb.	<i>Raffaelea ambrosiae</i>
<i>Scytalidium</i> sp.	
<i>Trichoderma viridae</i> Pers : Fr	<i>Trichoderma</i> spp.
<i>Trichothecium roseum</i> (Pers.: Fr.) Link	

Ces études préliminaires permettent de conclure qu'à ce jour, au Maroc, aucun nouveau genre de champignon n'a été isolé des galeries de *P. cylindrus* par rapport au Portugal.

La diversité des champignons trouvés en association avec *P. cylindrus* doit jouer un rôle fondamental pour le succès de la colonisation et le développement des populations de l'insecte. Nos résultats confirment la présence dans les deux pays du champignon ambrosia

Raffaella ambrosie qui servirait soit à la nourriture des larves, soit à la colonisation de nouveaux hôtes. Cette espèce est connue pour évoluer sous sa forme imparfaite en *Ophiostoma* sp. (Subramanian, 1983), un genre bien connu pour renfermer plusieurs espèces pathogènes (Holliday, 1989). De la même façon, l'association avec le champignon *Nodulisporium* sp. (forme imparfaite de *Hypoxyton* sp.) trouvé dans les deux pays, porte à croire que ce type d'association fait partie d'une stratégie complexe d'attaque, dans laquelle le transport des champignons pathogènes est déterminant pour l'affaiblissement de l'hôte, comme l'ont démontré Sousa et al. (1997).

Ces associations pourraient expliquer la récente explosion des populations de *P. cylindrus* dans les deux pays.

Conclusions

Au Maroc, a priori, les caractéristiques biologiques de *P. cylindrus* sur chêne-liège ne diffèrent pas de celles du Portugal. On peut considérer que ce ravageur fait partie de la succession des agents biotiques qui interviennent sur le processus de déclin du chêne-liège dans ces deux pays. La récente explosion des populations de *P. cylindrus* résulterait directement de l'affaiblissement d'un grand nombre d'arbres, l'insecte préférant coloniser des hôtes affaiblis ayant de grandes dimensions (hauteur, circonférence).

L'existence d'une période de vol assez longue peut être liée à un déphasage du cycle biologique de *P. cylindrus* dans ses galeries, qui donne à l'insecte de surprenantes capacités de survie.

En outre, *P. cylindrus* a établi, au Portugal et au Maroc, des relations symbiotiques avec divers champignons potentiellement pathogènes pour le chêne-liège, ce qui augmenterait ses potentialités de survie. Ce résultat doit être confirmé par l'étude des champignons associés à ce ravageur dans les pays où il n'est pas considéré comme un agent du déclin.

Il serait intéressant par ailleurs de mettre en place un programme de formation des gestionnaires forestiers leur indiquant la symptomatologie des dégâts de l'insecte sur chêne-liège et les caractéristiques les plus importantes permettant d'évaluer périodiquement la densité de ses attaques au sein des subéraies. Lorsque la présence de *P. cylindrus* est constatée, les chênes-lièges attaqués doivent être rapidement abattus et découpés en rondelles durant l'hiver, avant que les adultes ne commencent à émerger.

Références

- Byers, J.A., Lanne, B.S., Lövgqvist, J., Schlyter, F. & Bergström, G. 1985: Olfactory recognition of host-tree susceptibility by pine shoot beetles. – *Naturwissenschaften*, 72 : 324-326.
- Cassier, P., Lévieux, J., Morelet, M. & Rougon, D. 1996: The mycangia of *Platypus cylindrus* Fab. and *P. oxyurus* Dufour (Coleoptera: Platypodidae). Structure and associated fungi. – *J. Insect Physiol.* 42 (2): 171-179.
- Chararas, C. 1979: Écophysiologie des insectes parasites des forêts. – C. Chararas (ed), Paris.
- Holliday, P. 1989: A Dictionary of Plant Pathology. – Cambridge University Press, Cambridge, 369 p.
- Graham, K. 1968: Anaerobic induction of primary chemical attractancy for ambrosia beetles. – *Can. J. Zool.* 46: 905-908.
- Imms, A.D. 1957: A General Textbook of Entomology. – Methuen & Co Ltd, London, 886 p.
- Jacobs, K.A., Alvarez, I.F. & Luque, J. 1992: Association of soil, site and stand factors with decline of *Quercus suber* in Catalonia, Spain. – *Proceedings of Recent Advances in Studies on Oak Decline*: 193-203.

- Lekander, B. 1968: The number of larval instars in some bark beetle species. – Entomol. Ts. Ärg. 89 : 25-34.
- Maréchal, P., Weissen, F., Quévy, B. & André, P. 1992: Le dépérissement du chêne en Hainaut: premières observations stationnelles. – Silva Belgica 99: 7-15.
- Norris, D. M. & Baker, J. M. 1968: A minimal nutritional substrate required by *Fusarium solani* to fulfill its mutualistic relationship with *Xyleborus ferrugineus*. – Ann. Entomol. Soc. Am. 61: 1473-1475.
- Sousa, E.M. 1996: Contribution à l'étude de la biologie de populations de *Platypus cylindrus* (Coleoptera: Platypodidae) dans des peuplements de chênes-lièges au Portugal. – Thèse de Doctorat, Lyon., France, 153 p.
- Sousa, E.M. & Débouzie, D. 1993 : Contribution à la connaissance de quelques variables sylvicoles et écologiques associées au coléoptère *Platypus cylindrus* F., ravageur du chêne-liège au Portugal. – Silva Lusitana 1: 183-197.
- Sousa E.M., Tomaz I.L., Moniz F.A. & Basto S. 1997. La répartition spatiale des champignons associés à *Platypus cylindrus* F. (Coleoptera : Platypodidae). – Phytopath. Medit. 36: 145-153.
- Subramanian, C.V. 1983: Hyphomycete: Taxonomy and biology. – Academic Press, London, 502 p.
- Torres Juan, J. 1975: Patologia Forestal. – Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes, Madrid.

Comparison of the bio-ecology and behaviour of *Platypus cylindrus* F. (Coleoptera, Platypodidae) in Portuguese and Moroccan cork-oak stands

Abstract: This study initiated in 2002 aimed at more comprehensive knowledge of the biology of *Platypus cylindrus* in Portugal and Morocco: its distribution, behaviour and interactions with symbiotic fungi. Experimental plots (about 200 trees/plot), defined according to cork oak sanitary state were defined; the trees were mapped and characterized by four categories of variables (localization and ground morphology, dendrometric parameters, exploitation and decline). The biological cycle and population dynamics of the pest were studied in Portugal in 1993-1994 and in Morocco in 2002-2003, using identical material and methods in order to obtain comparative results. Adult flight was studied using passive glue traps placed at various heights (0.6, 1.20, 1.80 and 2.40 m) and exposure (east, west, south and north) in the middle of the infested stands. Caught insects were sorted by sex and numbered.

Key-words: *Platypus cylindrus*, bio-ecology, cork oak, Portugal, Morocco

Severe infestations of *Platypus cylindrus* Fabricius (Coleoptera Platypodidae) in Sardinian cork oak forests *

Omar Vincente Cao, Pietro Luciano

Università di Sassari, Dipartimento di Protezione delle Piante (sez. Entomologia agraria),
via E. De Nicola, 07100 Sassari, Italia, istent@uniss.it

Abstract: During the summer of 2003, an unexpected infestation of *Platypus cylindrus* was observed in several Sardinian *Quercus suber* forests. Surveys carried out in debarked cork oak forests indicated that those of the Orune plateau, degraded to wooded pasture, suffered particularly severe attacks, with a peak of 24% of trees infested. The infestation is believed to have been facilitated by tree debilitation caused by low spring rainfall in 2003, as well as by subsequent debarking. Therefore, a proposal for integrated insect control was considered.

Key words: *Platypus cylindrus*, infestations, cork oak forests, climatic factors, integrated control

Introduction

An unexpected infestation of *Platypus cylindrus* was observed during the summer of 2003, in several recently debarked Sardinian cork oak forests. This xylophagous beetle was present in Sardinia for a long time (Cecconi, 1924), but never was responsible for particularly worrisome attacks, unlike the situation observed in Portugal (Sousa & Debouzie, 1999), Algeria (Bouhraoua et al., 2002) and Morocco (Villemant & Fraval, 1991), where it was considered as one of the main cork oak pests. The following report gives the results of a survey of the distribution and severity of the pest infestation in Sardinia.

Materials and methods

Observations were carried out in various Sardinian cork oak forests, but evaluation of the infestation was only performed in the Orune plateau and the Mandrolisai area (Province of Nuoro). In the former zone, between 560 and 800 m a.s.l., the cork oak forests are largely degraded to wooded pasture with no renewal. In the latter zone, between 450 and 710 m a.s.l., the cork oak forests mainly have underbrush; they are heterogeneous in age and have a good degree of renewal. In these two areas, we identified respectively 12 and 7 sites where cork oaks were recently debarked. Using individual trees as sample units, we randomly examined between 100 and 130 trees, recording the circumference at “chest height” (from which we calculate the diameter) and the presence/absence of the characteristic symptoms of *P. cylindrus* attack.

Results and discussion

The survey revealed that *P. cylindrus* is widespread in the major cork oak areas of Sardinia: the presence of actively boring adults was recorded in July-September 2003 in recently

* Work supported by PIC Interreg III A France-Italy “Islands” Sardinia, Corsica, Tuscany

debarked cork oak forests in Gallura (Calangianus and Berchidda), Nuorese (Orune, Nuoro), Mandrolisai (Atzara) and Iglesiente (Iglesias). We also observed that the beetles prefer to penetrate into the trees at lesions of the phellogen caused by the debarking operations.

Evaluation of the infestation in the Orune plateau showed that more than 10% of the trees were attacked in 5 of the 12 sampling sites (maximum of 24%), while the value was from 0.9 to 9.1% in 6 other sites; there was no attack at only one locality. At all the sites, the infested trees were always the biggest ones, with a mean diameter of 46.8 ± 21.4 cm, significantly greater than the mean value of all the measured trees (26.7 ± 17.8 cm). These results agree with the data obtained in Portugal (Sousa & Debouzie, 1999).

The situation in the Mandrolisai was quite different: only 1 of the 7 sites had a high proportion of attacked trees (21%), while they were only 2-3% in 3 sites and no attacks occurred in 3 other sites. At the site showing the highest infestation rate, the cork oak forest was visibly debilitated, very probably due to an altered biochemical balance of the soil caused by the dumping of faecal wastes from a nearby livestock farm.

Low rainfall also could have facilitated the infestation. In 2003, both areas experienced a drastic decrease of rainfall between March and August, i.e. about 120 mm less than the mean values of 230 mm for the Orune plateau and 272 mm for the Mandrolisai area, for the period 1961-90. However, our data suggested that the reduced rainfall had different effects in the two areas. In the Orune plateau, it put the largest trees (probably already senescent) under stress, making them attractive to the beetle. This did not occur in the Mandrolisai area, where the cork oak forests are generally younger than those of Orune; they may also have been less sensitive to drought on account of the underbrush, which could have decreased the evaporation rate and preserved a higher quantity of water in the ground.

Conclusions

The unexpected, widespread and, at times, intense infestation of *P. cylindrus* in the summer of 2003 worsened the phytosanitary conditions of the Sardinian cork oak forests. This prompted the adoption of new integrated control measures, such as: postponement of debarking not only in years of total defoliation by lepidopters but also in very dry years; treatment of debarked trunks with synthetic pyrethroids, which kill the adult coleopters; use of a new cork-cutting machine, which is a valid substitute for the axe and has the further advantage of not cutting the phellogen, thus indirectly reducing the possibility of the coleopters to bore into the trees.

References

- Bouhraoua, R.T., Villemant, C., Khelil, M.A. & Bouchaour, S. 2002: Situation sanitaire de quelques subéraies de l'Ouest algérien: impact des xylophages. – IOBC/wprs Bull. 25(5): 85-92.
- Cecconi, G. 1924: Manuale di Entomologia forestale. – Tipografia del Seminario, Padova: 680 p.
- Sousa, E.M.R. & Debouzie, D. 1999: Distribution spatio-temporelle de *Platypus cylindrus* F. (Coleoptera Platypodidae) dans des peuplements de chênes-lièges au Portugal. – IOBC/wprs Bull. 22(3): 47-58.
- Villemant, C. & Fraval, A. 1991: La faune du chêne-liège. – Actes Editions, Rabat, 336 p.

Bilan des observations sur *Lymantria dispar* (L.) en phase de latence en Tunisie

Sofiane Mnara¹, Mohamed Lahbib Ben Jamaâ¹, Saïd Nouira²

¹ Section d'entomologie forestière, INRGREF (Tunis)

² Laboratoire d'écologie animale, Faculté des sciences de Tunis

Résumé : En Tunisie, l'année 2000 a coïncidé avec l'entrée en phase de latence de *Lymantria dispar*. Huit stations reconnues comme étant des foyers primaires potentiels d'infestation du ravageur ont été sélectionnées dans la subéraie tunisienne et leurs arbres marqués afin de suivre deux des facteurs biotiques qui régissent la dynamique des populations de ce redoutable défoliateur, à savoir l'état quantitatif et qualitatif du feuillage de *Quercus suber* et la présence d'antagonistes de l'écophase œuf de *L. dispar*. Une bonne concordance phénologique entre le débourrement de l'arbre hôte et l'éclosion des œufs de *L. dispar* est en effet nécessaire au déclenchement d'une nouvelle infestation. Elle dépend des conditions micro-climatiques de chaque station. L'état du feuillage a été noté à partir d'observations sur les arbres marqués. L'activité des entomophages a été évaluée grâce à l'exposition sur le terrain de pontes issues d'élevage.

Mots-clés : *Lymantria dispar*, latence, insectes oophages, *Quercus suber*, phénologie, débourrement, Tunisie

Introduction

Lymantria dispar (L.) est le principal défoliateur du chêne-liège. Depuis 1925, année où il a été signalé pour la première fois en Tunisie (Debazac, 1952), quatre gradations principales se sont succédées, chacune ayant un cycle moyen d'environ 20 ans. La dernière infestation a débuté en 1986 et s'est achevée en 1999, après un pic de pullulation en 1992. L'année 2000 coïncide avec l'entrée en latence du lépidoptère dans les subéraies tunisiennes. Cette phase peut durer six à sept ans. En Kroumirie, la région d'Aïn-Draham-Babouche a été le point de départ des pullulations de 1945, 1966 et 1986 (Ben Jamaâ et al., 2001).

La date d'apparition des premières chenilles, comme la durée de la période d'éclosion dépendent des conditions micro-climatiques. En Tunisie, la période d'éclosion dure en général un mois (Ben Jamaâ et al., 2001). Au Maroc, elle peut, certaines années, atteindre 2 mois et plus (Fraval et al., 1989).

En Tunisie, Rabasse & Babault (1975) avaient attribué aux ennemis naturels (dont un virus) le rôle primordial dans la régulation des populations du bombyx disparate tout en reconnaissant l'importance de la discordance phénologique entre débourrement et éclosion des chenilles, sans toutefois considérer ce facteur comme un élément régulier et important. On sait pourtant que le feuillage d'arbres mutilés ou mal venants permet une meilleure survie des chenilles que celui d'arbres sains (Von Rudnew, 1963 ; Patocka, 1973 ; Dahhou, 1984). Le chêne-liège sain et vigoureux développe une résistance à *L. dispar*, résistance qui décline si le végétal est dans un mauvais état (Von Rudnew, 1963).

On s'est proposé de suivre quelques uns des principaux facteurs biotiques qui régissent la dynamique des populations de ce redoutable défoliateur en phase de latence, à savoir :

- l'état du feuillage du *Quercus suber* en début de débourrement ;
- la présence d'entomophages de l'écophase œuf de *L. dispar*.

Matériel et méthodes

Les stations d'étude

Elles ont été installées selon un dispositif en croix formé de 40 arbres dont les axes correspondent aux 4 directions N-S-E-W (Fraval et al., 1989), dans les sites suivants :

- SE : Souk Essebt (Amdoune), forêt Oued Zen IV, parcelle 6. Altitude moyenne: 560m
- EG : El Gonna (Fernana), forêt Aïn Draham VII, parcelle 33. Alt. moy. : 510 m
- Rih : Rihana (Aïn Draham), forêt Aïn Draham V, parcelle 2. Alt. moy. : 865m
- DC : Dar Chéfa (Tabarka), forêt Mekna I, parcelles 61–62. Alt. moy.: 495 m
- EB. : El Bradaa (Babbouche), forêt Aïn Draham III, parcelle 31. Alt. moy.: 705 m
- Ad : Adissa (Hammam Bourguiba), forêt Aïn–Draham III, parcelle 7. Alt. moy.: 500m
- DF : Dar Fatma, forêt Aïn Draham X, parcelle 24. Alt. moy.: 820 m
- EM : El Mankoura (Babbouch), forêt Aïn Draham II, parcelle 22. Alt. moy.: 550 m

Qualité du feuillage de *Quercus suber*

Cette évaluation est basée sur la méthode proposée par Fraval et al. (1980). Chaque année, au début de la période de débourrement, la frondaison des arbres est examinée et un cryptogramme (codage) établi qui tient compte des différents types de feuillage présents (n : feuillage nouveau venant de débourrer, N : feuillage nouveau de taille définitive, A : feuillage ancien, D : feuillage sec non comestible) et leur abondance relative exprimée par les codes suivants : $x > (x) > ((x)) > [x]$ (Tab. 1).

Abondance relative de chaque type de feuillage par station à chaque début de feuillaison

La fréquence des différentes catégories de feuillage est relevée pour les 40 arbres de chaque station (Tab.1). Puis, pour chaque classe d'abondance, on tient compte du type de feuille le plus fréquent ⁽¹⁾ et on lui attribue un coefficient : 1, 1/2, 1/4 ou 1/8 respectivement pour x , (x) , $((x))$ et $[x]$ ⁽²⁾. Le produit entre ce coefficient et la fréquence donne une estimation de la fréquence relative (FR) de chaque type de feuillage ⁽³⁾, qu'on peut convertir en % ⁽⁴⁾.

Tableau 1 : Evaluation de l'abondance relative du feuillage de la station « SE », le 4 mai 2004

	x	(x)	$((x))$	$[x]$	
N	0	3	5	2	⁽¹⁾ $\rightarrow A_{37} (n)_{14} ((N))_5 [D]_{29}$
n	2	14	13	5	⁽²⁾ $\rightarrow 1 A_{37} + 1/2 n_{14} + 1/4 N_5 + 1/8 D_{29}$
A	37	3	0	0	⁽³⁾ $\rightarrow 37A + 7n + 1,25N + 3,5D$
D	1	2	7	29	⁽⁴⁾ $\rightarrow A(76,76\%) + n(14,52\%) + N(1,45\%) + D(7,26\%)$

Fluctuations relatives du feuillage comestible par station

On a tenu compte de la taille et l'état de vigueur des arbres. Chaque année, la densité de la ramification (*Dra*) et du feuillage (*Dfe*) des stations a été relevée selon les modalités suivantes (Tab. 2) :

- *Dra*. 1 : arbre chétif ayant un rameau principal, 2 : arbre de taille moyenne ayant deux rameaux principaux, 3 : grand arbre ayant trois rameaux principaux et 4 : grand arbre ayant quatre rameaux principaux et plus.
- *Dfe*. 1 : feuillage faible, 2 : moyen, 3 : dense, 4 : très dense.

On tire pour chaque variable une valeur moyenne relative à la station qui correspond aussi au coefficient attribué le plus fréquent. Le produit (*Dra* x *Dfe*) est un coefficient de vigueur (CV) qui varie de 1 à 16 et qui caractérise la station et l'année d'observation (Tab. 2). Il nous permet ainsi de suivre et de comparer l'état de vigueur des stations de chêne-liège et

d'estimer l'abondance relative du feuillage comestible pour *L. dispar* (N ou n) dans chacune d'elles (AR_s).

Ainsi, pour la station « SE » au 4 mai 2004, on a :

- $Dra = 1,73 \pm 0,64 \approx 2$ qui correspond au coefficient de densité de la ramification le plus fréquent (21/40) attribué à l'ensemble des arbres de la station ;
- $Dfe = 2,6 \pm 0,6 \approx 3$ qui correspond au coefficient de densité du feuillage le plus fréquent (24/40) attribué à l'ensemble des arbres de la station ;
- CV de la station de « SE » en 2004 = $Dra \times Dfe = 2 \times 3 = 6$ ou 6/16 ;
- $AR_s = FR_N \times CV = 1,25 \times 6 = 7,5$ avec FR_N : fréquence relative de N (Tab. 1).

Tableau 2 : Exemple d'attribution des Dra et Dfe . Cas de la station « SE » le 4/5/ 2004

arbres	Dra	Dfe	arbres	Dra	Dfe	arbres	Dra	Dfe	arbres	Dra	Dfe
W1	2	3	E1	1	3	S1	2	3	N1	1	3
W2	1	2	E2	2	3	S2	1	2	N2	1	3
W3	1	2	E3	2	3	S3	1	2	N3	2	2
W4	2	2	E4	2	3	S4	2	3	N4	3	3
W5	3	2	E5	1	1	S5	2	2	N5	2	3
W6	2	3	E6	2	2	S6	3	3	N6	2	3
W7	2	3	E7	1	2	S7	2	3	N7	1	2
W8	3	3	E8	2	3	S8	2	3	N8	1	2
W9	2	3	E9	1	3	S9	2	1	N9	2	3
W10	2	3	E10	1	3	S10	1	2	N10	1	2
										Dra	Dfe
										Moyenne	1,73 2,6
										Ecart type	0,64 0,6
										Coef. attribués	Fréquences
										1	15 2
										2	21 14
										3	4 24
										4	0 0

Abondances relatives du feuillage comestible par station et par hectare

On tient compte des densités de chêne-liège qu'on détermine par échantillonnage à partir d'un carré de 20 m de coté tracé à proximité du centre de chaque station. Il s'agit de densités ponctuelles relatives aux stations d'étude dont les valeurs sont supérieures aux densités moyennes, car ces stations sont choisies parmi les endroits les plus peuplés de la forêt. On calcule enfin l'abondance relative du feuillage comestible par station et par hectare AR_{sh} par la formule :

$$AR_{sh} = FR \times CV \times D / 40$$

Avec FR : fréquence relative du feuillage comestible, CV : coefficient de vigueur propre à la station et l'année d'observation, D : densité du chêne-liège.

Protocole d'exposition des pontes de *Lymantria dispar*

En phase de latence, la seule façon d'étudier des antagonistes des œufs de *L. dispar* consiste à créer en forêt un point d'infestation artificielle, strictement contrôlé. Trois séries de pontes (40, 70 et 97 pontes) appartenant à trois générations successives (2001, 2002 et 2003), issues d'élevage et en provenance du Maroc, ont été exposées sur le tronc des arbres de la station d'E.M. de façon à couvrir sur trois ans, en trois périodes successives, les neufs mois durant lesquels les pontes du ravageur demeurent exposées sur les troncs des chênes lièges :

- 1^{re} exposition : 20/11/2001 - 12/02/2002 : 10 pontes ont été retirées tous les 21 jours.
- 2^e exposition : 08/10/2002 - 26/11/2002 : 10 pontes ont été retirées tous les 10 jours.
- 3^e exposition : 12/06/2003 - 25/09/2003 : 10 pontes ont été retirées tous les 7 jours.

Un programme pré-établi de prélèvement des pontes a permis un retrait homogène des pontes exposées. Les pontes retirées sont placées individuellement dans des boîtes en plastique aérées. Leur démantèlement a été estimé par une note de 0 à 4, correspondant à la

proportion en quarts de surface perdue : 0, 1/4, 2/4, 3/4 et 4/4 (Fraval et al., 1989). Les pontes ont ensuite été examinées sous la loupe pour déceler la présence d'entomophages et dénombrer les effectifs des différentes catégories d'œufs. Enfin, les pontes de la 3^e série ont été pesées avant et après leur exposition pour comparer leur taux de démantèlement avec celui estimé par la méthode précédente.

Résultats et discussion

Les résultats relatifs à l'état du feuillage de *Quercus suber* au début de chaque période de débourrement sont consignés dans les tableaux 3 et 4.

Tableau 3: Attribution des coefficients de vigueur par station et par année d'observation

Stations	Coefficients de vigueur						Commentaire
	Ans 2000	2001	2002	2003	2004	Moyenne	
SE	4	4	4	2	6	4	Ainsi, EG semble avoir le plus de vigueur avec un CV moyen égale à 6,4 tandis que EB, qui a subi un démasclage en été 2002, montre des signes évidents de faiblesse pendant l'année 2003, mais reprend vite de la vigueur en absence de défoliation.
EG	6	9	4	4	9	6,4	
Rih	4	4	4	4	4	4	
DC	4	2	4	4	6	4	
DF	4	6	4	2	4	4	
EB	4	2	4	2	6	3,5	
Ad	4	2	9	4	9	5,6	
EM	-	-	4	4	4	4	

Tableau 4: Variations relatives du feuillage comestible du chêne-liège selon les années

FR : fréquence relative, AR_s : abondance relative/station, AR_{sh} : abondance relative/station/hectare

Dates d'observation		16/5/2000			30/4/2001			3/5/2002			29/4/2003			5/5/2004		
Stations	Type de feuillage	FR	AR _s	AR _{sh}	FR	AR _s	AR _{sh}	FR	AR _s	AR _{sh}	FR	AR _s	AR _{sh}	FR	AR _s	AR _{sh}
SE	N	37	148	3515	0	0	0	0,2	1	24	0	0	0	1,2	7,5	178
D =950	n	3,5	14	332	5	20	575	10	40	950	5	10	237	7	42	997
EG	N	26	156	2340	0	0	0	0,1	0,5	75	0	0	0	1,2	11,2	168
D =600	n	11	66	990	3,5	28,5	427	19	76	1140	9	36	540	26	234	3510
Rih	N	2,7	11	275	0	0	0	0,2	1	25	0	0	0	5	20	500
D =1000	n	20	80	2000	1,5	6	150	2,5	10	250	0	0	0	26	104	2600
DC	N	25	100	2375	0,1	0,2	5	0,5	2	47	0	0	0	1,2	7,5	180
D =950	n	2,5	10	237	2,5	5	118	8	32	760	6	24	570	8	48	1140
DF	N	16	64	1520	0,1	0,7	16	0	0	0	0,1	0,2	5	0,2	1	24
D =950	n	12,5	50	1187	3,5	21	499	0,7	3	71	2,5	5	119	3	12	285
EB	N	8	32	680	21	42	892	0,2	1	21	0	0	0	0,2	1,5	32
D =850	n	28	152	3230	1,1	2,2	47	22	88	1870	1	2	43	3	18	382
Ad	N	7	28	455	0	0	0	3	18	292	0	0	0	2,5	22,5	365
D =650	n	15	60	975	2	4	65	9	81	1316	6,5	26	422	25	225	3656
EM	N	-	-	-	-	-	-	0,7	2,8	52	0	0	0	0,7	3	56
D =750	n	-	-	-	-	-	-	25	100	1875	7	28	525	4	16	300

Classement des stations selon la chronologie de leur débourrement

A partir du tableau n° 4 et en considérant les valeurs de FR (fréquence relative en feuillage comestible), on a établi les classements annuels suivants :

- 2000 : SE → DC → EG → DF → EB → Ad → Rih
- 2001 : EB → DF → DC → SE → EG → Rih → Ad
- 2002 : Ad → EG → EM → DC → Rih → SE → EB → DF
- 2003 : DF → DC → EG → EM → Ad → SE → EB → Rih
- 2004 : Rih → Ad → DC → SE → EG → EM → EB → DF

Les débourrements se succèdent et ne se ressemblent pas. L'état du feuillage du chêne-liège au début de chaque période de débourrement est, dans chaque station, aléatoire et imprévisible. On note cependant un effet de l'altitude sur la feuillaison. Les stations les plus hautes, donc les plus froides, ont le plus souvent un débourrement tardif, même si certaines années elles montrent tout de même un débourrement relativement précoce. C'est le cas des stations Rih en 2004, DF en 2003 et EB en 2001. Il semble aussi que les subéraies aient des périodes de débourrement « rotatives », puis qu'au cours des cinq années d'observation, cinq stations différentes se sont relayées au premier rang dans le classement chronologique de l'induction de la feuillaison.

Classement des stations selon leur production en feuillage comestible

En tenant compte des états de vigueur annuels des stations (Tab. 3), on a calculé les AR_s (Tab.4), à partir desquelles on a établi un classement décroissant des stations :

- 2000 : EG → SE → DC → DF → EB → Ad → Rih
- 2001 : EB → DF → DC → EG → SE → Rih → Ad
- 2002 : Ad → EM → DC → EB → SE → Rih → EG → DF
- 2003 : DF → EG → EM → Ad → DC → SE → EB → Rih
- 2004 : Ad → Rih → EG → DC → SE → EM → EB → DF

En comparant, année par année, les deux classements précédents, on constate que, à une date donnée, certaines stations dont le débourrement a été tardif mais dont l'état de vigueur est meilleur, ont fourni une plus grande quantité de nouveau feuillage que d'autres stations dont le début de feuillaison a été plus précoce. C'est le cas d'EG par rapport à SE en l'an 2000, EG par rapport à EB en 2002, ...

Classement des stations selon leur production annuelle de feuillage à l'hectare

Enfin, si on tient compte de la densité des arbres dans chaque station, le classement décroissant de l'abondance relative en feuillage comestible par hectare AR_{sh} au début de la période de feuillaison, est encore différent.

- 2000 : SE → DC → EG → DF → EB → Ad → Rih
- 2001 : EB → DF → DC → SE → EG → Rih → Add
- 2002 : Ad → EG → EM → DC → Rih → SE → EB → DF
- 2003 : DF → DC → EG → EM → Ad → SE → EB → Rih
- 2004 : Rih → Ad → DC → SE → EG → EM → EB → DF

Les peuplements les plus denses sont susceptibles a priori d'offrir plus de nourriture à *L. dispar* (cas de SE en l'an 2000, Df en 2003 et Rih en 2004) que les peuplements moins denses. Mais ces derniers peuvent produire un nouveau feuillage en plus grande quantité en début de période de débourrement, lorsque l'induction de la feuillaison est plus précoce (Ad en 2002, EB en 2001) ou l'état de vigueur meilleur (EG '2°' en 2002) que dans les stations plus denses.

On remarque encore l'effet de l'altitude sur la production de nouveau feuillage. En effet, Rih est souvent classée parmi les dernières stations à cause de son débourrement tardif et ce malgré sa plus forte densité en chêne-liège.

Pendant les cinq années d'observation, on a constaté que les stations de chêne-liège qui débourent tardivement rattrapent rapidement leur retard et produisent en quelques jours un nouveau feuillage très dense. Sachant que les chenilles nouveau-nées supporter un jeûne de plusieurs jours avant de commencer à se nourrir, cela leur laisse la possibilité de survivre. En effet, en l'an 2000, l'importante quantité de nouveau feuillage estimée (vers le 15 mai) pour toutes les stations était plutôt due à un retard de prélèvement de notre part (10 à 15 jours) qu'à un rendement exceptionnel de la subéraie (Tab. 4).

Evaluation du démantèlement des pontes de *L. dispar* exposées sur le terrain

Les pontes exposées durant la période hivernale n'ont pas été démantelées. Les taux moyens de démantèlement (Tmd) ont atteint 33% pour les pontes exposées en automne et 38% pour celles exposées en été. L'impact des prédateurs oophages a été confirmé par la pesée, avant et après 2,5 mois d'exposition, des pontes de la 3^e série (Tmd estimé à 37%). Cette méthode a révélé aussi une perte supplémentaire de poids d'environ 25% non liée au démantèlement, mais principalement au dessèchement qui a affecté la totalité des pontes, y compris les non-démantelées qui ont servi de témoin.

Composition des pontes après exposition et activité des antagonistes oophages

L'étude des pontes a montré l'absence totale d'œufs parasités par l'Hyménoptère Encyrtidae *Ooencyrtus kuvanae* (Howard), pourtant très actif à la fin de la dernière phase de gradation (Ben Jamaa et al., 2001).

L'effectif moyen d'œufs attaqués par les prédateurs oophages est faible (Tab. 5), mais ces antagonistes agissent surtout en provoquant le décollement d'une partie des œufs, qui sont voués à la mort lorsqu'ils tombent à terre (Fraval et al., 1989). L'effectif d'œufs viables par ponte varie fortement selon que les pontes ont été ou non démantelées. Mais la variation de taille des pontes entre 2002 et 2003 dépend du matériel provenant du Maroc (Tab. 5).

Par contre, les variations des proportions des différentes catégories d'œufs sont significatives. Dans les pontes non-démantelées, le taux d'œufs viables était passé de 90% en 2002 à 80% en 2003 (Fig.1). Cette baisse est attribuée en partie à l'augmentation du pourcentage d'œufs secs (5,5%) dans les pontes exposées durant l'été (Fig. 2 et 3).

Tableau 5 : Effectifs et pourcentage moyens des différentes catégories d'œufs par ponte de *L. dispar* après exposition.

Années	2002		2003	
Total des œufs	169,6 ± 112,09		295,44 ± 198,4	
	Effectifs	Taux %	Effectifs	Taux %
Œufs viables	150,39 ± 98,89	88,23	251,68 ± 182,09	85,31
Œufs prédatés (cassée)	0,76 ± 3,78	0,45	4,92 ± 13,72	1,66
Œufs secs	15,55 ± 27,16	9,15	19,54 ± 26,55	6,62
Œufs aplatis	2,88 ± 8,83	1,69	21,21 ± 32,93	7,19

Les histogrammes de fréquence des différentes catégories d'œufs montrent que la proportion d'œufs viables variait peu en 2003 selon l'indice de démantèlement des pontes. Les prédateurs oophages actifs en été s'attaqueraient à tous les œufs viables quelque soit l'état la ponte. Mais, ceux qui sont actifs en automne semblent rechercher les œufs viables dans les pontes fortement démantelées (Fig. 1). Les prédateurs oophages consomment ou provoquent le décollement d'une partie des œufs secs dans les pontes dont l'indice de démantèlement est compris entre 2 et 3, indépendamment de la période d'exposition (Fig. 2 et 3). Les œufs aplatis sont surtout prédatés en été, dans les pontes fortement démantelées (Fig. 3). Enfin, les

œufs cassés, qui sont la conséquence directe de la prédation, sont plus fréquents dans les pontes fortement démantelées de l'été (Fig. 3) que dans celles de l'automne (Fig.3). Ces antagonistes des œufs, plus actifs en période estivale, peuvent alors expliquer l'augmentation d'environ 5% du taux de démantèlement des pontes exposées en été.

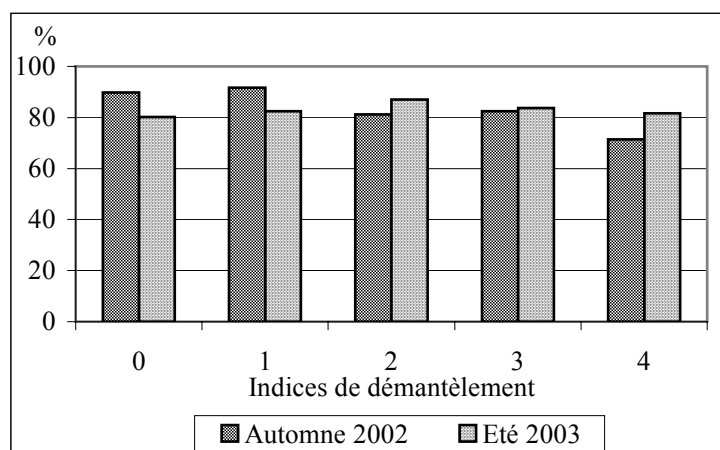


Figure 1 : Variation du taux d'œufs viables selon l'indice de démantèlement des pontes

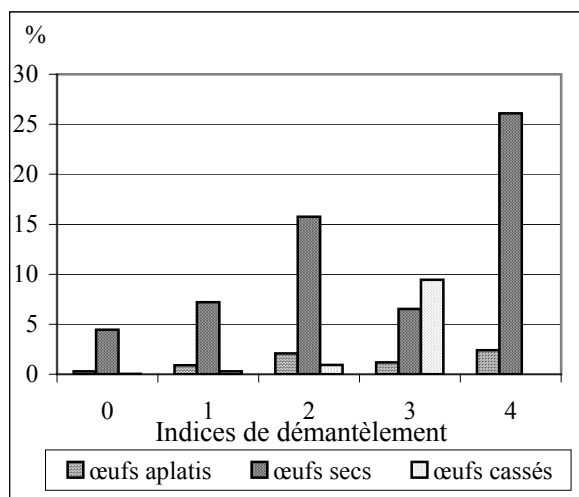


Figure 2 : Proportion d'œufs non-viables selon l'indice de démantèlement des pontes exposées en automne 2002

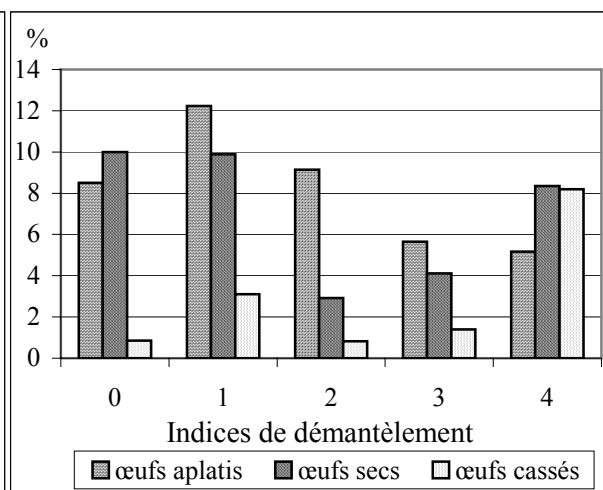


Figure 3 : Proportion d'œufs non-viables selon l'indice de démantèlement des pontes exposées en automne 2003

Conclusion

Le débourrement des chênes-lièges et la quantité de nouveau feuillage comestible pour les jeunes chenilles de *Lymantria dispar* sont un facteur favorable au développement des infestations lorsqu'ils montrent une bonne concordance phénologique avec leur éclosion.

Lors de l'apparition des premiers foyers d'infestation, le suivi de la phénologie du débourrement de l'arbre hôte en relation avec l'éclosion des œufs du ravageur devrait permettre de mieux évaluer l'ampleur de l'infestation. En ce début de période de latence en Tunisie, les seuls antagonistes qui se sont manifestés sur les pontes exposées sur le terrain sont les prédateurs oophages qui ont éliminé en moyenne 1/3 des œufs. Il est souhaitable de

poursuivre ce type d'expérimentation afin de mieux connaître l'impact de ces antagonistes sur les pontes en phase de latence comme pour vérifier si le parasite *O. kuvanae* est capable de s'attaquer aux pontes lorsqu'elles sont présentes à un très faible niveau de densité.

Remerciements

Nous remercions chaleureusement Mme le professeur Zineb Kadiri de la Faculté des Sciences de Rabat qui nous a fourni des pontes de son élevage, ainsi que Mrs Moncef Othmani et Abdelwaheb Zitouni, techniciens à l'INRGREF, pour leur contribution au travail de terrain.

Références

- Ben Jamâa, M.L., Mnara, S., Villemant, C. & Khaldi, A. 2001 : *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera, Lymantriidae) en Tunisie: État actuel des connaissances et perspectives de recherche. – IOBC/wprs Bull. 25(5) : 101-108.
- Dahhou, B. 1984 : Étude sur la faune frondicole du chêne-liège en forêt de la Mamora. – Diplôme Ingénieur Phytiate, Institut. Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat, 62 p.
- Debazac, E. 1952 : La protection de la forêt de chêne-liège contre *Lymantria dispar*. – Bulletin d'information N° 2, Ministère de l'Agriculture, République tunisienne : 170-174.
- Fraval, A., Graf, P., Hamdaoui, M., Kadiri, Z., Ramzi, H. & Villemant, C. 1989 : *Lymantria dispar* L. – Actes et Editions, Rabat, 220 p.
- Fraval, A., Questienne P. & Jarry M. 1980 : Mortalité de *Lymantria dispar* (L.) (Lep. Lymantriidae) sur trois placeaux de la subéraie de la Mamora, en 1978. – Ann. Rech. For. Maroc. 20 : 269-288.
- Patocka, J. 1973: Einfluss der Nahrung und des Standortes auf die Mortalität einiger an Eichen lebenden schädlichen Lepidopteren. – Vestm. Cesk. Zool. 37(4) : 282-292.
- Rabasse, J.M. & Babault, M. 1975 : Étude d'une pullulation de *Lymantria dispar* L. (Lep., Lymantriidae) dans les conditions méditerranéennes. – Sci. Agro. Rennes: 143-160.
- Von Rudnew, D.F. 1963: Physiologischer Zustand der Wirtspflanze und Massenvermehrung von Forstschädlingen. – Z. Angew. Entomol. 53: 48-68.

Observations on *Lymantria dispar* (L.) latency phase in Tunisia

Abstract: In 2000 in Tunisia, *Lymantria dispar* entered the latency phase. Eight stations considered as potential primary infestation sites were selected; in each site, 40 cork oaks were marked in order to investigate two of the biotic factors governing the population dynamics of this dangerous insect: the qualitative and quantitative state of the *Quercus suber* foliage and the presence of antagonists of the *L. dispar* egg instar. A good phenological concordance between the host tree beginning foliation and the hatching period of *L. dispar* is necessary to induce a new gradation. It depends on the micro-climatic conditions of each station. The quality and quantity of oak cork foliage was surveyed by observations on marked trees. The activity of oophagous enemies was assessed by the field exposure of laboratory reared egg masses.

Key words: *Lymantria dispar*, latency phase, egg enemies, *Quercus suber*, phenology, starting foliation, Tunisia

La gradation 2000-2003 du bombyx disparate en Corse : échantillonnage simplifié des pontes et étendue des défoliations*

Claire Villemant

UMR 5202 MNHN-CNRS, Département Systématique & Evolution, CP 50 Entomologie,
45 rue Buffon, F-75005, Paris, France.

Résumé : Depuis les années cinquante, les gradations du bombyx disparate, *Lymantria dispar*, en Corse se sont succédées tous les 10 ans environ. La dernière infestation a fait l'objet d'une surveillance approfondie sur l'ensemble de l'île. Pour la première fois, des relevés portant sur la densité des pontes, l'impact des antagonistes oophages et l'étendue des surfaces défoliées ont été effectués, entre 2001 et 2003, dans tous les peuplements de chênes infestés de Haute-Corse et de Corse-du-sud. Au total, plus de 300 sites ont été étudiés grâce à un protocole d'échantillonnage simplifié permettant d'évaluer rapidement les risques de défoliation sur un vaste territoire. Cette prognose qui tient compte de l'évolution des populations de pontes et de l'extension des dégâts du ravageur au cours des années précédentes, est confrontée à la distribution et à l'étendue défoliations constatées au printemps suivant.

Mots clés : *Lymantria dispar*, *Quercus*, défoliation, indice de risque, Corse

Introduction

En Corse, les gradations de *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera, Lymantriidae) ont été enregistrées, tous les dix ans environ, depuis les années 50. Elles affectent surtout la subéraie de Porto-Vecchio mais aussi les yeuseraies de la région de Bonifacio et du Cap Corse. L'infestation du Sartenais en 2001 a constitué une nouvelle phase d'extension du ravageur à l'intérieur de l'île (Villemant et al., 2003). En période de culmination, les dégâts sont très importants. En 1974, 20 000 ha de chêne-liège ont été défoliés entre Porto-Vecchio et Bonifacio et 2 000 ha de chêne vert dans le Cap Corse (Ham & Cervera, 1976). Dans les années 1980 comme en 1994, plus de 10 000 ha ont été défoliés dans ces zones (Garsault, 1997). Lors de l'infestation 2000-2003, les surfaces défoliées, estimées à plus de 25 000 ha en 2002, ont largement dépassé celles de la précédente gradation. Face à l'ampleur des défoliations et aux fréquentes réinfestations des parcelles traitées, les épandages de *Bacillus thuringiensis* se sont globalement avérés peu efficaces (Martin et al., 2002).

L'étude entreprise de 2001 à 2003 a eu pour but de comparer la densité des populations du ravageur au stade œuf avec l'étendue des défoliations observées au printemps suivant. Pendant 3 ans, un suivi a été réalisé dans plus de 300 sites répartis sur l'ensemble de l'île. Il a pris en compte la distribution et l'étendue des surfaces défoliées et la dynamique des populations du papillon, qui dépend de la situation géographique et des caractéristiques des peuplements, de l'ancienneté de l'infestation et de l'impact des ennemis naturels. Un nouveau protocole d'échantillonnage des pontes, plus rapide et plus facile à réaliser, a été élaboré.

Plusieurs facteurs particuliers à la Corse rendent difficile le suivi des gradations du ravageur. La végétation, dont la structure dépend du relief et de l'impact anthropique, est très

* Etude financée par l'Office de l'Environnement de la Corse (OEC) et supervisée par un comité de pilotage mis en place par l'OEC, avec des représentants de : Département Santé des Forêts (DSF), Service Régional de la Protection des Végétaux (SRPV), INRA (Unité Expérimentale Forestière Méditerranéenne) et MNHN

hétérogène et fragmentée et le vent favorise la dispersion des chenilles nouveau-nées, parfois sur des kilomètres, d'une vallée à une autre. Compte tenu des multiples peuplements infestés, de la complexité du relief, de la structure de la végétation, de la densité du maquis et des capacités de dispersion du ravageur, le relevé exhaustif des sites où *L. dispar* est présent et l'estimation de la densité de ses populations dans chacun d'eux nécessite un long travail de terrain, d'où l'intérêt d'avoir un système de notation rapide. Les prospections et les comptages ont été limités aux abords des zones urbaines, seuls secteurs où des traitements peuvent être éventuellement envisagés pour le « confort » des populations riveraines (Martin et al., 2002).

Matériel et méthodes

L'ensemble des zones infestées par le bombyx disparate (Cap Corse, Région Centre et toute la région sud, de Port-Vecchio à Sartène) a été attentivement prospecté au cours des hivers 2001-2002 et 2002-2003, en se basant sur les zones défoliées répertoriées en 2000 et 2001 par les correspondants observateurs du DFF (Fig. 1). Dans chaque site présentant des pontes, on a relevé plusieurs paramètres.

Effectif moyen de pontes par arbre

Trente arbres, sélectionnés à partir du centre de la parcelle par la méthode du plus proche voisin, sont affectés d'une note, de 0 à 3, selon l'effectif de pontes qu'ils portent : 0 : pas de ponte ; 1 (1 à 10 pontes) 2 (11 à 100 pontes), 3 (plus de 100 pontes). La moyenne des 30 notes permet d'attribuer au site un niveau de densité N_i de pontes par arbre.

Taille moyenne des pontes

La taille moyenne des ooplaques T_i a été notée, pour 30 pontes (si possible) par site, à raison de 3 pontes au plus par arbre. Chacune ponte est affectée d'une note, de 1 à 4, selon son grand diamètre, évalué à l'aide d'une réglette portant les limites des classes de taille : 1 (< 25 mm), 2 ([25-30 mm[), 3 ([30-35 mm[), 4 ($\geq$ 35 mm).

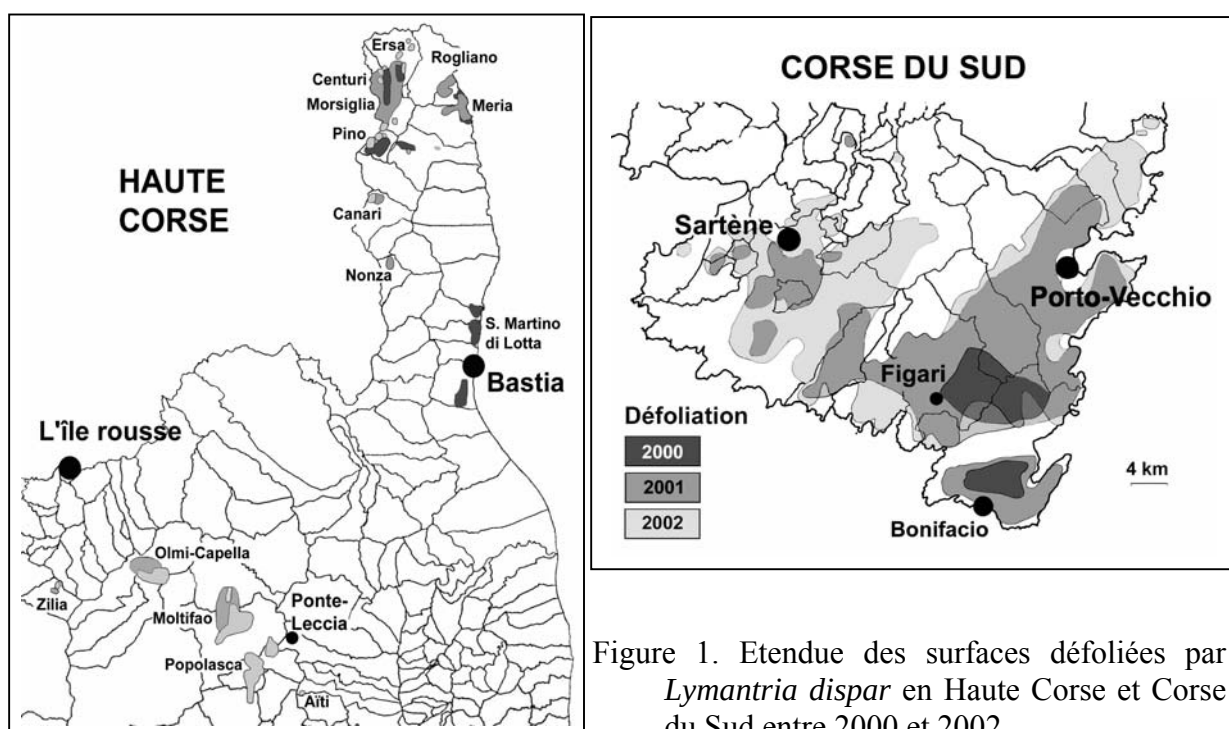


Figure 1. Etendue des surfaces défoliées par *Lymantria dispar* en Haute Corse et Corse du Sud entre 2000 et 2002.

Le choix des classes s'est basé sur la droite de régression, calculée à partir du diamètre et du nombre d'œufs de 60 pontes intactes collectées en 2002 en Région Centre (Leca, 2002).

Impact des prédateurs oophages

La part d'œufs détruite par les insectes prédateurs-démanteleurs, qui éliminent plus d'œufs en disloquant les pontes que par prédation, a été estimée à la fin de l'hiver, sur 30 pontes, par une note de 1 à 4 selon la surface de ponte perdue : 1 (0 à $\frac{1}{4}$) ; 2 ($\frac{1}{4}$ à $\frac{1}{2}$) ; 3 ($\frac{1}{2}$ à $\frac{3}{4}$) ; 4 ($\geq \frac{3}{4}$). La moyenne *Dti* est appelée taux moyen de démantèlement. La proportion moyenne d'œufs perdus par ponte en fonction du taux de démantèlement est donnée dans le tableau 1 (Villemant (1993)).

Tableau 1. Proportion d'œufs perdus par ponte selon le taux de démantèlement (*Dti*)

<i>Dti</i>	1	2	3	4
% d'œufs perdus	15%	40%	65%	90%

Indice de risque

L'indice de risque de défoliation est calculé par la formule suivante, avec $Dti^2 = 1$ si $Dti < 1$:

$$IRi = \frac{Ni \times Ti}{Dti^2}$$

avec $Dti^2 = 1$ si $Dti < 1$

le gradient de risque est le suivant :

- nul : $IR < 1$
- faible : $1 \geq IR < 2$
- moyen : $2 \geq IR < 3$
- fort : $IR > 3$

Effectif moyen d'œufs viables par ponte

Dans chaque station représentative d'une région donnée, 10 pontes ont été prélevées à la fin de l'hiver afin de dénombrer au laboratoire l'effectif moyen d'œufs viables encore présents ainsi que l'importance des différents facteurs de mortalité des œufs (Fraval, 1989).

Extension des défoliations

Début juin 2002 et 2003, des prospections systématiques ont permis de cartographier en détail l'ensemble des surfaces totalement ou partiellement défoliées (Fig. 1-4). Dans certains secteurs périurbains fortement infestés, des traitements au *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), décidés par le comité de pilotage, ont été financés par l'Office de l'Environnement de la Corse, afin d'éviter au public les nuisances consécutives à la divagation de hordes de chenilles.

Résultats et discussion

La dernière gradation du bombyx disparate en Corse a probablement débuté en 1999 : elle s'est manifestée en 2000 par plusieurs taches de défoliation dans le Cap Corse et en Corse du Sud (nord de Bonifacio-est de Figari). En 2001, les défoliations se sont étendues dans le nord du Cap Corse et sur une large surface, de Porto-Vecchio à Bonifacio et Figari. Elles sont apparues aussi en moyenne montagne, dans la Région Centre (est de Ponte-Leccia) et en Balagne, ainsi que dans le Sartenais. (Fig. 1). En 2002, la gradation a culminé en Région Centre et surtout en Corse du Sud où la quasi totalité des peuplements de chêne-liège et de chêne vert (région de Bonifacio exceptée) ont été défoliés. Dans le même temps, l'infestation entrainait en rétrogradation dans le cap Corse. La rétrogradation générale a eu lieu en 2003 où seuls quelques sites ont subi des défoliations partielles, près de Porto-Vecchio et Sartène. Seule une partie des résultats de nos observations est présentée ici en détail.

Cap Corse

Dans le Cap Corse, le chêne vert domine largement. En mars 2002, le risque de défoliation n'était élevé qu'aux abords du village de Macinaggio (Fig. 2A) où les pontes, de grande taille, étaient plus faiblement parasitées par *Ooencyrtus kuvanae* (Encyrtidae) qu'ailleurs (Tab. 2).

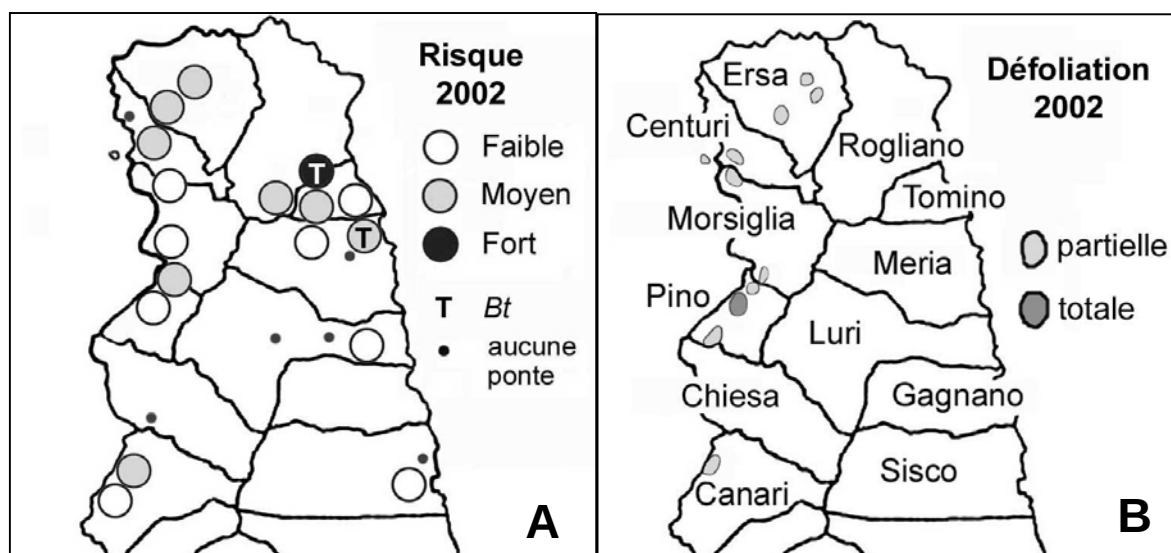


Figure 2. Risques de défoliation estimés au printemps 2002, surfaces traitées au *Bt* et surfaces défoliées par le bombyx disparate en juin dans le nord du Cap Corse.

Dans les autres sites, parasite et prédateurs ont éliminé entre 40% et 50% des oeufs et il restait en moyenne moins de 200 oeufs viables par pontes. Le fort impact de ces antagonistes comme la taille réduite des pontes est typique d'une fin de gradation, suggérant que l'année 2002 serait la dernière année d'infestation du bombyx disparate dans cette région.

Un traitement au *Bt* a été effectué sur 87 ha aux abords du village de Macinaggio (Fig. 2B). Partout ailleurs, l'action des parasites des jeunes stades larvaires (*Glyptapanteles prothetriae* et *Cotesia melanoscela*, Braconidae) et l'absence de débourrement des arbres totalement défoliés l'année précédente, ont entraîné la mort de la quasi totalité des chenilles. Dans les rares sites où des défoliations localisées ont eu lieu, les chenilles survivantes ont été éliminées par *Calosoma sycophanta* (Carabidae), de sorte qu'aucune ponte de la génération suivante n'a été repérée l'été suivant.

La même évolution a été observée en Balagne où un petit peuplement mixte de chêne vert et chêne blanc a été défolié en 2001 et 2002 près du village de Zilia (Fig. 1).

Tableau 2. Caractéristiques moyennes des pontes (Cap Corse, hiver 2002)

Site (commune)	Taille (mm)	Oeufs perdus*	Oeufs restant par ponte		
			viables	parasités	morts/mangés
St Martino di Lota	21	15%	122 (64%)	51 (27%)	18 (9%)
Meria (Meria)*	23	15%	166 (63%)	89 (35%)	10 (2)
Macinaggio (Rogliano)	31	15%	447 (82%)	89 (16%)	10 (2%)
Pruno (Morsiglia)*	18	27%	78 (59%)	48 (37%)	6 (4%)

* par démantèlement

Région centre

En Région Centre, l'infestation était en 2002 en phase de culmination ; elle a entraîné la défoliation totale de quelques centaines d'hectares de chênes verts (Fig. 1). Le débourrement retardé des arbres et le fort impact des ennemis naturels (calosome et tachinaires principalement) ont provoqué une réduction drastique des populations de *L. dispar*. Les rares pontes observées durant l'hiver 2002-2003 étaient toutes de petite taille et renfermaient plus de 10% d'œufs non embryonnés, ce qui est caractéristique d'une fin de gradation. Dans certains sites, plus de 60% des œufs étaient morts ou détruits par les prédateurs oophages. Aucune défoliation n'a été observée au printemps 2003.

Corse du sud-est, de Porto-Vecchio à Monacia d'Aullène

Cette zone est couverte en majorité de subéraies, à l'exception des moyennes montagnes et de la région calcaire de Bonifacio, où le chêne vert remplace le chêne-liège.

Les yeuseraies de Bonifacio ont été défoliées en 2000 et surtout en 2001 (Fig. 1). Les rares pontes de la génération suivante, petites et peu nombreuses, étaient fortement parasitées (41% des œufs) et renfermaient au plus une centaine d'œufs viables, de sorte qu'aucune défoliation n'était à craindre en 2002. Ailleurs, la défoliation s'étendait en 2000 du sud de Sotta à l'est de Figari et, en 2001, depuis Lecci au Nord jusqu'à Monacia d'Aullène (Fig. 1).

En mars 2002, le risque de défoliation était moyen dans les peuplements déjà infestés l'année précédente et fort en bordure de la zone défoliée en 2001 (Fig. 3). Il restait partout près de 300 œufs viables par ponte voire beaucoup plus (Tab. 3). Des traitements de protection au *Bt* ont été décidés par le comité de pilotage à la périphérie de Ste Trinité, à Palombaggia et à Pianotolli. D'autres ont été faits par la commune à l'ouest de Porto-Vecchio et à Santa Giulia au sud de Palombaggia.

A la mi-juin 2002, la quasi totalité des chênaies étaient défoliées, depuis Ste Lucie jusqu'au nord de Monacia d'Aullène. Quelques peuplements en bordure n'ont été que partiellement atteints, de même que la région au sud de Sotta, la seule avoir subi trois années de défoliation consécutives (Fig. 3). Les épandages de *Bt*, effectués tardivement et sur de petites surfaces, n'ont pas empêché la réinfestation et la défoliation des zones traitées.

En juin 2002, à Ste Lucie, près de 70% des chrysalides ont été tuées par les tachinaires et les larves de calosomes. Le rôle répressif des ennemis naturels de *L. dispar* en Corse s'exerce en effet surtout sur les chrysalides : il ne freine pas la défoliation en cours, mais joue un rôle décisif sur réduction des populations de la génération suivante (Fuester et al., 1988).

En mars 2003, aucun risque de défoliation n'était à craindre dans la majeure partie de la zone car les pontes, plus ou moins nombreuses, étaient de petite taille et fortement démantelées (Tab. 4). Les arbres, totalement défoliés en 2002, n'ont pas débourré au printemps 2003 et la plupart des jeunes chenilles sont mortes, faute de jeune feuillage. Le risque était plus fort dans quelques sites, localisés au nord-est de la zone défoliée et niveau des zones traitées au *Bt* en 2002 (Fig. 4), là où les pontes renfermaient encore plus de 400 œufs viables (Tab. 4). Mais, par la suite, le calosome a tué la quasi-totalité des chenilles avant qu'elles atteignent le 5^{ème} stade larvaire, ce qui a réduit considérablement l'intensité des défoliations.

Les arbres attaqués, relativement dispersés, ont souvent perdu moins de 25% de leur feuillage, sauf à Palombaggia où on a observé des taches de défoliation totale. Ce secteur touristique, traité au *Bt* en mai 2001 et 2002, est le seul à avoir été défolié trois ans de suite. Les chenilles qui recolonisent un site après un traitement ne souffrent pas de surpopulation et donnent des adultes qui produisent une abondante descendance. Les arbres traités qui n'ont pas été totalement défoliés débourrent l'année suivante et offrent un feuillage favorable aux jeunes chenilles, qui s'attaquent ensuite au feuillage ancien des arbres n'ayant pas débourré.

Tableau 3. Caractéristiques moyennes des pontes (Corse du sud-est, hiver 2001-2002)

Site (commune)	Taille (mm)	Oeufs perdus*	Oeufs restant par ponte		
			viables	parasités	morts/mangés
Ste Lucie (Zonza)	30	22%	295 (68%)	108 (25%)	33 (7%)
Arragiu (S. Gavino)	32	35%	425 (69%)	69 (11%)	121 (20%)
Pontichesi (Porto-V.)	32	22%	484 (83%)	89 (15%)	10 (2%)
Tamaricoggio (Porto.-V.)	29	15%	279 (78%)	74 (21%)	5 (1%)
Pianotolli (Pianotolli)	39	22%	713 (83%)	121 (14%)	25 (3%)

* par démantèlement

Tableau 4. Caractéristiques moyennes des pontes (Corse du sud-est, hiver 2002-2003)

Site (commune)	Taille (mm)	Oeufs Perdus*	Oeufs restant par ponte			
			viables	n. e.**	parasités	morts/mangés
Cavu (Zonza)	30	15%	574 (76%)	8 (1%)	150 (20%)	19 (3%)
Mura d. Unda (Zonza)	33	25%	609 (68%)	74 (9%)	91 (11%)	14 (2%)
Arraghiu (S. Gavino)	21	52%	112 (43%)	22 (8%)	57 (22%)	70 (27%)
Pontichesi (Porto-V.)	22	35%	179 (53%)	6 (2%)	74 (22%)	76 (23%)
Palombaggia (P.-V.)	31	20%	476 (76%)	2 (1%)	120 (19%)	4 (4%)
Pianotolli (Pianotolli)	24	75%	66 (34%)	5 (3%)	86 (45%)	34 (17%)

* par démantèlement ; **n. e. : non embryonnés

Sartenais

C'est en 2001, que la région de Sartène a été pour la première fois envahie par bombyx disparate (Fig. 1). En 2002, le débourrement tardif des chênes verts a favorisé la dissémination des larves nouveaux-nés et de nombreux arbres, pourtant dépourvus de pontes (notamment au centre de Sartène), ont été entièrement défoliés par des chenilles provenant des forêts avoisinantes. Cette forme de dispersion, favorisée par le vent, permet l'installation de nouveaux foyers d'une vallée à l'autre. On a trouvé ainsi des infestations localisées sur quelques hauteurs aux alentours de Santa Lucia di Tallano et Levie, à plus de 10 km au nord de Sartène. En 2002, les chênaies du Sartenais ont été largement défoliées tandis que des défoliations par taches s'étendaient au nord de Sartène. En hiver 2002-2003, quelques sites au nord-ouest montraient un risque de défoliation élevé, avec des pontes de grande taille peu attaquées par les oophages (Fig. 4) ; au printemps, les chenilles ont été décimées par des pullulations du calosome et seules des défoliations partielles et localisées ont été observées.

Conclusion

L'infestation de *L. dispar* en Corse est entrée en 2003 en phase de rétrogradation générale. Les prédateurs des oeufs ont joué un rôle important dans les sites qui ont subi deux défoliations consécutives, tandis que l'action du calosome a été décisive en Corse du Sud. De telles pullulations de *C. sycophanta* avaient été déjà signalées dans l'île en 1955 et en 1974 (Grisson, 1955 ; Cervera & Ham, 1976).

Cette dernière gradation, certainement la plus importante jamais observée, est la première à avoir été suivie pendant plusieurs années sur l'ensemble de l'île, avec une analyse comparative des effectifs d'oeufs hivernaux et de l'étendue des défoliations au printemps. Ces résultats comme la cartographie des risques et de la défoliation sont des documents extrêmement précieux pour comprendre et tenter de prévoir l'évolution des gradations à venir.

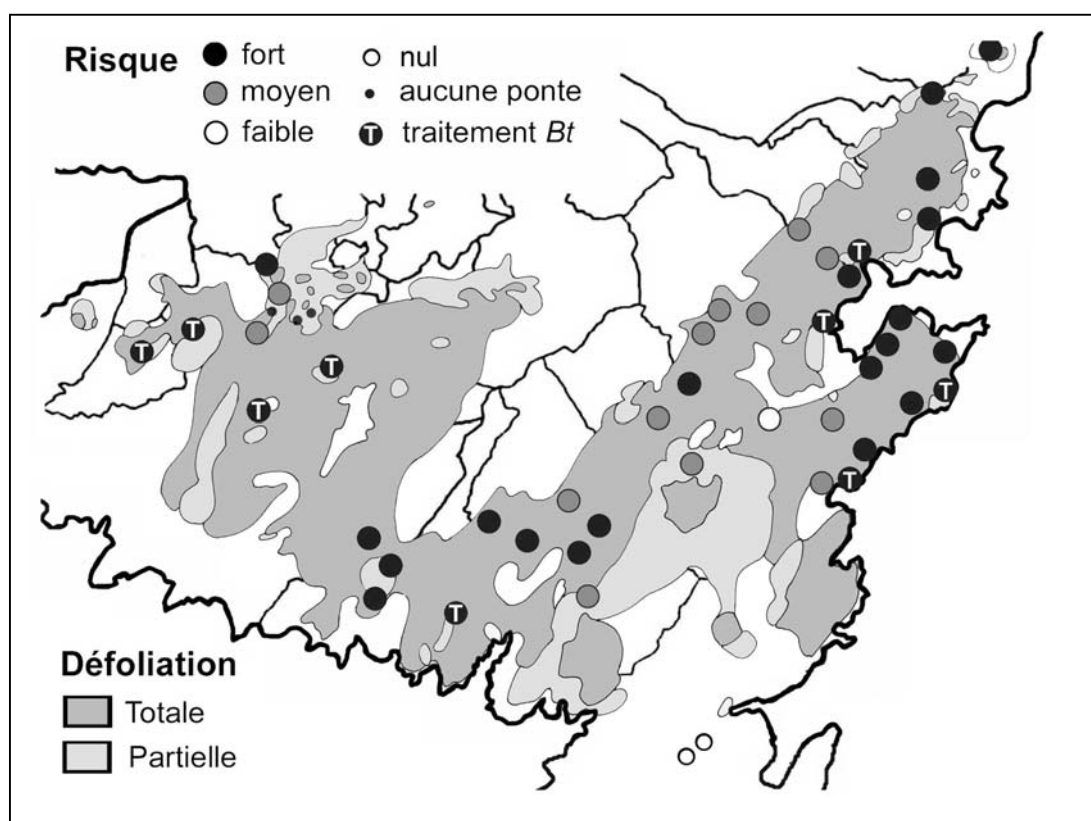


Figure 3. Risques de défoliation estimés au printemps 2002, surfaces traitées au *Bt* et surfaces défoliées par le bombyx disparate en juin en Corse du Sud.

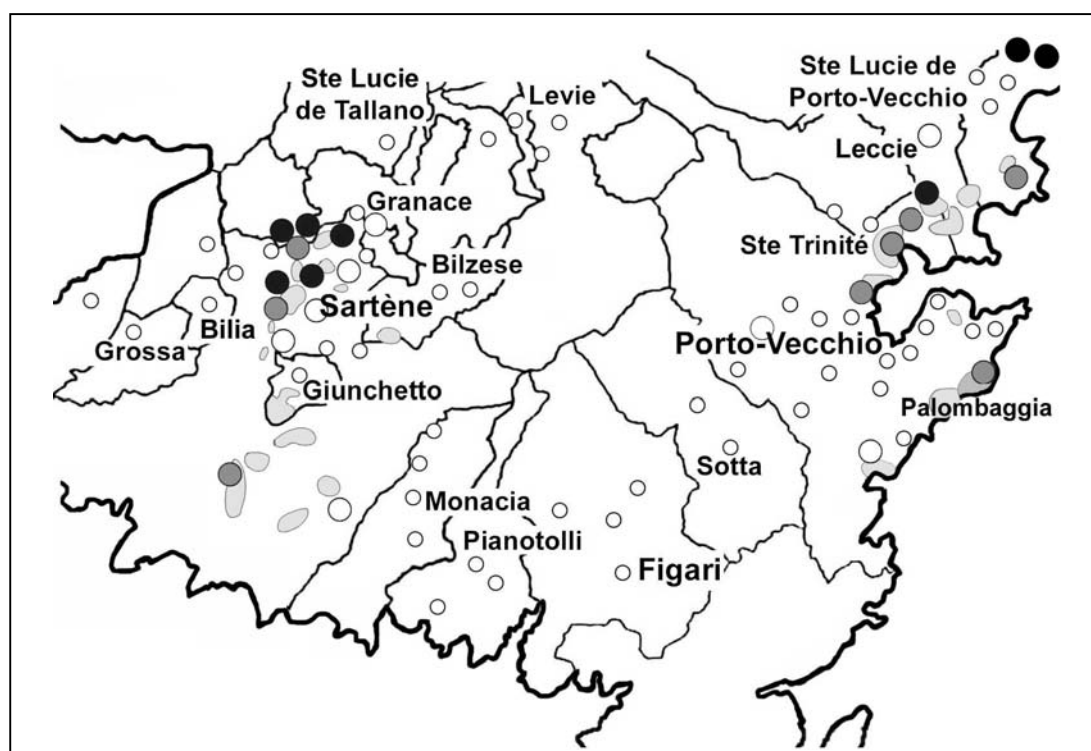


Figure 4. Risques de défoliation estimés au printemps 2003 et surfaces défoliées par le bombyx disparate en juin en Corse du Sud.

Le prochain pic de pullulation devrait se manifester au plus tard vers 2010. En Corse, les surfaces où poussent chêne-liège et chêne vert sont considérables et s'étendent de la plaine jusqu'en montagne. Quand les premières défoliations totales (même limitées à quelques hectares) sont repérées, il est déjà trop tard pour empêcher l'expansion fulgurante de la défoliation, car il est impossible d'envisager des traitements sur des dizaines de milliers d'hectares. La localisation des foyers primaires permettrait la réalisation d'expérimentations de lutte biologique (piégeage de masse, confusion sexuelle ou traitements au *Bt*) visant à contrôler l'infestation avant qu'elle ne s'étende, comme on l'a vu en Mamora (Maroc) en 1987 (Fraval et al., 1988). Etant limités à de petites surfaces, ces traitements auraient par ailleurs l'avantage d'avoir un coût limité, tant d'un point de vue logistique que financier.

Références

- Fraval, A., Villemant, C., Chorfi, B. & Ramzi, H. 1988 : Etude des structures spatiales d'une infestation locale de la subéraie de la Mamora par le bombyx disparate, *Lymantria dispar* (L.) (Lép. Lymantriidae), en 1987. – Ecol. Medit. 14 : 101-119.
- Fraval, A. ed. 1989 : *Lymantria dispar*. – Rabat, Actes Editions : 220 p.
- Fuester, R.W., Gruber, F., Drea, J.J. & Hoyer, H. 1988 : Parasites of *Lymantria dispar* (Lep. Lymantriidae) in France, and their relation to a biological control program. – Acta Oecol., Oecol. Applic. 9 (4) : 385-402.
- Garsault, J.F. 1997. Le bombyx disparate *Lymantria dispar* L. : retour sur la gradation 1991-1994. – In : La santé des forêts (France) 1996. Les Cahiers du DSF, 1997-1, 100 p.
- Grisson, P. 1955 : Régression brusque de *Lymantria dispar* par l'action prédatrice de *Calosoma sycophanta* dans les subéraies corses. – Rev Zool. Agr. 54 : 51-56.
- Ham, R. & Cervera, R. 1976: La lutte en Corse contre le bombyx disparate. – Phytoma, 7 p.
- Leca, E. 2002 : Etude de la dynamique des populations de *Lymantria dispar* (Lep. Lymantriidae) dans la chênaie corse. – Mémoire de maîtrise, Université de Corte , 30 p.
- Martin, J.C., Villemant, C. & Mazet, R. 2002 : Utilisation de *Bacillus thuringiensis* dans la lutte contre le bombyx disparate, *Lymantria dispar* L. (Lep., Lymantriidae) et problèmes posés par les migrations de chenilles. – IOBC/wprs Bull. 25(5): 115-122
- Villemant, C. 1993. Les prédateurs-démanteleurs des pontes de *Porthetria dispar* dans les subéraies marocaines. – Thèse Université d'Orléans. Vol 1: 267 p., vol 2 (annexes): 91 p.
- Villemant, C., Andreï-Ruiz, M.-C. & Leca, E. 2003. Le bombyx disparate, défoliateur des subéraies et des yeuseraies de Corse et du Bassin méditerranéen. – In : 128^{ème} congrès national des sociétés historiques et scientifiques, Bastia, 14-21 avril 2003.

The 2000-2003 gypsy moth gradation in Corsica: simplified sampling method of egg masses and evaluation of damage extension

Abstract: Since 1950, the gypsy moth gradation, in Corsica, occurred approximately each decade. The last infestation was monitored all over the island. For the first time, a survey concerning the gypsy moth egg mass density, the impact of oophagous antagonists and the extension of defoliated areas was undertaken, from 2001-2003, in all infested oak stands of the Haute-Corse and Corse-du-Sud departments. As a whole, more than 300 sites were studied, using a simplified sampling method enabling the rapid estimation of the defoliation risks all over a large territory. This prognosis, which takes into account the evolution of egg mass populations and damage extension in the previous years, is compared to the defoliation distribution and extension observed in the following spring.

Key words: *Lymantria dispar*, *Quercus*, defoliation, risk index, Corsica

Cartographie des infestations de *Lymantria dispar* et superficies traitées contre le ravageur entre 1990 et 2004 en subéraie de la Mamora (Maroc)

Essaïd Basri¹, Salwa El Antry², Zineb Atay Kadiri³

¹ Antenne Régionale de la Protection des Végétaux, Kénitra, Maroc

² Centre National de Recherche Forestière, Section Santé des Forêts, Agdal, Rabat, Maroc

³ Université Mohammed V, Faculté des Sciences, Laboratoire de Zoologie et de Biologie Générale, BP. 1014, Rabat 10 000, Maroc.

Résumé : *Lymantria dispar* est un redoutable défoliateur des chênaies. Au Maroc, il pullule de façon cyclique en forêt de la Mamora où plusieurs gradations se sont succédées depuis 1917 ; les deux dernières ont eu lieu de 1972 à 1981 et de 1993 à 1995. Depuis 1990, le suivi annuel des populations de pontes a permis la réalisation de traitements préventifs dans les zones où leurs effectifs avaient atteint un seuil à risque. Ce travail présente la cartographie des surfaces traitées et tente d'analyser l'effet des traitements phytosanitaires sur l'évolution des populations du défoliateur au cours de la dernière décennie.

Mots clés : *Lymantria dispar*, chêne-liège, cartographie, traitement phytosanitaire, Mamora, Maroc

Introduction

Au Maroc, en forêt de la Mamora, les gradations de *Lymantria dispar* se succèdent de façon cyclique depuis les années 1920. En dépit des régressions qu'elle a subies, cette forêt qui s'étendait sur 130 000 ha demeure avec ses 55 000 ha la plus vaste des subéraies du Maroc (et du monde). Elle est composée de massifs très morcelés (cantons A, B, C, D et E), résultant des aménagements entrepris depuis les années 1910 (Fraval, 1989). Distante d'environ 3 km de l'océan atlantique à l'ouest, elle s'étend vers l'est sur environ 70 km. Les années pluvieuses confèrent à la forêt une allure saine, avec un débourrement vigoureux des arbres tandis que lors des années sèches, les chênes-lièges conservent le feuillage de l'année précédente et sont alors peu favorables au ravageur.

La nuisibilité potentielle de *Lymantria dispar* justifie une surveillance (comptages et pronostics sur son évolution démographique) et d'éventuels traitements qui diminuent les risques d'affaiblissement des arbres suite aux défoliations répétées. Nous avons tenté d'analyser l'effet des traitements phytosanitaires sur l'évolution des populations du défoliateur en Mamora.

Matériel et méthodes

La surveillance du ravageur est basée sur un système de fiches remplies par les gestionnaires forestiers. Un dénombrement visuel des pontes est effectué sur quatre échantillons de 10 arbres par parcelle. L'intensité de l'infestation est exprimée à l'aide d'un indice de 0 à 4 selon l'effectif moyen de pontes par arbre (Hamdaoui, 1995) :

- 0 : aucune ponte
- 1 : 1 à 10 pontes (infestation faible)
- 2 : 11 à 50 pontes (infestation moyenne)
- 3 : 51 à 100 pontes (infestation forte)
- 4 : plus de 100 pontes (infestation très forte)

Le dépouillement des fiches permet de cartographier l'infestation. Les parcelles correspondant aux classes d'infestation 2, 3 et 4 sont retenues en vue d'une intervention phytosanitaire au cours du printemps suivant. Cependant, les populations de chenilles susceptibles d'éclore peuvent être réduites par l'action de certains facteurs climatiques et par les ennemis naturels des oeufs (Villemant & Fraval, 1995). Les parcelles dont l'indice d'infestation est égal à 2 ou 3 font l'objet de prospections complémentaires au moment de l'éclosion des chenilles, afin de déterminer si les populations de l'insecte sont suffisamment fortes pour que les parcelles soient incluses dans la superficie à traiter. L'application des produits phytosanitaires s'effectue par voie aérienne car les traitements terrestres sont souvent difficiles à réaliser en forêt.

Les traitements contre *L. dispar* en Mamora n'ont été effectués régulièrement qu'à partir de 1990, après la création d'une structure spécialisée, l'antenne de protection phytosanitaire des forêts de Kénitra qui s'est chargée du suivi de la dynamique des populations des différents ravageurs des forêts (El Hassani et al., 1994). Depuis lors, la superficie annuelle infestée et traitée n'a guère dépassé les 1 000 hectares à l'exception de 1994 où 17 200 ha ont été traités. La période de traitement s'étale selon les années entre la fin avril et la fin mai selon que les éclosions sont précoces ou tardives.

Les traitements sont faits en général avec diverses préparations à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, qui ont été homologuées au Maroc en vue des traitements contre les défoliateurs forestiers. La concentration des produits varie de 13 000 à 17 600 UI/mg. Ils agissent par ingestion exclusivement sur les trois premiers stades larvaires. Le traitement entraîne un arrêt de la défoliation après quelques jours à condition qu'aucune précipitation n'intervienne aussitôt après l'épandage du produit.

Pour éviter tout retard de traitement, lorsque les conditions climatiques sont défavorables ou que la logistique fait défaut, l'emploi d'inhibiteurs de croissance devient nécessaire pour contrôler les chenilles arrivées à un stade avancé. Les produits homologués au Maroc sont à base de Diflubenzuron, Triflumuron et Hexaflumuron. Ce sont essentiellement des larvicides d'ingestion qui perturbent le dépôt de chitine dans la cuticule. Ces produits sont efficaces contre tous les stades larvaires.

Résultats et discussion

Les figures 1 à 14 montrent la localisation et l'étendue des superficies traitées entre 1990 et 2004. En dehors du pic de 1994, l'infestation est restée faible et localisée. Elle débute généralement à l'ouest (canton A), atteint le centre du massif puis régresse et se cantonne dans des foyers localisés. Le traitement répété de quelques foyers primaires deux ou trois années de suite semble avoir donné de bons résultats. C'est le cas dans le canton A où l'élimination de ces foyers dans les zones d'El Menzeh et Taïcha semble avoir freiné l'extension de l'infestation. Malgré tout, l'effet de surprise demeure puisque en 1994, l'infestation a été forte malgré le traitement réalisé l'année précédente. Les interventions ont permis cependant de maîtriser la pullulation et, par la suite, les surfaces traitées ont diminué d'année en année.

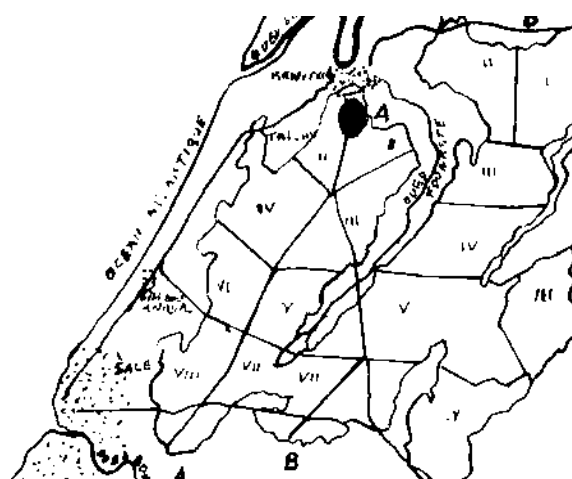


Fig. 1

1990 : 200 ha

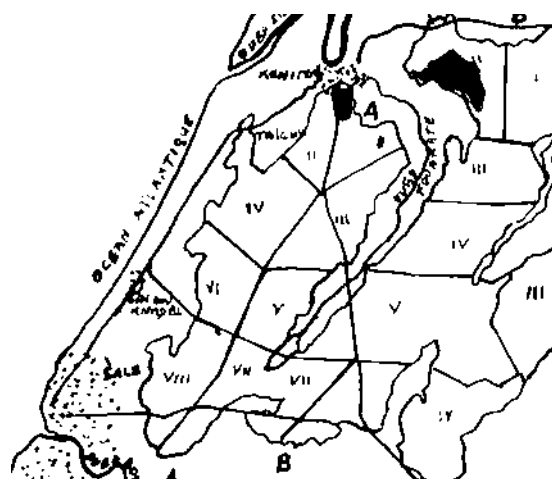


Fig. 2

1991 : 910 ha

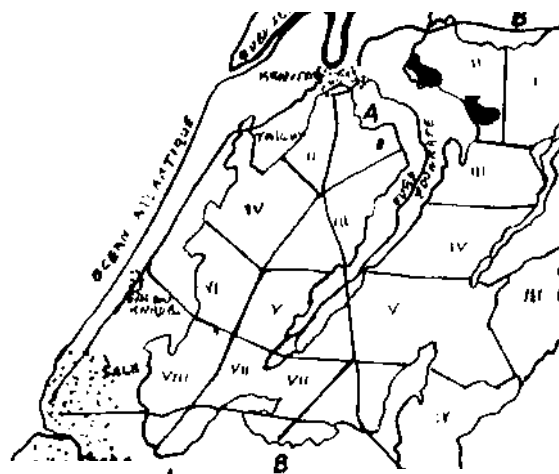


Fig. 3

1992 : 250 ha

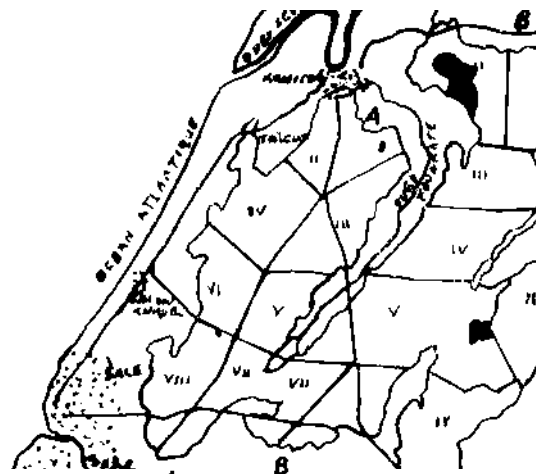


Fig. 4

1993 : 640 ha

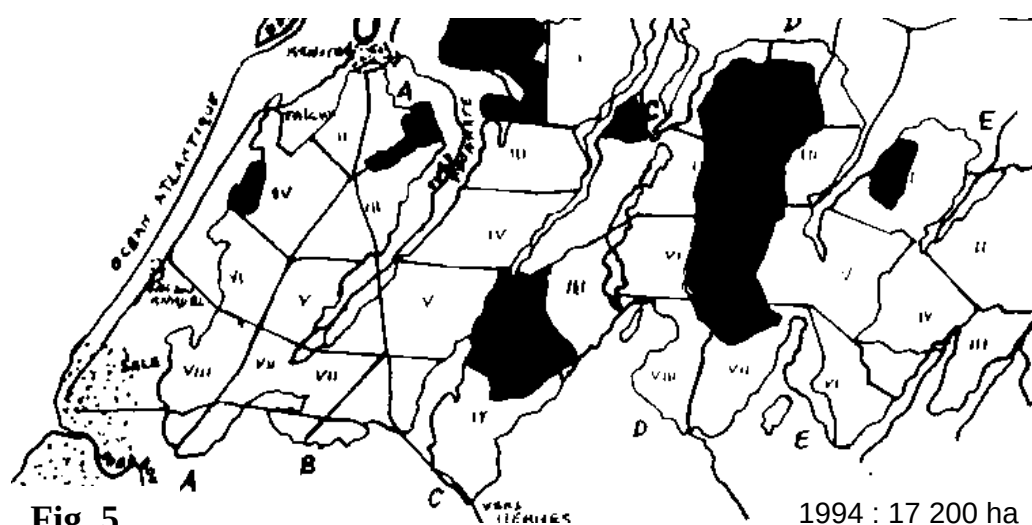


Fig. 5

1994 : 17 200 ha

Figures 1-5. Surfaces traitées contre *Lymantria dispar* en Mamora de 1990 à 1994

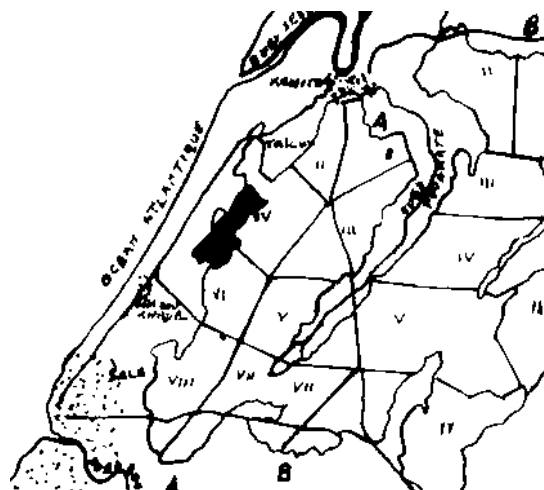


Fig.6

1995 : 680 ha



Fig. 7

1996 : 200 ha

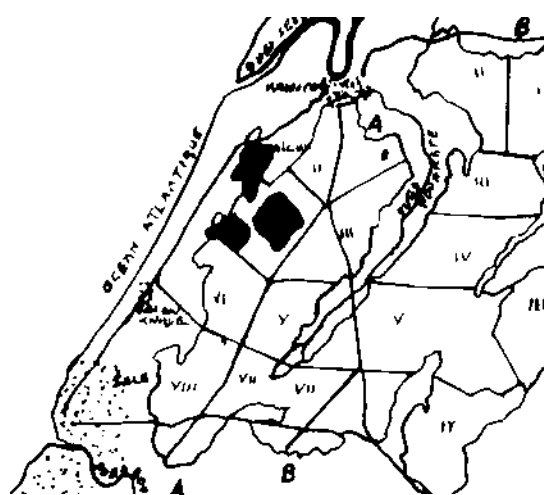


Fig. 8

1997 : 730 ha

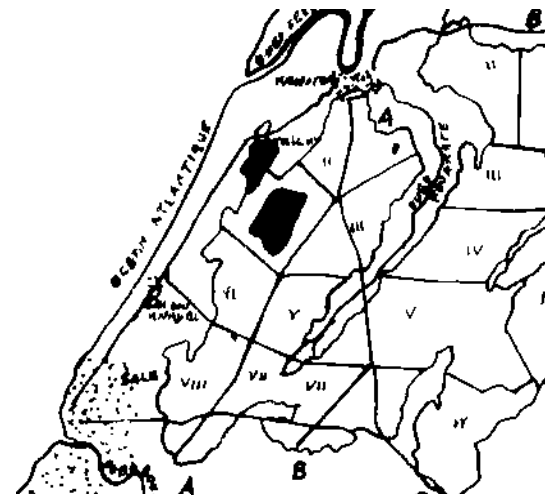


Fig. 9

1998 : 530 ha

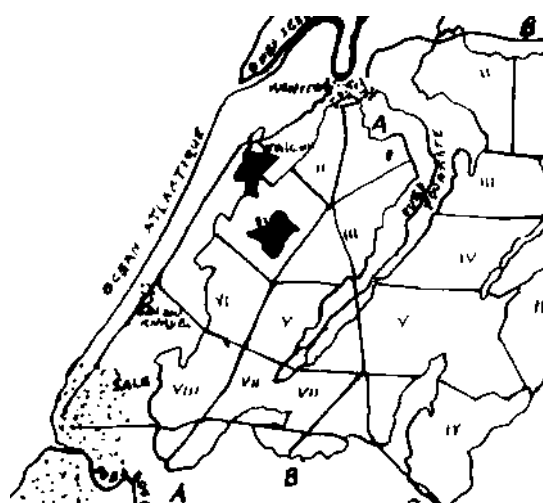


Fig. 10

1999 : 400 ha

Figures 6-10. Surfaces traitées contre *Lymantria dispar* en Mamora de 1995 à 1999

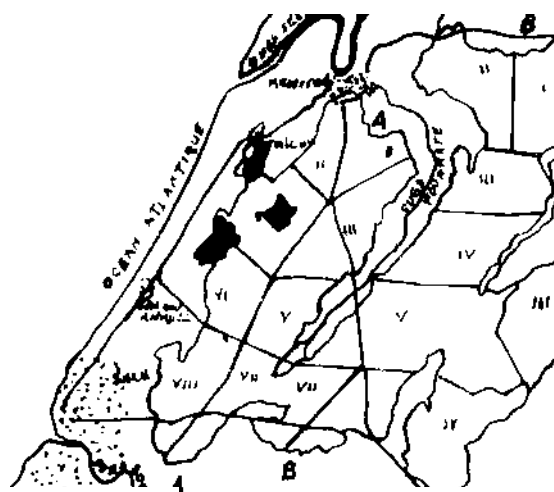


Fig. 11

2000 : 320 ha

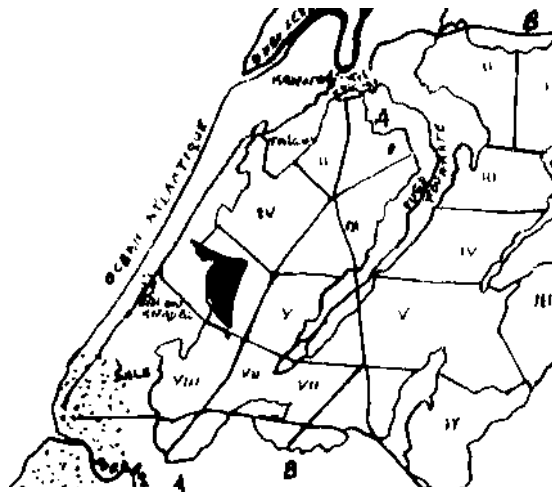


Fig. 12

2001 : 400 ha

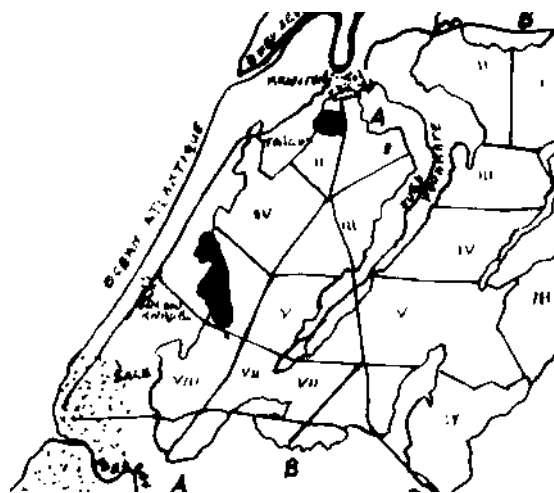


Fig. 13

2003 : 500 ha

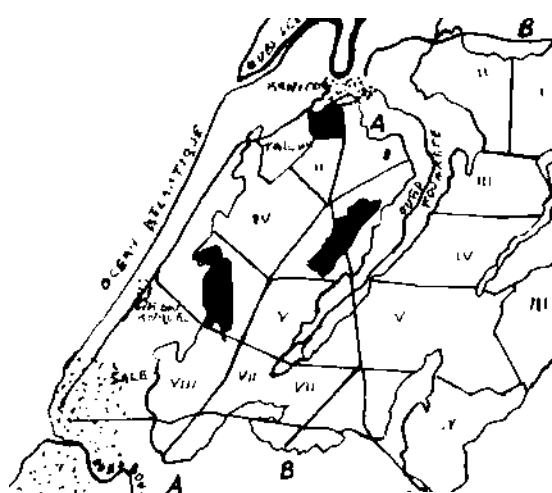


Fig. 14

2004 : 640 ha

Figures 11-14. Surfaces traitées contre *Lymantria dispar* en Mamora de 2000 à 2004

En 2002, aucun traitement n'a été nécessaire mais on a assisté depuis à la réapparition de quelques foyers, sans qu'un seuil inquiétant ait été atteint. Ces foyers ont une situation particulière dans la mesure où ils sont situés à proximité des habitations, comme à Mechraâ El Kettane et El Hancha Haouz, dans des parcelles dégradées et éclaircies par le pâturage intensif et l'anthropisation. Dans ces zones, le démarrage d'une gradation est toujours possible et on observe l'apparition régulière de foyers à l'intérieur d'une superficie restreinte.

Conclusion et perspectives

Toutes les études concordent sur le fait que les pullulations de *L. dispar* en forêt de la Mamora se répètent de façon cyclique avec une période d'environ 12 ans. Les interventions réalisées depuis 1999, probablement combinées certaines années à des conditions climatiques peu favorables au débourrement des chênes, semblent avoir permis de réguler ces pullulations

en les maintenant le plus souvent à l'intérieur de zones de dimensions limitées, ce qui les rend maîtrisables. On a ainsi, semble-t-il, pu interrompre le schéma habituel de développement d'ouest en est de la gradation à l'intérieur de la Mamora. L'idéal serait d'arriver à éviter totalement le développement d'une gradation.

Il serait indispensable par ailleurs de vérifier si l'efficacité du cortège des ennemis naturels se maintient malgré les traitements répétés, surtout en cas d'utilisation des inhibiteurs de croissance dont l'utilisation n'est pas sans danger pour le maintien de la biodiversité de l'entomofaune forestière. L'action des ennemis naturels, parasites et prédateurs des oeufs s'est montrée certaines années tout à fait déterminante, de sorte qu'aucun traitement n'a été nécessaire malgré l'importance des populations de pontes (Villemant & Fraval, 1995 ; Villemant & Ramzi, 1995). Il est donc indispensable de tenir compte de leur impact afin de déterminer le seuil en dessous duquel aucune intervention de lutte n'est justifiée.

Par ailleurs, on peut se demander si l'utilisation des mêmes produits microbiologiques pendant 15 ans ne va pas induire une résistance de la part du ravageur, ce qui conduirait à envisager l'utilisation de nouvelles formulations, plus efficaces, de ces produits.

Références

- El Hassani, A., Graf, P., Hamdaoui, M., Harrachi, K., Messaoudi, J., Mzibri, M. & Stiki, A. 1994 : Ravageurs et maladies des forêts au Maroc. Guide pratique pour la protection phytosanitaire des forêts. – Editions DPVCTRF Rabat, Maroc, 203 p.
- Fraval, A. ed. 1989 : *Lymantria dispar*. – Rabat, Actes éditions, Rabat, 220 p.
- Hamdaoui, M., 1995 : Surveillance et lutte contre le bombyx disparate au Maroc. – IOBC/wprs. Bull. 18(6): 100-103.
- Villemant C. & Ramzi H. 1995: Predators of gypsy moth (Lepidoptera : Lymantriidae) egg masses : spatio-temporal variation of their impact during the 1988-89 pest generation in the Mamora cork oak forest (Morocco). – Entomophaga, 40(3/4): 1-15.
- Villemant C. & Fraval A. 1995 : Le Bombyx disparate *Porthetria dispar* (L.) (Lép. Lymantriidae) dans la subéraie de la Mamora (Maroc) : trois modes successifs de régulation des populations. – IOBC/wprs Bull., 18(6): 60-65.

Infestation maps and area treated against gypsy moth between 1990 and 2004 in the Mamora cork oak forest (Morocco)

Abstract: *Lymantria dispar* is a major oak forest defoliator. In Morocco, it regularly infested the Mamora, a cork oak forest where a number of gradations occurred since 1917; the last two took place from 1972 to 1981 and 1993 to 1995. Since 1990, the annual survey of egg mass populations enabled undertaking preventive treatments in sites where their numbers reached a risk threshold. This paper presents maps of the treated areas and attempts to analyse the impact of phytosanitary treatments on gypsy moth population evolution during the last decade.

Keys words: *Lymantria dispar*, cork oak, cartography, phytosanitary treatment, Mamora, Maroc

Suivi de l'impact des ennemis naturels sur les pontes de *Lymantria dispar* dans une placette de la forêt de la Mamora (Maroc)

Noufissa Benhsain¹, Salwa El Antry², Zineb Atay Kadiri¹, Edmundo de Sousa³

¹ Faculté des Sciences ; Université Mohamed V, Agdal, Rabat, Maroc. atay@fsr.ac.ma

² Division de Recherches et Expérimentations Forestières, Rabat, Maroc

³ NIAP–Estação Florestal Nacional, Departamento de Protecção Florestal, Quinta do Marquês 2780 Oeiras, Portugal.

Résumé : Les ennemis naturels des oeufs de *Lymantria dispar* en phase de latence ont été étudiés dans une parcelle de la forêt de la Mamora occidentale. Leur impact a été évalué à l'aide des paramètres suivants : taux de démantèlement, nombre d'oeufs parasités et nombre d'oeufs éclos par ponte. Les autres types d'oeufs (secs, non embryonnés) ont été également dénombrés.

Mots clés : *Lymantria dispar*, oeufs, ennemis naturels, Mamora

Introduction

Lymantria dispar pullule en forêt de la Mâmora tous les 10-13 ans environ. Les oeufs du ravageur sont attaqués par le parasite *Ooencyrtus kuvanae* (Howard) et divers prédateurs appelés prédateurs-démanteleurs car ils détruisent les oeufs, plus en disloquant les pontes que par prédation. La répartition et la succession de leurs attaques ont été étudiées par Hérard & Fraval (1980) et Villemant (1995), sur des populations en phase de pullulation ou de rétrogradation. Depuis septembre 2002, nous avons étudié l'impact des ennemis des pontes *L. dispar* en phase de latence, dans une parcelle (AII₁) de la Mamora occidentale.

Matériel et méthodes

De juillet 2002 à mars 2004, 10 pontes ont été prélevées au hasard à différentes dates sur plusieurs arbres et à différentes hauteurs (de la base à 2 m de haut). En mars, avant l'éclosion, le taux de démantèlement des pontes a été évalué par une note de 1 à 4 correspondant à la proportion maximale (1/4, 1/2, 3/4 et 4/4) de surface perdue. Au laboratoire, les pontes ont été dilacérées pour y rechercher les prédateurs oophages. Après élimination des poils, on a compté le nombre d'oeufs de chaque ponte après un tri par catégories (viables, parasités, secs, non embryonnés). En mars, l'impact des prédateurs a été évalué en estimant l'effectif d'oeufs manquant à partir des données fournies par Villemant (1993) sur le pourcentage d'oeufs perdus en fonction de la note de démantèlement (note 1 : 15% ; 2 : 40% ; 3 : 65% ; 4 : 90%).

Résultats

Outre le parasite *O. kuvanae* (Encyrtidae), on a trouvé dans les pontes les larves des prédateurs suivants : *Dermestes lardarius* (L.), *Trogoderma versicolor meridionalis* Kraatz, *Anthrenus verbasci* (L.) et *Anthrenus vladimiri* Menier & Villemant (Dermestidae), *Tenebroides maroccanus* (Reitter) (Trogossitidae), *Dasytes terminalis* (Du Val) (Melyridae), *Aglossa caprealis* (Hübner) (Pyralidae), *Niditinea fuscipunctella* (Haworth) (Tineidae).

Les premiers œufs sont attaqués par *O. kuvanae* dès juillet, peu de temps après la ponte. En décembre, on trouve des œufs parasités dans la quasi-totalité des pontes prélevées (Fig. 1).

Sur 22 pontes prélevées en mars, 11 avaient perdu 1/4 de leur surface, 5 la moitié et 6 autres les 3/4. Il restait en moyenne 319 œufs par ponte dont 130 (41%) étaient parasités. La dislocation des pontes par les prédateurs a conduit à la perte de 174 œufs en moyenne soit environ 35% du total initial (Fig. 2), qui a été estimé à 493 œufs en moyenne. Les pontes prélevées en juin renfermaient en moyenne 400 œufs viables. En mars, après l'attaque des ennemis naturels, seule une centaine d'œufs était encore susceptible d'éclore. Outre les œufs non embryonnés (une vingtaine), le nombre d'œufs secs (une soixantaine) est par contre demeuré stable entre ces deux dates.

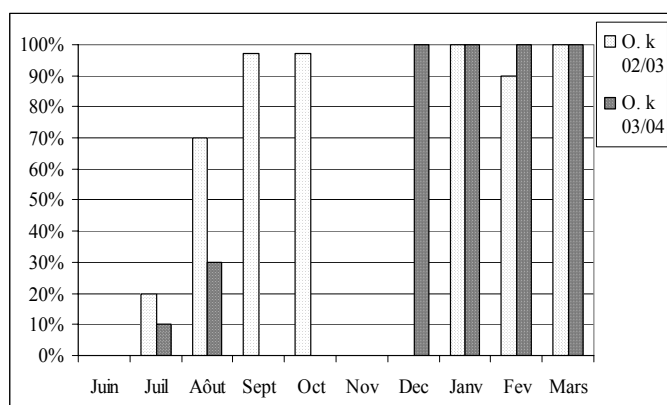


Figure 1. Pourcentage de pontes parasitées par *O. kuvanae* (O.k) en 2002-2003 et 2003-2004

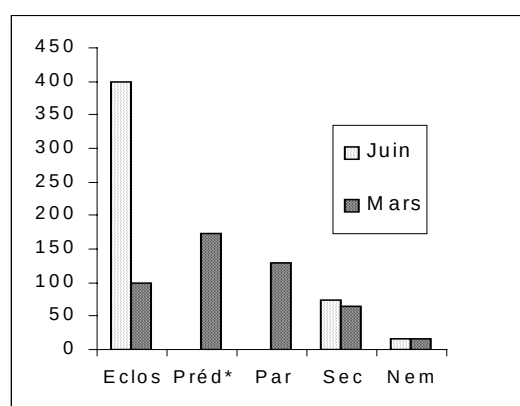


Figure 2. Effectifs moyens d'œufs/ponte
Eclos ; Préd : prédats (estimé),
Par : parasités ; Secs ; Nem : non
embryonnés

L'activité des parasites et des prédateurs oophages a ainsi réduit de 75% les potentialités d'éclosion de *L. dispar* entre juin et mars. Ces résultats confirment que les ennemis naturels des œufs sont le principal facteur de mortalité dans la parcelle étudiée. Leur activité, en phase de latence, empêche une élévation trop rapide de la densité des populations du défoliateur.

Références

- Hérard, F. & Fraval, A. 1980 : La répartition et les ennemis naturels de *Lymantria dispar* L. (Lep. Lymantriidae) au Maroc ; 1973-1975. – Acta Oecologica, Oecol. Applicata : 1(1) : 35-48.
- Villemant, C. 1993 : Les prédateurs-démanteleurs des pontes de *Porthetria dispar* dans les subéraies marocaines. – Thèse Université Orléans. 267 p.
- Villemant, C. 1995 : Les prédateurs-démanteleurs des pontes de *Porthetria dispar* (L.) (Lép. Lymantriidae) en subéraie marocaine. – IOBC/wprs Bull. 18(6) : 87-94.

Impact of natural enemies of gypsy moth eggs in the Mamora forest (Morocco)

Abstract: Egg natural enemies of gypsy moth were studied in the Mamora forest during the pest latency period. Their impact was evaluated using the following parameters: egg mass dislocation index number of parasitized and hatching eggs. The others categories (died, without embryo) of eggs present in egg masses were also numbered.

Key words: *Lymantria dispar*, eggs, natural enemies, Mamora forest

Effets des extraits de plantes associées au chêne-liège sur l'attraction en enceinte des chenilles de *Lymantria dispar*

Mohamed Laïd Ouakid¹, Jean-Pierre Farine², Nouredine Soltani¹

¹ Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de Annaba, 23000 Annaba, Algérie

² CNRS UMR 5548, « Développement – Communication chimique chez les Insectes », Université de Bourgogne, Faculté des Sciences, 6 Bd gabriel, 21000 Dijon, France

Résumé : *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera, Lymantriidae) pullule périodiquement dans les subéraies du nord-est de l'Algérie. Les chenilles sont capables de consommer d'autres végétaux lorsque le débourrement des chênes est retardé. Leur attraction par différents extraits végétaux (*Quercus suber*, *Q. faginea*, *Q. petraea*, *Crataegus oxyacanta* et *Daphne gnidium*) a été testée. Les composés aromatiques volatils des feuilles, extraits par deux solvants, le pentane et le dichlorométhane, ont été identifiés et quantifiés. Les tests d'attractivité réalisés en enceinte close révèlent que les chenilles des deux premiers stades sont plus attirées par les extraits pentaniques de chêne-liège et d'aubépine alors que les larves plus âgées répondent plus aux extraits de *Quercus suber* et *Q. faginea*.

Mots clés : *Lymantria dispar*, substances odorantes, attraction, chêne.

Introduction

En Algérie, les premières infestations de *Lymantria dispar* (nom local, *bougtefa*), ont été signalées entre 1923 et 1926 au nord-est de l'Algérie, dans la forêt de l'Edough (région d'Annaba) (Delassus, 1925). D'autres infestations ont été constatées à M'sila, au sud d'Alger, en 1925 et dans les régions de la Mitidja, Boghni, Azzazga, El Kala et Tlemcen au cours des années 1930 (Balachowsky & Mesnil, 1935), puis en 1961 au Sud-Ouest de Azzazga (Khouss, 1993). En 1985-1986, 12 634 ha de chênaie des wilayas de Jijel, Skikda, Annaba, El Tarf, Tizi Ouzou et M'sila ont été défoliés. Ces pullulations ont été étudiées dans les régions de l'Edough, de l'Oued Hebaba (Hamra Kroua, 1989), de Gourrah (Ouakid, 1991) et du Djurjura (Khouss, 1993). Nous avons effectué un suivi des populations en 1985 dans la forêt de Gourrah et en 1992 dans la forêt de Nahed. Dans le sous-bois de ces forêts, on trouve avec le chêne-liège (*Quercus suber*), du chêne zeen (*Q. faginea*), de l'aubépine (*Crataegus oxyacanta*) et du garou (*Daphne gnidium*). Cette étude a pour objectif de tester l'activité biologique, pour les chenilles de *L. dispar*, des composés aromatiques contenus dans les feuilles de ces plantes. L'attractivité des composés volatils majoritaires, comme le (Z)-3-hexenal, le (E)-2-hexenal, le (Z)-3-hexenol et le (E)-2-hexenol a également été précisée.

Matériel et méthodes

Les chenilles, issues de pontes récoltées sur le terrain, sont élevées au laboratoire à température ambiante (26°C, 75% HR en moyenne) et nourries quotidiennement de feuilles fraîches de chêne-liège.

Préparation des extraits

Les extraits sont réalisés avec deux solvants : le pentane et le dichlorométhane (CH₂Cl₂). 50g de feuilles fraîches (chêne-liège, chêne zeen, chêne sessile, garou et aubépine) sont coupées

en fines lamelles et plongées dans 200 ml de solvant contenant 100 µg d'octane et 100 µg de tétradécane (standards internes). L'extrait est agité pendant 30 min puis filtré sur laine de verre. Les feuilles sont extraites une seconde fois par 200 ml du même solvant. Les deux échantillons, poolés et concentrés à 1 ml par microdistillation, sont conservés au congélateur (-20°C) jusqu'à leur utilisation. Une essence de la région de Dijon, le chêne sessile (*Quercus petraea*) a également été testée dans un but comparatif.

Les extraits utilisés pour les tests biologiques sont réalisés avec les mêmes solvants, mais sans standard interne. Ils sont concentrés puis évaporés sous flux d'azote pour que leur concentration soit équivalente à la fraction aromatique correspondant à 10 mg de feuilles pour 5 µl d'extrait.

Analyse chimique

Le chromatographe (Varian CP 9000) comprend une colonne capillaire en silice fondue de polarité moyenne (DB 1701, 30 m x 0,25 mm, Supelco), un injecteur de type split-splitless et un détecteur à ionisation de flamme. Le gaz vecteur est l'hydrogène. La programmation de température est la suivante: 40°C pendant 2 min, 20°C/min pendant 1 min, 2°C/min jusqu'à 154°C, puis 10°C/min jusqu'à 250°C. Les températures de l'injecteur et du détecteur sont respectivement de 260 et de 280°C. Le signal enregistré est analysé avec le programme Maestro (Chrompack). Chaque analyse est répétée sur cinq échantillons différents. La concentration des composés est calculée en fonction du facteur de réponse de chacun d'eux après injection d'un mélange de référence (composés de synthèse).

L'identification des composés a été réalisée par couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC/MS) au Laboratoire de Recherche sur les Arômes de l'INRA de Dijon. Le chromatographe (Girdel 31) est équipé d'une colonne capillaire en silice fondue de type polaire (DB FFAP; 30 m x 0,25 mm, J&W) couplée à un spectromètre de masse quadripôle Nermag R 10-10C. La température est programmée comme précédemment. Les spectres de masse obtenus sont comparés aux spectres de référence publiés dans le EPA-NIH Mass Spectral Data Base et ceux de la bibliothèque de spectres de l'INRA.

Tests en enceinte

Les tests d'attractivité ont été réalisés dans un aquarium en verre (56 x 16 x 25 cm) recouvert par un couvercle en verre. Le sol est divisé en trois parties: une zone de départ (zone A : 6 cm), une zone de parcours (zone B : 44 cm) et une zone où est déposée la source odorante (zone C : 6 cm). Les chenilles sont isolées une heure avant le début du test. Un morceau de feuille fraîche (30 mg) ou l'extrait à tester (fraction aromatique correspondant à 30 mg de feuille déposée sur du papier filtre de 2,5 x 1 cm) est déposé en C. On ferme l'aquarium quelques secondes puis on place la chenille dans la zone A. On note alors le temps de latence (TL) mis par la chenille pour quitter la zone A et le temps d'arrivée (TA), nécessaire pour parcourir la zone B et atteindre la zone C. Tous les tests sont effectués à 25 ± 2°C et 70%-75% HR sous lumière rouge de faible intensité. Entre chaque test, l'aquarium est lavé à l'eau distillée puis rincé avec le solvant ayant servi à l'extraction des végétaux (pentane, CH₂Cl₂). Chaque test est répété 20 fois sur chaque stade larvaire. Les temps obtenus sont comparés à l'aide du test de Kruskal-Wallis. Certains résultats ont été affinés par comparaison multiple pas-à-pas (Scherrer, 1984).

Résultats

Analyse chimique des différents extraits végétaux.

Les analyses chromatographiques montrent que les extraits de feuilles ont des profils comparables quel que soit le végétal ou le solvant utilisé. Une centaine de composés ont été détectés. La fraction aromatique comprend une fraction volatile et une fraction peu, voire pas,

volatile (fraction lourde). Leurs proportions respectives dépendent du solvant utilisé comme de l'espèce végétale (Tab. 1). Excepté pour l'aubépine, le pentane permet d'extraire beaucoup plus de composés volatils (16 à 36% environ selon l'extrait) que de composés lourds (64 à 84% environ selon l'extrait). Le CH_2Cl_2 permet d'extraire surtout les composés lourds (89 à 96% selon l'extrait).

Tableau 1. Pourcentage des fractions volatiles et lourdes obtenus après extraction des feuilles par deux solvants de polarité différente.

	Pentane		Dichlorométhane	
	Fraction volatile	Fraction lourde	Fraction volatile	Fraction lourde
Chêne-liège	23,25	76,75	6,12	93,88
Chêne zeen	36,03	63,97	6,86	93,14
Chêne sessile	30,85	69,15	11,34	88,63
Garou	15,59	84,41	3,80	96,20
Aubépine	28,12	71,89	55,48	44,52

L'identification chimique par GC/MS a permis de reconnaître une quarantaine de composés appartenant à différentes classes chimiques (aldéhydes, alcools, cétones, acides, hydrocarbures saturés ou insaturés, terpènes, sesquiterpènes...). La fraction volatile se compose surtout d'alcools et d'aldéhydes de faible masse moléculaire (72 à 142). La fraction lourde, très peu volatile, comprend de nombreux sesquiterpènes et hydrocarbures saturés (C22 à C29) dont la masse est généralement supérieure à 200. La quantité de chacun des composés identifiés varie selon la nature du végétal (Tab. 2-3).

Tableau 2. Pourcentage des différents composés volatiles majoritaires rencontrés dans la fraction aromatique des feuilles.

	<u>Chêne-liège</u>		<u>Chêne zeen</u>		<u>Chêne sessile</u>	
	Pentane	CH_2Cl_2	Pentane	CH_2Cl_2	Pentane	CH_2Cl_2
(Z)-3-hexenal	35,69	3,12	55,34	12,67	67,96	22,07
(E)-2-hexenal	42,28	18,99	18,19	8,21	18,69	22,69
(Z)-3-hexenol	3,18	27,23	3,03	3,44	3,54	12,68
(E)-2-hexenol	2,74	11,39	0,30	0,78	2,07	0,30

	<u>Garou</u>		<u>Aubépine</u>	
	Pentane	CH_2Cl_2	Pentane	CH_2Cl_2
(Z)-3-hexenal	47,48	traces	15,09	1,78
(E)-2-hexenal	2,01	traces	44,89	28,08
(Z)-3-hexenol	43,75	22,47	10,15	10,97
(E)-2-hexenol	0,99	42,73	20,97	2,26

Quatre composés volatils majoritaires ont été identifiés dans les extraits de feuilles des végétaux analysés : (Z)-3-hexenal, (E)-2-hexenal, (Z)-3-hexenol et (E)-2-hexenol. La proportion et la quantité de chaque composé varient en fonction du végétal comme du solvant utilisé (Tab. 2). Ainsi, pour le chêne-liège, le (E)-2-hexenal (42%) et le (Z)-3-hexenal (36%)

sont majoritaires dans un extrait au pentane alors qu'avec le CH₂Cl₂ ce sont le (Z)-3-hexenol (27%), le (E)-2-hexenal (19%) et le (E)-2-hexenol (11%) qui dominent.

Tableau 3. Analyse chimique et quantification des différents composés présents dans les extraits de feuilles. – P, pentane; D, CH₂Cl₂; CL, chêne-liège; CZ, chêne zeen; CS, chêne sessile; A, aubépine; G, garou. +++, >200 ng/10 mg de feuilles; ++, 5 à 20 ng/mg de feuilles; +, 1-5 ng/mg de feuilles; - <1 ng/mg de feuilles.

Composés		PCZ	DCZ	PCL	DCL	PCS	DCS	PG	DG	PA	DA
Fraction volatile	butanone-2	+	+	++	++	+	–	+	–	–	–
	methyl butenol				+		–				++
	3-methyl-3-buten-2-one		–		++		–				+++
	1-penten-3-ol	–	–	–	+	–	–			–	
	3-penten-2-ol						–				++
	hexanal	+	–	–	–	–	–	–		–	–
	(Z)-3-hexenal	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	–	+++	++
	2-methyl-3-penten-1-ol		+++		+++		–				+++
	(E)-2-hexenal	+++	++	+++	++	+++	++	+	–	+++	+++
	(Z)-3-hexenol	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
	(E)-2-hexenol	+	++	++	++	+	+++	+	+++	+++	+++
	(Z)-3-hexenol acetate	–	–			–	–			++	–
	5-ethyl-2(5H)-furanone	+++	++	–		+		–		–	
	2-hydroxy benzaldehyde					+	+				
	benzeneacetaldehyde	–	–	+	+		–				
	(E)-3-hexenoic acid	–	++				+			–	
	nonanal	–	–	–	–	–	–	–		–	
	5-ethyldihydro-2(3H)-furanone	++	–			–	–			–	
Fraction lourde	(E)-geraniol	+++	+++			–	–				
	alpha-cubenene	+	+++								
	beta-bourbonene	+++	+++			–					
	beta-cubebene	–	++								
	beta-caryophyllene	++	++			–	–			–	
	eugenol			+	+	+	+				
	epi-bicyclosesquiphellandrene	+++	+++	+	++	++					
	alpha-farnesene	++	++			++	+			+++	+++
	beta-germacrene	++	+								
	delta-cadinene	++	++								
	(-)-spathulenol	++	++								
	inconnu (sesquiterpène)	+	+								
	inconnu (sesquiterpène)	++	++								
	inconnu (sesquiterpène)	+++	+++								
	inconnu (sesquiterpène)	+++	+++								++
	hexadecanoic acid, methyl ester	++	++								
	linoleic acid, methyl ester	+	–								
	docosane							–	+	–	
	tricosane	+	+	++	++	+++	+	–	–	–	
	tetracosane	–	–	+	+	++	+			–	
	pentacosane	+	++			–	+++				
	heptacosane	++	+++	++							
	nonacosane	+	+++	++	+			–	+++		–

Tests biologiques en enceinte.

Nos résultats (Tab. 4) montrent que les chenilles, quel que soit leur stade, ne sont attirées ni par le pentane, ni par le CH₂Cl₂ mais le sont plus ou moins par les différents extraits ou les morceaux de feuilles témoins.

Tableau 4. Attraction en enceinte des différents stades larvaires de *L. dispar* par des feuilles et des extraits de plantes [secondes, m (se)]. – TL, temps de latence; TA, temps d'arrivée; -, attraction nulle. P, pentane; D, dichlorométhane; F, feuille. CL, chêne liège; CZ, chêne zeen; CS, chêne sessile; A, aubépine; G, garou

Extraits	L1		L2		L3	
	TL	TA	TL	TA	TL	TA
P-CL	380,79 (13,88)	722,14 (19,40)	11,64 (1,51)	103,64 (5,64)	9,15 (0,65)	69,77 (3,19)
P-CZ	612,79 (37,19)	709,86 (25,39)	10,79 (1,25)	104,71 (9,01)	13,69 (0,80)	105,38 (2,71)
P-CS	43,77 (2,71)	250,00 (4,96)	9,00 (0,82)	124,00 (9,05)	13,15 (0,81)	80,62 (3,38)
P-A	47,21 (1,94)	278,36 (5,93)	27,14 (1,76)	188,93 (11,29)	43,62 (2,08)	186,46 (7,89)
P-G	294,73 (27,20)	746,91 (40,85)	326,58 (29,84)	335,08 (19,65)	13,69 (0,87)	95,54 (3,02)
D-CL	114,86 (3,92)	745,64 (37,09)	12,71 (1,18)	58,71 (2,44)	12,85 (0,82)	93,54 (4,22)
D-CZ	163,29 (5,77)	559,64 (21,85)	14,57 (0,76)	99,00 (4,83)	21,31 (0,75)	118,77 (3,73)
D-CS	95,54 (4,97)	330,23 (16,21)	8,14 (1,04)	51,86 (2,77)	15,31 (0,92)	92,46 (2,92)
D-A	52,79 (3,04)	288,14 (5,57)	4,57 (0,55)	60,00 (2,77)	55,46 (2,77)	184,69 (5,96)
D-G	584,36 (31,78)	672,27 (37,87)	136,25 (11,56)	255,83 (21,86)	18,85 (0,59)	97,38 (3,12)
F-CL	48,50 (1,07)	236,14 (8,61)	13,71 (0,99)	81,36 (2,29)	10,08 (0,52)	36,62 (1,60)
F-CZ	55,93 (1,76)	247,14 (6,22)	18,86 (0,82)	100,43 (3,39)	12,38 (0,71)	42,08 (1,35)
F-CS	57,29 (2,15)	236,00 (6,17)	97,14 (2,95)	136,21 (2,80)	14,92 (0,76)	56,54 (1,90)
F-A	27,93 (0,93)	152,86(0,93)	6,50 (0,68)	52,14 (1,46)	31,31 (1,75)	87,62 (3,12)
F-G	286,18 (25,76)	822,55 (67,59)	238,92 (24,08)	421,08 (39,23)	14,08 (0,77)	76,54 (1,85)

	L4		L5	
	TL	TA	TL	TA
P-CL	6,43 (0,52)	41,71 (0,81)	5,23 (0,52)	28,00 (2,22)
P-CZ	15,86 (0,66)	44,5 (1,46)	5,08 (0,49)	29,92 (2,28)
P-CS	15,00 (0,73)	108,43 (1,97)	43,77 (1,52)	121,54 (4,76)
P-A	76,14 (4,34)	158,93 (5,77)	55,00 (1,50))	142,50 (7,50)
P-G	-	-	-	-
D-CL	15,29 (52,00)	84,29 (2,65)	3,00 (0,30)	26,08 (1,62)
D-CZ	14,14 (0,68)	27,29 (1,21)	3,47 (0,27)	35,20 (2,69)
D-CS	17,21 (0,82)	161,79 (5,01)	54,08 (3,28)	148,85 (5,17)
D-A	32,57 (2,05)	111,14 (4,69)	124,00 (33,42)	142,00 (14,47)
D-G	-	-	-	-
F-CL	6,79 (0,55)	25,57 (1,28)	4,13 (0,31)	21,07 (0,62)
F-CZ	7,50 (0,42)	28,43 (0,78)	4,47 (0,24)	26,20 (0,85)
F-CS	9,57 (0,50)	32,57 (1,27)	4,71 (0,53)	31,36 (1,24)
F-A	24,71 (1,40)	79,57 (2,33)	-	-
F-G	-	-	-	-

Premier stade larvaire (L1) : l'analyse statistique montre que les temps mesurés diffèrent significativement pour les TL (H corrigé = 184,72; $p = 0,0001$) et les TA (H corrigé = 174,94; $p = 0,000$). La comparaison pas-à-pas montre que les L1 sortent plus rapidement de la zone de latence avec les feuilles de chênes et d'aubépine qu'en présence de garou. Les extraits au pentane du chêne sessile et de l'aubépine les attirent plus rapidement que ceux des autres végétaux. Pour les extraits au CH_2Cl_2 , l'attraction est plus rapide avec l'aubépine qu'avec les différents chênes; l'extrait de garou étant significativement le moins attractif. Les L1 sont plus attirées par les extraits au pentane de l'aubépine et du chêne sessile que par ceux du chêne-liège et du chêne zeen; l'extrait du garou donne les temps d'arrivée les plus longs.

Deuxième stade larvaire (L2) : quel que soit le stimulus, les temps moyens mesurés sont significativement différents (TL : H corrigé = 173,33; $p = 0,0001$), TA : H corrigé = 181,32; $p = 0,0001$). Les larves se déplacent plus rapidement vers les feuilles d'aubépine et beaucoup plus lentement vers les feuilles de garou. Avec les extraits au pentane, l'attraction des chenilles est toujours plus rapide pour les différents chênes et plus lente pour l'aubépine et le garou.

Troisième stade larvaire (L3) : Les L3 se comportent de la même façon vis-à-vis des extraits réalisés au pentane ou au CH_2Cl_2 . Les temps moyens sont significativement différents (TL : H corrigé = 149,01; $p = 0,0001$, TA : H corrigé = 167,44; $p = 0,0001$). Les L3 se déplacent toujours plus vite vers les extraits de chênes et de garou et significativement moins vers l'aubépine. Ce sont les feuilles de chêne-liège et de chêne zeen qui les attirent le plus.

Quatrième stade larvaire (L4) : Les feuilles et les extraits de garou ne provoquent aucune attraction. Pour les autres stimuli, les temps moyens diffèrent significativement (TL : H corrigé = 154,85, $p = 0,0001$; TA : H corrigé = 163,63, $p = 0,0001$). Les larves sont plus attirées par les feuilles de chênes. Les extraits au pentane de chêne-liège et de chêne zeen sont plus attractifs que ceux de chêne sessile. Avec les extraits au CH_2Cl_2 , les chenilles sortent plus vite de la zone de latence et arrivent plus vite au contact du test dans le cas du chêne zeen; le chêne sessile est le moins attractif des trois chênes testés.

Cinquième stade larvaire (L5) : Les feuilles et les extraits de garou n'attirent pas les larves de cinquième stade. Pour tous les autres stimuli, les temps moyens diffèrent significativement (TL : H corrigé = 83,72, $p = 0,0001$; TA : H corrigé = 88,15, $p = 0,0001$). Toutes les feuilles de chênes attirent significativement les larves alors que les feuilles d'aubépine n'ont aucun effet. Les extraits au pentane de chêne-liège et de chêne zeen sont plus attractifs que ceux de chêne sessile et d'aubépine. De même, les extraits au CH_2Cl_2 de chêne-liège et de chêne zeen sont significativement plus attractifs que ceux de chêne sessile. L'attractivité la plus faible est enregistrée avec les extraits au CH_2Cl_2 de l'aubépine.

Discussion

Dans la nature, les insectes herbivores ont généralement le choix entre une grande variété de plantes qui assurent un développement plus ou moins complet des stades précoces (Barbosa & Capinera, 1977). Selon son origine géographique, *L. dispar* peut consommer plus de 500 espèces de plantes de différentes familles. Cependant, les chênes restent la plante hôte préférée de ce ravageur.

La sélection des plantes par les insectes consiste en une séquence comportementale en réponse à un ou plusieurs stimuli associés à la plante (Staedler, 1976). Les composés allélochimiques (attractifs ou répulsifs) contenus dans les végétaux jouent un rôle majeur dans l'acceptation de la plante par l'insecte. En cas d'attaque par des phytophages, les feuilles fraîches dégagent une odeur plus intense qui serait un signal chimique pour attirer ou repousser les insectes. La fraction volatile émise dans l'air par les feuilles vertes est composée

principalement d'un mélange d'aldéhydes, d'alcools et d'acétate (Ruther et al., 2002). L'analyse chimique que nous avons réalisée montre la grande diversité de la composition aromatique des feuilles selon l'essence étudiée. Parmi tous les composés identifiés dans les feuilles des plantes étudiées, la fraction volatile majoritaire est constituée de (Z)-3-hexenal, de (E)-2-hexenal, de (Z)-3-hexenol et de (E)-2-hexenol. Selon le type de solvant utilisé, il existe des variations, quantitatives et qualitatives, de ces composés selon l'essence considérée.

Les alcools et les aldéhydes, caractéristiques de l'odeur verte des feuilles, sont connus pour affecter le comportement de nombreux insectes phytophages (Visser, 1986) et la sensibilité du système olfactif des insectes pour ces composés est bien établie (Mitchell & McCashin, 1994). En cas d'attaque du végétal, les récepteurs olfactifs des palpes, des antennes ou des tarses réagissent aux composés volatils émis, favorisant la localisation de la plante hôte. Cependant, un signal ne peut être enregistré que lorsque la concentration des différents composés testés reste voisine de celle émanant de la plante. La variation qualitative des composés peut également jouer un rôle important dans la défense de la plante (Bowers & Puttick, 1988).

Chez *L. dispar*, nous avons montré que le comportement de recherche alimentaire varie selon le stade larvaire. Dans la nature, les larves néonates présentent deux types de dispersion. La dispersion primaire, depuis la ponte, leur permet de parcourir jusqu'à 3,5 m pour accéder aux jeunes feuilles (Fraval, 1989). La dispersion secondaire, due au vent, est la cause de l'expansion géographique de l'espèce et la colonisation de nouveaux sites (Weseloh, 1985). Les chenilles plus âgées sont capables de discriminer entre des plantes hôtes plus ou moins favorables d'un point de vue nourriture et/ou abri, ce qui entraîne leur déplacement orienté entre les arbres (Barbosa, 1978a et b; Lance, 1983).

En cas de pullulation, les chenilles peuvent s'attaquer à d'autres espèces végétales sur lesquelles elles peuvent, ou non, achever leur cycle de développement (Stoyenoff et al., 1994). Dans l'Est algérien, lors d'un retard de débourrement du chêne-liège ou lorsque des pontes sont éloignées de la plante hôte, les larves peuvent poursuivre une partie de leur développement sur diverses essences : autres espèces de chênes, aubépine, garou (Ouakid et al., 2001). Nous avons montré que, selon la nature des feuilles et des extraits testés, les chenilles présentent deux types de comportement : des réponses homogènes des jeunes larves (L1 et L2) vers certains végétaux et des réponses homogènes des larves âgées (L4 et L5) vers d'autres végétaux. Les L3 ne montrent pas de choix net. Les jeunes larves sont plus attirées par les feuilles et les extraits d'aubépine, que par les feuilles et les extraits de chênes alors que le garou est très peu attractif. Les larves âgées sont plus attirées par les feuilles et les extraits de chênes, et peu, voire pas du tout, par les feuilles et les extraits d'aubépine ou de garou. Ces résultats sont corroborés par le fait que les chenilles n'achèvent pas leur développement si elles sont nourries d'aubépine ou de garou (Ouakid et al. 2001). Le rôle exact des composés chimiques majoritaires présents dans les différents végétaux testés sur l'attraction à distance des chenilles de *L. dispar* sera étudié dans un proche avenir.

Références

- Balachowsky, A.S. & Mesnil, L. 1935: Les insectes nuisibles aux plantes cultivées. Vol. 1 – Paris, Mery: 85-93.
- Barbosa, P. 1978 a: Distribution of an endemic larval gypsy moth population among various tree species. – Environ. Entomol. 7: 526-527.
- Barbosa, P. 1978 b: Host plant exploitation by the gypsy moth, *Lymantria dispar* (L.). – Entomol. Exp. Appl. 24: 228-237.
- Barbosa, P. & Capinera, J.L. 1977: The influence of food on development characteristics of the gypsy moth *Lymantria dispar* (L.). – Canadian J. Zool. 55: 1424-1429.

- Barbosa, P.; Gross, P.; Provan, G.J.; Pachero, D.Y. & Stermitz, F.R. 1990: Allelochemicals in foliage unfavored tree hosts of gypsy moths, *Lymantria dispar* L. Alkaloids and other components of *Liriodendron tulipifera* L. (Magnoliaceae), *Acer rubrum* L. (Aceraceae), and *Cornus florida* L. (Cornaceae). – J. Chem. Ecol. 16 : 1719-1738.
- Bowers, D.M. & Puttick, G.M. 1988: Response of generalist and specialist insect to qualitative allelochemical variation. – J. Chem. Ecol. 14 : 319-333.
- Delassus, M. 1925 : La lutte contre le *Liparis dispar* dans le massif de l'Edough. – Revue Agricole de l'Afrique du Nord, 23 : 334-352.
- Elkinton, J.S. & Liebhold, A.M. 1990: Population dynamics of Gypsy moth in North America. – Annu. Rev. Entomol. 35 : 571-596.
- Fraval, A. 1989 : *Lymantria dispar*. – Actes Editions, Rabat, Maroc, 220 p.
- Hamra Kroua, S. 1989 : La bioécologie de la "Spongieuse" *Lymantria dispar* dans les forêts de chêne-liège dans le nord constantinois. – Thèse de Magister, Université de Constantine, Algérie, 98 p.
- Khous, M.G. 1993: Contribution à l'étude de l'écobiologie et du contrôle naturel du *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera; Lymantriidae) en chênaie verte du Djurdjura (Tikjda). – Thèse de Magister, Université de Houari Boumediène, Algérie, 133 p.
- Lance, D.R. 1983: Host-seeking behavior of the gypsy moth: The influence of polyphagy and highly apparent host plants. – In : Herbivorous Insects: Host-seeking behavior and Mechanisms, ed. Ahmad, Academic Press, New York : 201-224.
- Mitchell, B.K. & McCashin, B.G. 1994: Tasting green leaf volatiles by larvae and adults of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. – J. Chem. Ecol. 20 : 753-769.
- Ouakid, M.L. 1991: Etude d'un ravageur des forêts : *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Lymantriidae). Bioécologie dans la forêt de la Gourrah. Action des facteurs écologiques et activité du thuricide HP et du dimilin. – Thèse Magister, Université d'Annaba, Algérie, 87 p.
- Ouakid, M.L. Farine, J.P. & Soltani, N. 2001: Etude du développement de *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera, Lymantriidae) sur quelques espèces végétales associées au chêne-liège. – Sciences et Technologie 16 : 85-90.
- Ruther, J., Reinecke, A. & Hilker, M. 2002: Plant volatiles in sexual communication of *Melolontha hippocastani*: response towards time-dependant bouquets and function of (Z)-3-hexen-1-ol as a sexual kairomone. – Ecol. Entomol. 27: 76-83.
- Staedler, E. 1976: Sensory aspects of insect plant interactions. – Proc. XV Int. Congr. Entomol., Washington D.C.: 228-48.
- Stoyenoff, J.L., Witter, J.A, Montgomery, M.E & Chilcote, C.A. 1994: Effects of host switching on gypsy moth, (*Lymantria dispar* (L.)) under field conditions. – Oecologia 97: 143-157.
- Visser, J.H. 1986: Host odor perception in phytophagous insects. – Annu. Rev. Entomol. 31: 21-44.
- Weseloh, R.M. 1985: Dispersal, survival, and population abundance of Gypsy moth, *Lymantria dispar* (Lep.: Lymantriidae), larvae determined by releases and mark-recapture studies. – Ann. Entomol. Soc. Amer. 78: 728-735.

Effects of extracts of plants associated with cork oak on the attraction of gypsy moth larvae

Abstract: *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Lymantriidae) infestations periodically affect the North-East Algerian cork oak forests. When the oak bud opening is delayed, the larvae are able to feed on various other vegetal species. We tested the attractivity of leaves and aromatic extracts of *Quercus suber* (cork oak), *Q. faginea* (zeen oak), *Q. petraea* (sessile oak), *Crataegus oxyacantha* (hawthorn) and *Daphne gnidium* (garou). Pentane and methylenchloride were used as solvents and various chemical compounds were identified and quantified using GC and GC/MS techniques. Behavioral tests showed that the first and second larval instars are more attracted by cork oak and hawthorn pentane extracts, whereas the oldest stages preferentially responded to their favorite host plants, cork and zeen oaks.

Keys words: *Lymantria dispar*, fragrant substance, attraction, oak.

Sensibilité de deux populations de *Lymantria dispar* L. au virus de la polyédrose nucléaire

Anna Cerboneschi

Stazione Sperimentale del Sughero, via Limbara, 9 - 07029 Tempio Pausania (Sassari),
(Italie)

Résumé: Des essais ont été effectués au laboratoire afin de comparer la sensibilité de deux populations de *Lymantria dispar* à une souche américaine du virus de la polyédrose nucléaire. Les essais ont concerné en particulier les chenilles d'une population du Nord de la Sardaigne et celles d'une population du New Jersey. Les chenilles de deuxième stade ont été infectées par contamination du milieu nutritif avec des suspensions virales de concentrations différentes. L'analyse et la comparaison des données de la mortalité n'ont pas mis en évidence de différences significatives de sensibilité entre les deux populations de *L. dispar*. Par contre, la population sarde montre une plus grande sensibilité à la souche américaine du virus, en ce qui concerne le développement des chenilles infectées.

Mots clés : virus de la polyédrose nucléaire, *Lymantria dispar*, lutte biologique, Sardaigne

Introduction

Un des agents entomopathogènes employés dans la lutte biologique contre le lépidoptère défoliateur *Lymantria dispar* L. est le virus de la polyédrose nucléaire. Ce virus est hautement spécifique par rapport à l'insecte cible. Son utilisation est ainsi sans danger les insectes utiles, qui jouent un rôle important dans le contrôle des populations de parasitoïdes et de prédateurs des défoliateurs forestiers, ou pour les autres espèces de lépidoptères; ces dernières sont par contre sensibles à des agents pathogènes moins sélectifs comme le *Bacillus thuringiensis* (Cerboneschi & Ruii, 2002). Les virus, qui se répandent grâce à l'action de différents vecteurs (Magnoler, 1975; Reardon & Podgwaite, 1976; Williams et al., 1993), peuvent provoquer des épizooties durant plusieurs années consécutives, en maintenant les populations du ravageur à une faible densité, de sorte que leur utilisation permet de limiter la fréquence des traitements.

En Europe, surtout dans les années 1970, on a étudié ce virus et entrepris des expérimentations en vue de son utilisation dans la lutte contre *L. dispar*. En Sardaigne, les virus de la polyédrose nucléaire des défoliateurs du chêne-liège, *L. dispar* et *Malacosoma neustria* L., ont été testés avec des résultats satisfaisants, en laboratoire et en forêt, par Magnoler (1968, 1970, 1975, 1985). Plus récemment, une épizootie naturelle, due au virus de la polyédrose nucléaire de *L. dispar*, a été localisée dans une subéraie du Nord de la Sardaigne traitée au *Bacillus thuringiensis* (Cerboneschi & Ruii, 2002).

Dans les autres pays producteurs de liège, des essais d'introduction du virus de la polyédrose nucléaire de *L. dispar* ont été tentés : au Maroc, en forêt de la Mamora (Fraval et al., 1981), et en Algérie, où des observations ont été faites sur le développement de la polyédrose dans quelques population du même lépidoptère (Khouss et al., 1991).

Actuellement le virus de la polyédrose nucléaire de *L. dispar* est employé surtout aux Etats Unis, où il est disponible sous une formulation déposée en 1978, le Gypchek®, produit sous le contrôle du Service Forestier du Département de l'Agriculture. La formulation et la

technique d'utilisation du Gypchek® ont été progressivement améliorés (Reardon et al., 1996). Son principe actif est la souche du virus provenant de Hamden (Connecticut).

L'efficacité des souches virales de différentes provenances a été testée au laboratoire sur des échantillons de chenilles sardes: on a remarqué ainsi que la souche américaine de Hamden était 15 à 18 fois plus active que les souches européennes et donc plus efficace dans la lutte contre *L. dispar* en Sardaigne (Magnoler, 1970). Toutefois, ce virus n'avait jusqu'ici jamais été testé en plein champ.

Il a paru intéressant de poursuivre cette expérimentation afin d'étudier les possibilités d'emploi du bioinsecticide. On a effectué en particulier des essais au laboratoire afin de comparer la sensibilité, à une même souche virale (souche de Hamden), des chenilles américaines et sardes dans le but de mieux connaître l'action du virus et d'acquérir des informations permettant une bonne évaluation des doses à employer lors d'essais en plein champ, tels que ceux entrepris pour combattre les populations américaines de *L. dispar*.

Matériel et méthodes

Virus de la polyédrose nucléaire

Le virus de la polyédrose nucléaire de *L. dispar*, utilisé dans les essais, est la souche de Hamden, Connecticut, et plus précisément l'isolat LDP-67. Le virus a été fourni sous forme déshydratée par la maison Nord américaine ATCC (American Type Culture Collection).

Après réhydratation à l'eau distillée stérile, selon les indications de la ATCC, la concentration de la suspension obtenue a été évaluée par comptage des polyèdres de 10 échantillons à l'aide d'une cellule de Thoma. Par dilution, trois suspensions virales de concentrations différentes ont été préparées avec respectivement environ 10^6 , 10^5 et 5×10^3 polyèdres/ml.

Lymantria dispar

Les larves de *L. dispar* utilisées dans l'expérimentation ont été obtenues en faisant éclore les oeufs récoltés dans une subéraie du Nord de la Sardaigne et ceux de la souche standard du New Jersey, élevée par Otis Air Base dans le Massachusetts. Les oeufs ont été débarrassés de leurs poils protecteurs et désinfectés à la formaline à 10%. Les larves ont été élevées sur milieu artificiel dans une chambre climatisée à $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$, $55 \pm 5\%$ HR et avec une photopériode de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité. On a évalué le poids frais moyen de 100 chenilles de deuxième stade de chacune des deux populations.

Technique d'infection

Douze heures au plus après la mue, les larves de deuxième stade ont été infectées individuellement, dans des boîtes de Petri de 3 cm de diamètre, avec un morceau de milieu artificiel (environ $0,015 \text{ cm}^3$) contaminé au préalable par 5 μl de suspension virale. On a employé trois doses de virus: respectivement environ 5×10^3 , 5×10^2 et $2,5 \times 10$ polyèdres par larve.

Chaque traitement a été répété sur 50 larves (5 répétitions de 10). Seules les larves ayant consommé du milieu nutritif contaminé au bout de 24 heures ont été incluses dans l'expérimentation et transférées dans des boîtes de Petri stériles contenant du milieu artificiel non contaminé. Les larves témoin n'ont pas été traitées. Les données sur la mortalité dans les différents tests ont été enregistrées tous les jours et on a noté le stade de développement atteint par les chenilles mortes.

Les larves mortes ont été examinées au microscope pour vérifier la présence de polyédrose. Les taux de mortalité, exprimés en pourcentage, ont été soumis à une analyse de variance, au seuil de probabilité de 0,05, après transformation en valeurs angulaires.

Résultats et discussions

Le poids moyen des chenilles de deuxième stade ne diffère pas significativement entre les deux populations au seuil de 0,05 (Tab. 1). La mortalité des larves témoin a été nulle. La polyédrose a été la seule cause de mortalité des larves traitées. La dose la plus élevée (5×10^3 polyèdres par larve) a provoqué une mortalité de 80% sur les larves de Sardaigne et de 86% sur les larves américaines (Tab. 1). Aucune mortalité n'a été observée sur les larves qui ont consommé environ $2,5 \times 10$ polyèdres. L'analyse de variance ne montre pas de différences significatives entre les taux de mortalité des deux populations (Tab. 1).

Les taux de mortalité obtenus avec le virus américain à la dose de 5×10^3 polyèdres par larve sont remarquablement supérieurs au taux (26,7%) obtenu par Magnoler (1968) au cours d'un essai au laboratoire analogue: des chenilles de deuxième stade ont été infectées avec la même dose de polyèdres d'un virus d'origine européenne (Allemagne).

Tableau 1. Taux de mortalité des larves de *L. dispar* infectées au 2^{ème} stade par différentes doses du virus de la polyédrose nucléaire (souche de Hamden)

Population de <i>L. dispar</i>	Poids moyen de 100 larves (mg)	5×10^3 polyèdres par larve	5×10^2 polyèdres par larve	$2,5 \times 10$ polyèdres par larve
Sardaigne	$6,22 \pm 0,69$ a	80 a	8 a	0 a
New Jersey	$6,14 \pm 0,73$ a	86 a	12 a	0 a

Sur la même colonne les moyennes suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 0,05

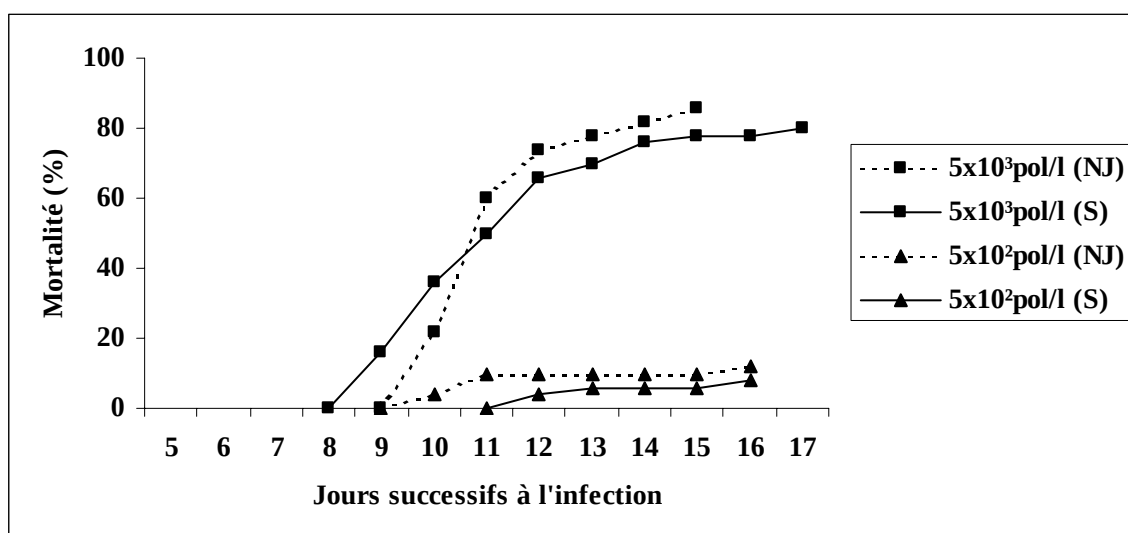


Figure 1. Distribution dans le temps de la mortalité des larves de *L. dispar* des deux populations du New Jersey (NJ) et de Sardaigne (S) infectées au deuxième stade avec les doses de 5×10^3 et de 5×10^2 polyèdres par larve

L'analyse de l'évolution de la mortalité au cours du temps (Fig. 1) montre que la durée de la période d'incubation du virus à la dose la plus élevée a été d'au moins 8 jours et au plus 16 jours pour les larves de Sardaigne, tandis qu'elle était comprise entre 9 et 14 jours pour les larves de la population américaine. Pour les deux populations, la mortalité des larves s'est concentrée entre le dixième et le douzième jour suivant l'infection. Après 11 jours d'incubation, environ 70% des larves étaient mortes. Pour la dose dix fois plus petite, le temps minimal d'incubation a été respectivement de 11 et 9 jours pour les chenilles de Sardaigne et du New Jersey. Dans les deux populations, aucune mortalité n'a été observé après le seizième jour suivant l'infection.

Les observations effectuées tous les jours au cours de l'essai ont permis également d'obtenir des données concernant les effets de l'infection sur le développement larvaire. En analysant le stade larvaire au moment de la mort (Fig. 2), on remarque que toutes les chenilles américaines ont dépassé le deuxième stade et que 4,7% d'entre elles ont atteint le quatrième stade.

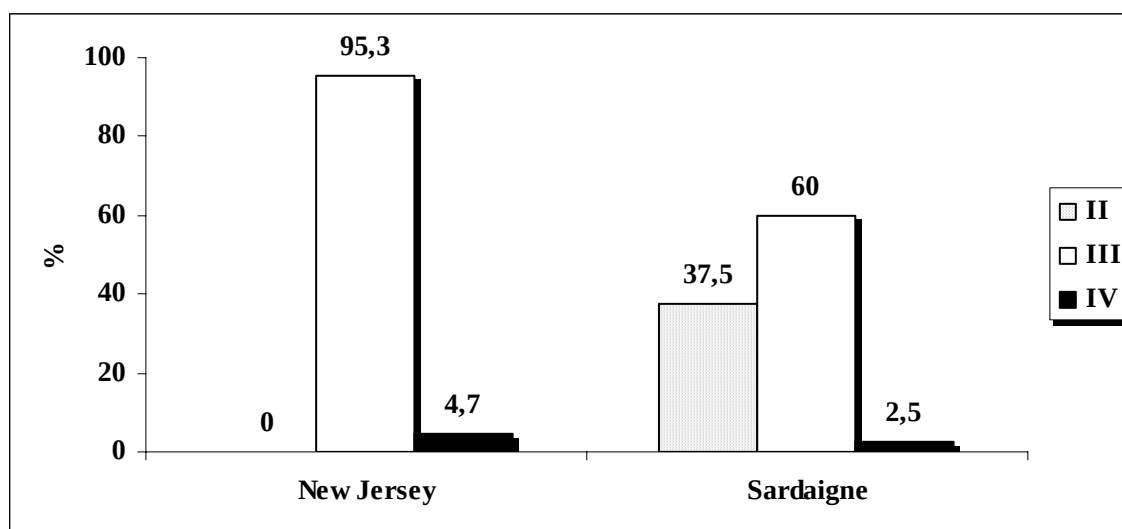


Figure 2. Pourcentage de chenilles de *L. dispar* mortes à différents stades larvaires (II, III, IV) après traitement au deuxième stade à une dose de 5×10^3 polyèdres par larve

En ce qui concerne les chenilles de Sardaigne tuées par le virus, on remarque que 37,5% sont mortes au stade auquel elles ont été infectées (stade II), alors que 60% sont mortes au troisième stade et que seul un pourcentage négligeable a atteint le quatrième stade avant de mourir. On note ainsi que l'infection avec la souche de Hamden du virus entraîne chez les chenilles sardes un ralentissement plus marqué du développement.

Magnoler (1968), a analysé le développement de chenilles infectées au deuxième stade, avec un virus provenant d'Allemagne, à la dose de 5×10^3 polyèdres par larve; il a observé 8 jours seulement après l'infection, que 30% environ des larves étaient au troisième stade tandis que les autres avait déjà atteint le quatrième stade. Même en utilisant des doses plus élevées, causant 100% de mortalité, les chenilles infectées au huitième jour atteignaient toutes le troisième stade.

Il ressort de ces données que le virus d'origine européenne, même à doses élevées, n'a pas été en mesure d'empêcher que 100% des larves infectées dépassent le deuxième stade.

Conclusions

Les résultats des essais montrent, qu'au niveau du taux de mortalité des chenilles et du temps d'incubation du pathogène, les deux populations de *L. dispar* étudiées ne présentent aucune différence notable de sensibilité à la même souche américaine du virus de la polyédrose nucléaire.

Par ailleurs, on a pu confirmer par comparaison avec les travaux de Magnoler (1970) que la souche américaine du virus était plus efficace que les souches européennes sur les populations sardes du lépidoptère.

Si l'on regarde les effets de l'infection sur le développement des chenilles, les données obtenues semblent par contre indiquer que les chenilles de Sardaigne manifestent une plus grande susceptibilité à la souche virale de Hamden que les chenilles américaines. En outre, si l'on se réfère au travail de Magnoler (1968), il semble que la souche américaine du virus provoque un plus grand retard de développement chez les chenilles de *L. dispar* que la souche européenne.

Des essais en plein champ réalisés en Sardaigne devraient permettre de confirmer les effets du virus américain sur le développement des chenilles, et donner ainsi une raison supplémentaire de choisir cette souche virale pour lutter contre le défoliateur. En effet, le retard de développement des chenilles provoqué par le virus devrait permettre de réduire de façon sensible les dommages qu'elles continuent de provoquer dans le feuillage des arbres pendant la période d'incubation du pathogène.

Pour conclure, ce travail a permis d'acquérir des informations utiles à la poursuite, en laboratoire comme sur le terrain, des essais de lutte contre *L. dispar* à l'aide du virus. Une méticuleuse expérimentation en plein champ demeure nécessaire pour établir si, et dans quelle mesure, l'emploi du virus américain permettrait un contrôle efficace des populations du phytophage, compte tenu des différentes caractéristiques climatiques et forestières des subéraies sardes.

Si les résultats de cette expérimentation étaient positifs, il serait souhaitable d'employer le virus en alternance ou en association avec les moyens de lutte actuellement utilisés dans le cadre du plan de protection intégrée des subéraies de Sardaigne.

Références

- Cerboneschi, A. & Ruii, P.A. 2002: Observations on the lepidopterous fauna associated to cork oak after a treatment with *Bacillus thuringiensis kurstaki*. – IOBC/wprs Bull. 25(5): 135-138.
- Fraval, A., Mazih, A., El Yousfi, M., Saidi, S. & Chakir, S. 1981: Introduction du *Baculovirus* de *Lymantria dispar* en Forêt de la Mamora, Maroc. – Ann. Rech. For. Maroc, 17: 67-76.
- Khous, M.G., Valero, J.R. & Robin, L. 1991: La présence d'une polyédrose nucléaire chez *Lymantria dispar* (L.) en Algérie. – Biocontrol News 5: 54-57.
- Magnoler, A. 1968: Ricerche comparate sulla diversa efficacia di sospensioni purificate e non purificate del virus poliedrico nucleare di *Lymantria dispar* L.. – Memoria Stazione Sperimentale del Sughero 24: 1-17.
- Magnoler, A. 1970: Susceptibility of Gypsy Moth larvae to *Lymantria* spp Nuclear- and Cytoplasmic-Polyhedrosis viruses. – Entomophaga 15 (4): 407-412.
- Magnoler, A. 1975: Nuove prospettive nella lotta contro gli insetti defogliatori della sughera per mezzo dei virus. – Atti del 1° Convegno Regionale del Sughero-Tempio, 14-16 ottobre 1971: 341-352.

- Magnoler, A. 1985: L'impiego di due baculovirus nella lotta contro *Malacosoma neustria* L. e *Lymantria dispar* L. nei querceti della Sardegna. – La difesa delle piante 4: 451-462.
- Reardon, R.C. & Podgwaite, J. 1976: Disease-parasitoid relationships in natural populations of *Lymantria dispar* in the Northeastern United States. – Entomophaga 21: 333-341
- Reardon, R.C., Podgwaite, J. & Zerillo, R., 1996: Gypchek, The Gypsy Moth Nucleopolyhedrosis Virus Product. – U.S. Department of Agriculture, Forest Service, FHTET-96-16: 33 p.
- Williams, D.W., Fuester, R.W., Metterhouse, W.W., Balaam R. J., Bullock, R. H., Chianese, R.J. & Reardon, R.C. 1993: Incidence and ecological relationships of pupal parasitism by *Brachymeria intermedia* in New Jersey populations of the gypsy moth. – Entomophaga 38: 257-266.

Susceptibility of two gypsy moth populations to nuclear polyhedrosis virus

Abstract: Tests have been carried out in order to compare the susceptibility of two populations of *Lymantria dispar* with an American strain of the nuclear polyhedrosis virus. In particular, these tests were performed on larvae of a population from North Sardinia and another from New Jersey. Second instar larvae were infected by contamination of the artificial diet with various viral suspensions at different concentrations. The analysis and comparison of the mortality data did not reveal a considerable difference in susceptibility between the two gypsy moth populations. The Sardinian population was more sensitive to the American strain of the virus, regarding the development of the infected larvae.

Key words: nuclear polyhedrosis virus, *Lymantria dispar*, biological control, Sardinia

Evaluation de l'activité entomopathogène d'une souche locale du champignon *Metarhizium anisopliae* sur les larves de *Lymantria dispar*

Mohamed Laïd Ouakid¹, Jean-Pierre Farine² & Noureddine Soltani¹

¹ Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de Annaba, 23 000 Annaba, Algérie

² Laboratoire Développement-Communication Chimique chez les Insectes, C.N.R.S. U.M.R. 5548, Université de Bourgogne, Faculté des Sciences, 6 Bd Gabriel, 21 000, Dijon, France.

Résumé: *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Lymantriidae) est le principal défoliateur des subéraies en Algérie. Les observations bioécologiques réalisées dans divers biotopes des forêts de l'Est algérien nous ont incités à lancer un programme de lutte biologique contre ce ravageur. Dans le cadre de ces recherches, nous avons évalué l'activité insecticide d'une souche locale d'un champignon, *Metarhizium anisopliae* (Deutéromycète, Moniliacea), sur les divers stades larvaires de *L. dispar*, en fonction de la concentration en spores, du temps d'incubation et de l'âge des insectes traités. Nos résultats ont permis de préciser les doses létales à l'égard des différents stades larvaires et de mettre en évidence une action différée du champignon sur la fécondité des imagos.

Mots clés : *Lymantria dispar*, *Metarhizium anisopliae*, lutte biologique

Introduction

Lymantria dispar a été signalé en Algérie dès 1925 (Delassus, 1925) puis de manière discontinue dans l'Est du pays (Ouakid, 1991). Dans la région d'El Tarf, à l'Est, d'importantes pullulations ont été signalées à partir de 1984 (Hamra Kroua, 1989), mais aucun suivi des infestations n'avait été alors entrepris. Un dispositif d'observation et d'étude des pullulations a été mis en place dans les forêts de Gourrah dès 1985 et de Nahed dès 1992. Le suivi des deux gradations a permis de préciser le cycle évolutif du ravageur en fonction des données écologiques (climat, altitude, végétation) et dénombrer les différentes écophases. L'efficacité envers ce ravageur de régulateurs de croissance et d'organismes entomopathogènes (*Bacillus thuringiensis*, *Metarhizium anisopliae*) a été étudiée (Ouakid, 1991). Plus récemment, l'influence de diverses plantes de la subéraie (chêne-liège, chêne zeen, aubépine et garou) sur le développement des chenilles qui les consomment a été analysée (Ouakid et al., 2001). Plusieurs arguments, tels les effets secondaires des insecticides conventionnels ou des impératifs environnementaux (Paoletti & Pimentel, 2000), ont encouragé la recherche de composés plus sélectifs, régulateurs de croissance (Ishaaya & Horowitz, 1998) ou méthodes de lutte alternative comme la lutte biologique. Le présent travail avait pour but d'évaluer l'activité insecticide d'une souche locale du champignon entomopathogène *M. anisopliae* à l'égard des chenilles de *L. dispar* et d'examiner son action différée sur la fécondité des adultes.

Matériel et méthodes

Elevage des insectes

Un élevage de masse a été réalisé au laboratoire à partir de pontes prélevées dans les forêts étudiées. Les chenilles, placées dans des boîtes d'élevage (30 x 20 x 15 cm) maintenues à une

température de 26°C et une humidité relative de 75%, ont été nourries quotidiennement de feuilles fraîches de chêne-liège.

Présentation du champignon et traitement

Une souche locale de *M. anisopliae* a été isolée à partir de cadavres momifiés de chenilles de *Cydia pomonella* (Lepidoptera, Tortricidae) prélevées dans un verger de la région d'El Tarf, non loin de la zone d'étude. L'isolat utilisé a été fourni par le Laboratoire de Biologie Animale Appliquée de l'Université d'Annaba. Une solution aqueuse titrant 50×10^6 spores/ml a servi de solution mère. Des essais préliminaires ont permis de sélectionner quatre doses : 2×10^6 , 4×10^6 , 8×10^6 et 16×10^6 spores/ml. Chaque solution a été testée sur des lots de chenilles ayant mué moins de 24h avant le test. Pour chaque essai comprenant trois répétitions de 25 individus de chaque stade, les chenilles ont été nourries de feuilles de chêne-liège fraîches trempées au préalable dans l'une des solutions retenues. Les chenilles témoins ont été nourries de feuilles trempées dans l'eau. Après 24 heures, les feuilles traitées ont été remplacées par des feuilles témoins. Le nombre de chenilles mortes a été déterminé quotidiennement. On a noté également la durée du cycle de développement de l'insecte, la taille des pontes des femelles ayant survécu aux tests, le nombre total d'oeufs et le nombre d'oeufs non viables par ponte.

Analyse statistique

La variable mesurée lors du traitement est le taux de mortalité larvaire qui, corrigé selon Abbott (1925), donne une bonne indication de la toxicité réelle de la solution de spores testée. Les données normalisées 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 doses testées. Afin de caractériser le pouvoir insecticide du champignon, nous avons déterminé la dose létale 50% (DL 50) selon le procédé mathématique de Finney (1971). L'intervalle de confiance (IC 95%) de la DL 50 est calculé selon la méthode de Swaroop et al. (1966).

Résultats

Symptômes toxicologiques

Nos observations révèlent que les larves traitées par le *M. anisopliae* perdent leur coloration; leurs mouvements deviennent lents et désordonnés. Très rapidement, elles s'arrêtent de se nourrir, s'immobilisent et adoptent des postures inhabituelles : les larves se paralysent en s'accrochant au substrat d'élevage et deviennent insensibles à toute stimulation mécanique. A ce stade, la mort intervient dans les 24 heures.

Effet du traitement sur les larves des trois premiers stades

Les résultats de l'activité insecticide de *M. anisopliae* administré à différentes concentrations sur les trois premiers stades larvaires de *L. dispar* montrent que trois jours après le début traitement, les taux de mortalité enregistrés sont significativement différents (Tab. 1). Il en est de même dix jours après le début du traitement, où les taux de mortalité atteignent des valeurs beaucoup plus élevées. D'après le calcul de la ppds, les différentes concentrations utilisées se classent en trois groupes pour les chenilles de premier stade. De plus, il révèle qu'il n'y a pas de différence significative entre les doses 2×10^6 et 4×10^6 spores/ml d'une part, et entre cette dernière dose et la suivante, d'autre part. Dans le cas des stades larvaires 2 et 3, les taux de mortalité induits par les différentes doses 3 ou 10 jours après le traitement sont tous significativement différents et on reconnaît quatre groupes (Tab. 1). Le calcul des différents paramètres toxicologiques montre que l'activité insecticide du champignon est plus forte pour les L1 que pour les L2 et qu'elle augmente, pour chacun de ces trois stades en fonction du

temps, ce qui se caractérise par une diminution des DL 50 entre 3 jours et 10 jours après le traitement (Tab. 2).

Tableau 1. Activité insecticide du champignon *Metarhizium anisopliae* en fonction du temps d'incubation et de la concentration sur la mortalité corrigée (%) des différents stades larvaires de *L. dispar*

Stade	Incubation (jours)	Doses testées (spores/ml)				ANOVA	
		2x10 ⁶	4x10 ⁶	8x10 ⁶	16x10 ⁶	F	p
L1	3	19,33 a	29,00 ab	33,67 b	49,00 c	10,85	0,0078
L2	3	12,00 a	18,67 b	27,33 c	39,33 d	107,54	0,0001
L3	3	08,00 a	10,66 b	18,66 c	30,00 d	40,69	0,0002
L4	3	11,00 a	15,00 a	21,00 b	28,00 b	6,99	0,022
L5	3	07,00 a	09,66 a	19,66 b	25,33 b	6,78	0,0235
L1	10	49,67 a	51,00 a	64,67 b	79,67 c	67,44	0,0001
L2	10	46,33 a	59,00 b	74,00 c	88,00 d	53,51	0,0001
L3	10	43,00 a	50,33 b	69,33 c	82,00 d	73,72	0,0001
L4	10	20,33 a	32,00 a	48,33 b	71,66 c	27,26	0,0007
L5	10	15,00 a	27,33 b	38,00 c	62,66 d	180,88	0,0001

Sur une même ligne, les taux de mortalité suivis de la même lettre ne diffèrent pas significativement

Tableau 2. Paramètres toxicologiques de *Metarhizium anisopliae* selon le stade larvaire de *L. dispar* infecté

Stades	Incubation (Jours)	Droite de régression	DL 50 (10 ⁶ spores/ml)	Pente	IC 95% (10 ⁶ spores/ml)
L1	3	Y=0,88X-1,42	19,74	13,51	0,12 - 3089,78
L2	3	Y=0,99X-2,42	31,25	10,11	0,44 - 3089,78
L3	3	Y=1,00X-2,75	56,23	09,88	0,85 - 3704,04
L4	3	Y=0,71X-0,74	121,48	25,20	0,13 - 1,06.10 ⁶
L5	3	Y=0,95X-2,52	82,37	11,15	0,89 - 7571,99
L1	10	Y=0,95X-1,14	02,90	11,15	0,03 - 267,04
L2	10	Y=1,41X-4,01	02,45	05,07	0,02 - 225,67
L3	10	Y=1,25X-3,15	03,31	06,25	0,17 - 61,27
L4	10	Y=1,54X-5,63	07,99	04,42	1,12 - 56,85
L5	10	Y=1,46X-5,24	10,32	04,80	1,15 - 92,031

Effet du traitement sur les larves de quatrième stade

La mortalité, encore forte trois jours après le traitement, augmente beaucoup moins au bout de dix jours que pour les stades précédents. Les taux de mortalité des larves L4 sont significativement différents dans leur ensemble mais le calcul de la ppds montre qu'ils ne diffèrent pas significativement entre les solutions à 2 10⁶ et 4 10⁶ spores/ml, à 3 et 10 jours après le traitement, et entre les doses à 8 10⁶ et 16 10⁶ spores/ml, trois jours après le traitement. Ces deux dernières doses provoquent par contre des mortalités significativement différentes.

des L4, 10 jours après le traitement. La DL 50 calculée est très élevée à 3 jours et diminue fortement 10 jours après le traitement (Tab. 2).

Effet du traitement sur les larves du cinquième stade

Les chenilles arrivées au dernier stade larvaire subissent encore l'action de *M. anisopliae* avec des taux de mortalité plus faibles mais néanmoins significativement différents en fonction de la dose. Les doses utilisées se répartissent en deux groupes, l'un constitué par les deux plus faibles doses et le second par les deux plus fortes. Après 10 jours, la mortalité a presque doublé et les taux diffèrent statistiquement d'une concentration à l'autre. La DL50 calculée à 10 jours diminue fortement par rapport à celle calculée à 3 jours (Tab. 2).

Activité différée du traitement sur le développement et la reproduction

Parallèlement à son action larvicide sur *L. dispar*, le champignon *M. anisopliae* agit sur certains paramètres du développement de l'insecte, comme la durée du cycle biologique, le poids des chrysalides femelles, la taille de la ponte et le nombre d'œufs par ponte. Le taux d'œufs arrivant à maturité peut également être affecté. Les larves traitées présentent un développement significativement plus long comparativement aux larves témoins ($t = 6,42$, $p < 0,01$) (Tab. 3). 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 3). 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 d'œufs n'arrivant pas à maturité est significativement plus élevé que chez ceux pondus par des insectes non traités ($t = 17,49$; $p < 0,0001$) (Tab. 3).

Tableau 3. Activité différée du champignon *Metarhizium anisopliae* sur le développement et la reproduction de *L. dispar*

Séries	Durée du développement larvaire (jours)	Poids des chrysalides femelles (mg)	Taille des pontes (cm)	Nombre d'œufs par ponte	Nb d'œufs non viables par ponte
Témoins (n= 100)	38,41 ± 2,51	1210,00 ± 70,00	3,22 ± 0,65	434,88 ± 69,72	30,42 ± 4,52
Traitées (n= 30)	46,66 ± 5,36	889,53 ± 47,52	1,52 ± 0,21	242,00 ± 43,03	43,56 ± 5,03

Discussion

Les données bioécologiques acquises sur *L. dispar* (Ouakid, 1991) serviront de base à une lutte chimique raisonnée. Les risques écotoxicologiques engendrés par l'utilisation massive des insecticides conventionnels nous ont amené à évaluer des composés alternatifs tels les régulateurs de croissance des insectes et des biopesticides. La lutte biologique est une alternative à la lutte chimique. On dénombre plus de 750 espèces de champignons entomopathogènes et la majorité d'entre eux appartiennent à deux grands phylums: les Zygomycota et les Deuteromycota (Papierok & Hajek, 1997). Le déclenchement des épizooties et l'utilisation des champignons dans la lutte biologique contre les insectes ont donné des résultats satisfaisants (Ferron et al., 1991; Roberts & Hajek, 1992; Wainwright, 1992; Hajek,

1993). Le champignon *Entomophaga maimaiga* a été utilisé pour contrôler les populations de *L. dispar* et des épizooties responsables de fortes mortalités larvaires sont périodiquement signalées au Japon et aux U.S.A. (Elkinton & Liebhold, 1990; Elkinton et al., 1991; Weseloh & Andreadis, 1992). Cependant, les genres *Beauvaria* et *Metarhizium* restent les plus utilisés en lutte biologique (Goettel & Inglis, 1997 ; Lomer et al. 2001).

Nos résultats ont montré que la souche locale du champignon *M. anisopliae* testée manifeste une activité insecticide à l'égard des larves de tous les stades de *L. dispar*. Les effets observés semblent similaires à ceux rapportés après traitement avec des souches du champignon *Entomophaga maimaiga* (Elkinton et al., 1991). Les jeunes chenilles sont plus sensibles au champignon que les larves âgées. La virulence des isolats issus de cadavres d'insectes se traduit dans nos essais par l'apparition d'une forte mortalité dès le 3ème jour d'incubation surtout chez les premiers stades larvaires (L1, L2, L3) qui enregistrent plus de 30% de mortalité avec la dose la plus élevée (Tab. 1). Dix jours après le traitement, le taux de mortalité à ces stades atteint 80%, ou plus, pour la plus forte dose. *M. anisopliae* reste efficace, même sur les larves plus âgées (L4, L5), sur lesquelles on enregistre plus de 70% de mortalité avec la dose la plus élevée. Le champignon présente également des effets différés sur les insectes survivants, notamment un allongement de la durée de leur développement, une diminution du poids des chrysalides femelles, de la taille des pontes et du nombre d'œufs ainsi qu'une augmentation du nombre des oeufs non-viables. Des résultats similaires ont été obtenus chez un autre ravageur majeur des forêts en Algérie, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera, Thaumetopoeidae) traité par une formulation commerciale à base de *Bacillus thuringiensis* (Thuricid HP). Ce biopesticide provoque des altérations de la structure de l'intestin et de l'hémogramme (Habes & Soltani, 1991) ainsi qu'une modification de la composition biochimique de l'hémolymphe (Soltani & Habes, 1995).

M. anisopliae a fait l'objet de recherches intensives concernant l'interaction insecte-champignon (Hajek & St. Leger, 1994), le processus d'infection (Clarkson & Charnley, 1995), le mécanisme d'adhésion des spores sur la cuticule (Boucias & Pendland, 1991) ou les techniques de stockage des spores (Hong et al., 1997, 1998). Le champignon pénètre et prolifère à l'intérieur de l'hôte qu'il tue, soit par privation des nutriments solubles dans l'hémolymphe, soit par invasion et digestion de ses tissus et/ou par sécrétion de toxines fongiques (Lomer et al., 2001). Son cycle de vie est relativement simple, les conidies étant les seules spores produites. Ces spores germent en 16 à 20 heures lorsqu'elles rencontrent des conditions favorables (humidité élevée et substrat alimentaire adéquat). L'infection résulte du passage des hyphes infectieux à travers le tégument de l'insecte. Dans certains cas, le tractus digestif, les parties molles, l'orifice anal, le tractus génital et les trachées sont des sites préférentiels pour la pénétration. Dans le coelome, les hyphes développent des colonies autour du point de pénétration. A l'intérieur de l'insecte, le mycélium produit des blastospores qui se multiplient dans l'hémocèle et produisent des toxines (Khachatourians, 1996).

En conclusion, la souche du champignon *M. anisopliae* présente une activité insecticide sur les chenilles de *L. dispar*, elle perturbe également le cycle de l'insecte en agissant sur la durée de développement des chenilles et la reproduction.

Références

- Abbott, W.B. 1925: A method for computing the effectiveness of an insecticide. – J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
- Boucias, D.G & Pendland, J.C. 1991: Attachement of mycopathogens to cuticle: The initial event of mycoses in arthropod hosts. – In: The fungal spore and disease. Initiation in plants and animals, eds. Cole and Hoch, Plenum Press, New York: 101-128.

- Clarkson, J.M. & Charnley, A.K. 1995: New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. – Tr. Microbiol. 4: 197-203.
- Delassus, M. 1925: La lutte contre le *Liparis dispar* dans le massif de l'Edough. – Rev. Agr. Afr. N. 23: 334-352.
- Elkinton, J.S. & Liebhold, A.M. 1990. Population dynamics of gypsy moth in North America. – Annu. Rev. Entomol. 35: 571-96.
- Elkinton, J.S., Hajek, A.E., Boettner, G.H. & Simons, E.E. 1991: Distribution and apparent spread of *Entomophaga maimaiga* (Enthomophthorales: Entomophthraceae) in gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) population in North America. – Environ. Entomol. 20: 1601-1605.
- Ferron, P., Fargues, J. & Riba, G. 1991: Fungi as microbial insecticides. – In: Handbook of Applied Mycology, Humans, Animals and insects, Vol. II, ed. Dekker, New York: 665-706.
- Finney, D.J. 1971: Probits analysis, 3rd ed. – London, Cambridge University Press, 333 p.
- Fischer, R.A. & Yates, F. 1957: Statistical tables for biological, agricultural and medical research. 5th edition. – Olivier & Boyd, London: 64-66.
- Goettel, M.W. & Inglis, G.D. 1997: Fungi: Hyphomycetes. – In: Manual of techniques in insect pathology, ed. Lacey. Academic Press, San Diego: 213-249.
- Habes, D & Soltani, N. 1991 : Perturbations de la structure de l'intestin et de l'hémogramme par le Thuricide HP chez *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. – Mem. Soc. Roy. Belg. Entomol. 35: 721-726.
- Hajek, A.E. 1993: New options for insect control using fungi. – In: Pest management: Biologically Based Technologies, eds. Lumsden and Vaughn, American Chemical Society: 54-62.
- Hajek, A.E. & St. Leger, R.J. 1994: Interactions between fungal pathogens and insect hosts. – Annu. Rev. Entomol. 39: 293-322.
- Hamra Kroua, S. 1989. La bioécologie de la "Spongieuse" *Lymantria dispar* dans les forêts de chêne-liège dans le nord constantinois. – Thèse de Magister, Université de Constantine, Algérie, 98 p.
- Hong, T.D., Ellis, R.H. & Moore, D. 1997: Development of model to predict the effect of temperature and moisture on fungal spore longevity. – Ann. Bot. 79: 121-28.
- Hong, T.D., Jenkins, N.E. & Ellis, R.H. 1998: Limits to the negative logarithmic relationships between moisture content and longevity in conidia of *Metarhizium flavoviride*. – Ann. Bot. 81: 625-630.
- Ishaaya, I. & Horowitz, A.R., 1998: Insecticides with novel mode of action: overview. – In: Insecticides with novel mode of action-mechanisms and application, eds Ishaaya and Degheele, Berlin, Springer-Verlag: 1-24.
- Khachatourians, G.G. 1996: Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. – In: Human and Animal Relationships, Vol VI, The Mycota, eds. Howard and Miller, Berlin, Springer-Verlag: 331-63.
- Lomer, C.J., Bateman, R.P., Johnson, D.L., Langewald, J. & Thomas, M. 2001: Biological control of locusts and grasshoppers. – Annu. Rev.: 607-702.
- Ouakid, M.L. 1991 : Etude d'un ravageur des forêts, *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Lymantriidae). Bioécologie dans la forêt de la Gourrah. Action des facteurs écologiques et activité du Thuricide HP et du Dimilin. – Thèse de Magister, Université de Annaba, Algérie, 87 p.
- Ouakid, M.L., Farine, J.P. & Soltani, N. 2001 : Evaluation de diverses espèces végétales associées au chêne-liège sur le développement d'un ravageur des forêts, *Lymantria dispar*. – Rev. Sci. Techn. 16: 85-90.

- Papierok, B. & Hajek, A.E. 1997 : Fungi: Entomophthorales. – In: Manual of Techniques in Insect Pathology, ed. Lacey, San Diego, Academic Press: 187-212.
- Paoletti, M.G. & Pimentel, D., 2000 : Environmental risks of pesticides versus genetic engineering for agricultural pest control. J. Agric. Environ. Ethics 12 (3): 279-303.
- Roberts, D.W. & Hajek, A. E. 1992: Entomopathogenic fungi as bio-insecticides. In: Frontiers in Industrial Mycology, eds. Leatham, New York, Chapman & Hall: 144-159.
- Soltani, N. & Habes, D. 1995 : Effets du Thuricide HP, une formulation commerciale de *Bacillus thuringiensis*, sur la composition chimique de l'hémolymph chez *Thaumetopoea pityocampa*. Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent 60/3b: 969-976.
- Swaroop, S., Gilroy, A.B. & Uemura, K. 1966: Statistical methods in malaria eradication. Geneva, World Health Organisation: 164 p.
- Wainwright, M. 1992: An introduction to Fungal Biotechnology, Chichester, Paperback, 214 p.
- Weseloh, R.M. & Andreadis, T.G. 1992: Mechanisms of transmission of the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) fungus, *Entomophaga maimaiga* (Entomophthorales: Entomophthraceae) and effects of site conditions on its prevalence. Environ. Entomol. 21: 901-906.

Activity evaluation of a local strain of the entomopathogenous fungus *Metarhizium anisopliae* on *Lymantria dispar* larvae

Summary: *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Lymantriidae) is the main oak forest defoliator in Algeria. The bioecological observations performed in various biotopes of north-eastern Algerian forests incited us to launch a biological control program against this pest. Within this context, we tested the impact, on the different *L. dispar* larval instars, of a local strain of the fungus *Metarhizium anisopliae* (Deuteromyceta, Moniliacea). The insecticide activity was studied in relation to the fungus spore concentration, the incubation time and the larval instar, in order to establish the different lethal doses. The differed impact of the fungus on the larval development duration and female fecundity was also studied.

Mots clés : *Lymantria dispar*, *Metarhizium anisopliae*, biological control

Three trophic level interaction: the influence of host plants on the performance of gypsy moth (*Lymantria dispar*) and its parasitoid, *Glyptapanteles liparidis* (Hymenoptera, Braconidae)

Christa Schafellner, Wolfgang Krämer, Axel Schopf

Institute of Forest Entomology, Forest Pathology and Forest Protection, Department of Forest- and Soil Sciences, University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna Hasenauerstraße 38, A-1190 Vienna, Austria

Abstract: A leaf powder diets made of young (mid-May) and mature (mid-June) leaves was used to study the effects of the nutritional quality of two oak species, *Quercus petraea* and *Q. cerris*, on gypsy moth (*Lymantria dispar*) larval development and the performance of the gregarious endoparasitic wasp, *Glyptapanteles liparidis*, an efficient natural enemy of gypsy moth in Austria.

Both unparasitized and parasitized gypsy moth larvae developed faster on the *Q. cerris* diet than on *Q. petraea* and performed better on diets made of young leaves than of mature leaves from either tree species. Compared to males, female larvae exhibited an additional instar until pupation. Larval mortality was negligible on all diets; however, almost 50% of the larvae on the *Q. cerris* diets failed to pupate or showed pupal malformations.

In larvae parasitized by *G. liparidis*, the total number of host instars and the parasitoid development time depended on the diet ingested and correlated with the host's parasitoid load. High parasitoid loads induced a delay in both host and parasitoid development. Parasitoids in hosts with similar parasitoid loads developed faster on *Q. cerris* than on *Q. petraea*. Final body weights and the longevity of the adult wasps, however, were not affected by their host's diet. The parasitoid wasp *G. liparidis* is obviously able to compensate for qualitative and quantitative nutrient deficiencies of its host by altering its development duration.

Key words: nutrition, food utilization, plant-herbivore interactions, host-parasitoid interactions, *Quercus cerris*, *Quercus petraea*, *Lymantria dispar*, *Glyptapanteles liparidis*

Introduction

Gypsy moth, *Lymantria dispar* L. (Lep., Lymantriidae), is a severe defoliator in natural oak forests of eastern Austria. Severe outbreaks occur every 10-12 years, the most recent one taking place in 2004. During spring and summer 2004, about 2000 ha forest land were totally defoliated and more than 3000 ha were heavily infested. Two oak species, *Quercus petraea* and *Q. cerris*, were the dominant tree species on the affected sites. In these mixed species forests, hatching of gypsy moth larvae coincides with budbreak of *Q. petraea* in late April, while leaves in *Q. cerris* are about to flush two weeks later. Thus, only the very late-hatching gypsy moth larvae would be able to feed on *Q. cerris* leaves right from the start. Field observations confirm that during times of low population densities, leaf damage occurs mainly on *Q. cerris* leaves, while *Q. petraea* seems to be much less affected. Therefore, we supposed that only the early *Q. petraea* leaves were a suitable food source for the very young larvae, but later stadia switch to *Q. cerris* foliage, probably because of a declining nutritional quality of the maturing *Q. petraea* leaves. Previous studies with gypsy moth developing on both oak species confirmed the latter assumption (Schopf et al. 1999a, 1999b).

The gregarious braconid wasp *Glyptapanteles liparidis* is the dominant hymenopteran natural enemy of gypsy moth larvae in the oak forests of Austria (Hoch & Schopf, 1995). For oviposition, female wasps prefer young instars, but the parasitoid may develop in later instars as well. The parasitoids pass through two endoparasitic instars within their host hemocoel where they feed exclusively on host hemolymph. Since the host represents the pool of nutritional resources, parasitoid development is highly affected by the amount of nutrients supplied from the host larva which in turn depends on the food quality of the leaves it actually feeds on.

In this study, we addressed the following questions: Is the performance of the larvae of *L. dispar* on the two oak species, *Q. petraea* and *Q. cerris*, altered by changes in foliar nutritional quality due to a decrease with plant phenological age? Does the nutritional quality of the oak leaves affect development and performance of the endoparasitoid *G. liparidis*?

Material and methods

Leaf powder diets

Leaves from two oak trees, *Q. petraea* and *Q. cerris*, were sampled in mid-May (young leaves) and mid-June (mature leaves) 2003, in a natural oak forest in Siegendorf, Burgenland. Immediately after collection, leaves were submerged in liquid nitrogen in the field, put in airtight plastic bags and stored on dry ice for transport. In the laboratory, leaves were lyophilized and stored at -80°C until diet preparation. Based on the method reported from Sheppard & Friedman (1992), we replaced all nutrients of the gypsy moth high wheat germ diet (Bell et al., 1981) with leaf material. Lyophilized, ground leaf powder was mixed with water (75%, w/v), agar (5%, w/w) and preservatives (1% sorbic acid, 0.5% methylparaben, w/w). The diets were placed in Petri dishes and kept at 4°C.

Insect rearing

Eggs of *L. dispar* were obtained from a laboratory colony. The laboratory stock of the parasitoid *G. liparidis* originated from wasps collected from a field population in Siegendorf, Burgenland. Adult wasps were fed with honey and water.

Three days after hatching, gypsy moth larvae were randomly assigned to one of the four different diets, which consisted of oak leaf powder diets made of either *Q. petraea* or *Q. cerris*, young and mature leaves, respectively. As follows, diets will be addressed as Qp young, Qc young, Qp mature, and Qc mature according to the tree species and sampling time.

Until the end of instar three, groups of appr. 200 larvae were kept in 125 ml plastic cups. From instar four, larvae were reared individually in Petri dishes until pupation and supplied with one of the four different oak leaf powder diets. In all treatments, food provided to larvae was changed every 1-2 d. For parasitization experiments, *L. dispar* larvae were presented individually to female *G. liparidis* wasps (less than one week old) until oviposition was observed. Fifty larvae were parasitized either in premolt to third instar or in premolt to fifth instar. Parasitized larvae were kept individually in Petri dishes and supplied with leaf powder diets made of *Q. petraea* or *Q. cerris* mature leaves until the parasitoids emerged from their hosts. Unparasitized and parasitized larvae were kept in growth chambers (20±1°C), at a 16L:8D light:dark cycle.

Development parameters

We measured developmental parameters of 50 larvae per treatment from the fourth instar to pupation. Larvae were first weighed after they finished molting to the fourth instar and then daily. All larvae were checked once in the morning and in the afternoon, so that the observed time of molt would be only 12-13 h apart.

Nutritional indices were determined according to Waldbauer (1968). We calculated growth and consumption rates (GR, CR), approximate digestibility (AD), and the efficiencies of converting ingested and digested food into biomass (ECI, ECD) on a fresh weight basis. Additionally, duration of the larval stages, pupal masses, and larval and pupal mortality were recorded. At the end of the feeding trial, larvae were sexed and data were analysed for males and females separately.

For parasitoids, we determined the duration of endoparasitic development and cocoon stage, weight of cocoons and adult wasps, life time and sex ratio of adult wasps.

Statistics

Analyses were carried out using SPSS 11.5 for Windows (SPSS, Inc., 2002). The data were tested for normality (Kolmogorov-Smirnov Z test) and for homogeneity of variances (Levene test). Means of normally distributed data were compared by one-way ANOVA and post hoc analyzed by Scheffe test. For bivariate correlations, Pearson's correlation coefficient was computed.

Results

Development of gypsy moth larvae

Larval mortality was 4, 0, 0, and 2% on the Qc young, Qp young, Qc mature, and Qp mature diets. Male larvae developed through five and six instars, respectively, while females developed through six and seven instars (Fig. 1). In males, pupation after instar five occurred in 90, 50, 50, and 0% of the larvae on Qc young, Qp young, Qc mature, and Qp mature diets. The remaining larvae pupated after instar six. Males developed fastest on Qp young and slowliest on Qp mature diet (43.2 and 50.1 d, respectively). In females, pupation after instar 6 occurred in 50, 90, 90, and 70% of the larvae on Qc young, Qp young, Qc mature, and Qp mature diets. The remaining larvae pupated after instar 7. Females developed also fastest on Qp young diet (51.9). There was no difference in the duration of larval development on the other diets (56.1-56.6 d). In total, duration of larval development was 10-15 days shorter in males than in females (Fig. 1).

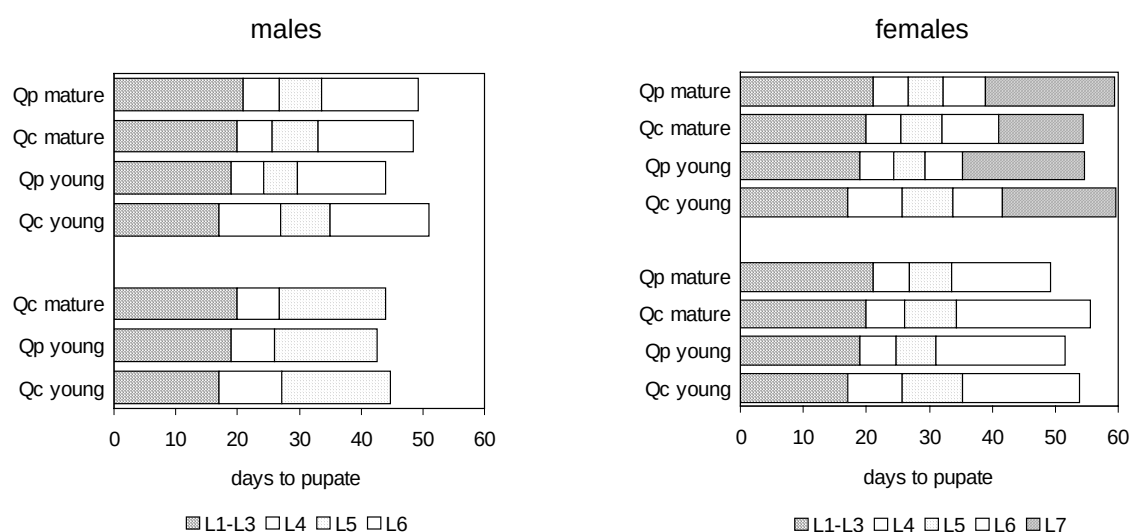


Figure 1. Duration of development of male and female gypsy moth larvae on *Q. cerris* and *Q. petraea*, young and mature leaf powder diets, respectively. Larvae were feeding diets from egg hatch to pupation. Qc = *Q. cerris*, Qp = *Q. petraea*, L1-L3, L4, L5, L6, L7 = number of instar

The nutritional indices (CR, GR, AD, ECI, ECD) for male and female gypsy moth larvae treated with the different diets, are listed in Table 1. In general, males consumed less than females, had lower growth rates, but similar gross growth efficiencies (ECI) and net growth efficiencies (ECD). Consumption rates and growth rates increased significantly from fourth to sixth (males) or seventh (females) instar, while ECI and ECD remained constant from instar four to instar six and decreased during the last instar before pupation. In females, growth and consumption rates were highest when larvae were feeding Qp young diet, ECI and ECD, however, were lower than those from larvae on the Qc young diet. There was no such difference in males. Compared to the diets made of young leaves, growth and development parameters were generally lower when larvae fed on the mature leaf diets, of which larvae on the Qp mature diet performed least.

Pupal weights were 3-4 times higher in females than in males (Fig. 2). On the same diet, males developing through six instars gained significantly higher pupal masses than those with five instars. On Qp mature diet all males needed six instars to pupate. Accordingly, females on the young leaf diets developing through seven instars were significantly heavier than those developing through six instars, but no additional mass gain was achieved on the mature leaf diets (Fig. 2). Pupal weights of females feeding the mature leaf diets were significantly lower than those from the young leaf diets, but in males there was no significant difference due to the diets.

We observed significant pupal malformation with subsequent death in insects from the Qc young diet (47.6%) and Qc mature diet (32.0%). Only 8% of pupae from Qp young and mature diets showed malformation.

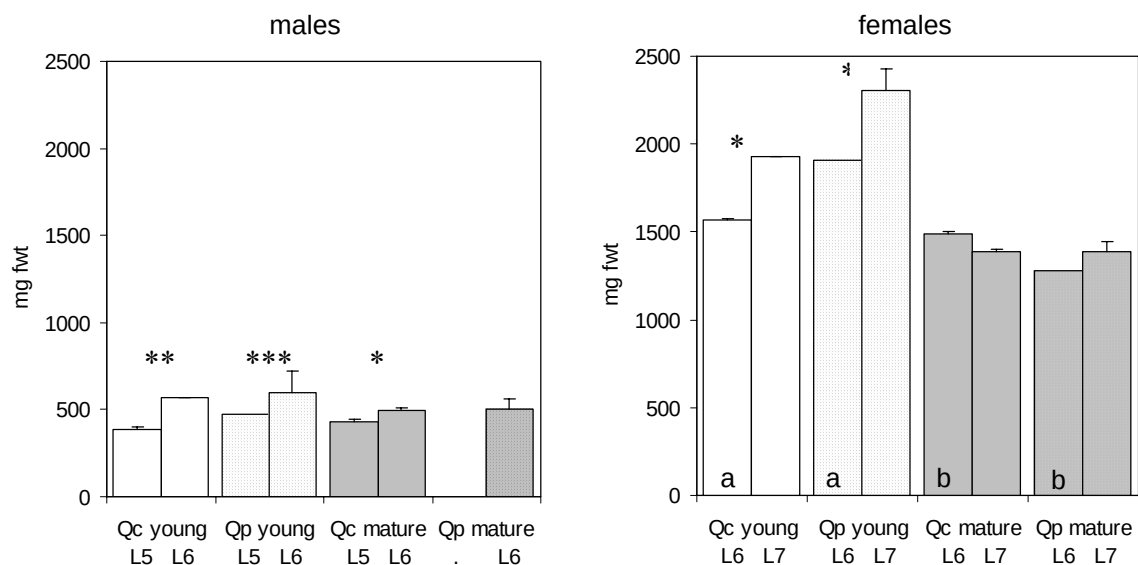


Figure 2. Pupal weights of male and female gypsy moths on *Q. cerris* and *Q. petraea*, young and mature leaf powder diets, respectively. Larvae were feeding diets from egg hatch to pupation.

Qc = *Q. cerris*, Qp = *Q. petraea*; L5, L6, L7 = number of instar after which larvae pupated; asterisks indicate significant differences within leaf powder diets according to time of pupation * = significantly different at $P < 0.05$, ** = significantly different at $p < 0.01$, *** = significantly different at $p < 0.001$; letters indicate significant differences between leaf powder diets at $p < 0.05$ (L6 and L7 pupating larvae combined).

Table 1. Summary of nutritional indices of male and female gypsy moth larvae from the fourth instar until pupation (mean $\pm$ SE).

CR = relative consumption rate, GR = growth rate, AD = approximate digestibility, ECI = efficiency of converting ingested food into biomass, ECD = efficiency of converting digested food into biomass, Qc = *Quercus cerris*, Qp = *Q. petraea*, L4, L5, L6, L7 = number of instar.

	Diet treatment					
	Instar	Sex	Qc young	Qp young	Qc mature	Qp mature
CR (mg/d)	L4	♂	14.94 $\pm$ 2.24	16.03 $\pm$ 1.13	15.50 $\pm$ 1.58	12.32 $\pm$ 1.03
	L5		55.07 $\pm$ 3.98	46.82 $\pm$ 3.88	40.17 $\pm$ 4.25	30.05 $\pm$ 1.76
	L6		---	107.83 $\pm$ 17.12 ^b	73.43 $\pm$ 4.61 ^a	76.73 $\pm$ 5.43 ^{ab}
	L4	♀	11.17 $\pm$ 0.69	17.81 $\pm$ 0.58	16.37 $\pm$ 0.80	16.06 $\pm$ 1.35
	L5		34.23 $\pm$ 2.07 ^a	59.82 $\pm$ 2.15 ^c	46.09 $\pm$ 2.22 ^b	44.31 $\pm$ 2.26 ^b
	L6		143.26 $\pm$ 13.31 ^a	232.45 $\pm$ 12.87 ^b	204.75 $\pm$ 13.69 ^b	147.74 $\pm$ 12.80 ^a
	L7		301.49 $\pm$ 20.58 ^{bc}	393.58 $\pm$ 27.63 ^c	271.62 $\pm$ 13.58 ^{ab}	181.83 $\pm$ 13.35 ^a
	L7					
GR (mg/d)	L4	♂	13.97 $\pm$ 0.75 ^b	15.89 $\pm$ 0.98 ^b	13.32 $\pm$ 0.99 ^b	9.92 $\pm$ 0.42 ^a
	L5		35.93 $\pm$ 2.61 ^b	40.01 $\pm$ 1.72 ^b	34.39 $\pm$ 2.60 ^{ab}	25.56 $\pm$ 1.99 ^a
	L6		---	69.29 $\pm$ 2.71	52.40 $\pm$ 4.35	60.09 $\pm$ 4.38
	L4	♀	12.11 $\pm$ 0.68 ^a	17.80 $\pm$ 0.50 ^c	14.66 $\pm$ 0.64 ^b	12.56 $\pm$ 0.52 ^{ab}
	L5		32.17 $\pm$ 2.69 ^a	63.54 $\pm$ 2.62 ^c	49.96 $\pm$ 2.41 ^b	40.00 $\pm$ 2.20 ^{ab}
	L6		109.84 $\pm$ 6.28 ^a	170.26 $\pm$ 6.93 ^b	154.45 $\pm$ 6.24 ^b	105.59 $\pm$ 6.38 ^a
	L7		172.17 $\pm$ 12.30 ^{ab}	236.09 $\pm$ 15.68 ^b	116.24 $\pm$ 38.53 ^a	123.58 $\pm$ 8.73 ^a
	L7					
AD (%)	L4	♂	20.36 $\pm$ 4.45	18.32 $\pm$ 3.05	22.40 $\pm$ 4.63	31.32 $\pm$ 4.28
	L5		19.90 $\pm$ 1.89 ^{ab}	15.17 $\pm$ 3.29 ^a	18.98 $\pm$ 3.68 ^{ab}	28.98 $\pm$ 2.48 ^b
	L6		---	30.26 $\pm$ 7.56	27.79 $\pm$ 1.04	16.97 $\pm$ 2.11
	L4	♀	13.31 $\pm$ 2.39 ^a	20.88 $\pm$ 1.72 ^{ab}	28.47 $\pm$ 3.21 ^b	29.20 $\pm$ 5.05 ^b
	L5		22.88 $\pm$ 0.79 ^{ab}	17.80 $\pm$ 1.75 ^a	20.07 $\pm$ 1.06 ^a	26.94 $\pm$ 2.47 ^b
	L6		16.70 $\pm$ 3.69	21.20 $\pm$ 1.40	24.36 $\pm$ 1.70	19.83 $\pm$ 3.79
	L7		27.69 $\pm$ 2.30	29.78 $\pm$ 5.27	43.01 $\pm$ 20.86	16.97 $\pm$ 9.54
	L7					
ECI (%)	L4	♂	19.41 $\pm$ 1.10	19.34 $\pm$ 0.76	17.44 $\pm$ 0.76	16.76 $\pm$ 1.12
	L5		12.63 $\pm$ 0.57 ^a	17.39 $\pm$ 0.99 ^b	17.73 $\pm$ 0.96 ^b	16.15 $\pm$ 0.57 ^b
	L6		---	12.58 $\pm$ 0.95	12.76 $\pm$ 0.36	14.19 $\pm$ 0.61
	L4	♀	21.03 $\pm$ 0.75 ^b	19.23 $\pm$ 0.41 ^{ab}	17.27 $\pm$ 0.53 ^a	16.84 $\pm$ 1.11 ^a
	L5		17.20 $\pm$ 0.51 ^a	20.30 $\pm$ 0.48 ^b	20.61 $\pm$ 0.29 ^b	17.13 $\pm$ 0.33 ^a
	L6		15.53 $\pm$ 0.81 ^c	13.70 $\pm$ 0.47 ^{ab}	12.69 $\pm$ 0.28 ^a	14.04 $\pm$ 0.64 ^{ab}
	L7		10.90 $\pm$ 0.37	11.47 $\pm$ 0.85	8.01 $\pm$ 2.61	13.59 $\pm$ 1.48
	L7					
ECD (%)	L4	♂	23.52 $\pm$ 1.46	23.51 $\pm$ 1.15	21.11 $\pm$ 1.31	19.89 $\pm$ 1.52
	L5		15.22 $\pm$ 0.75 ^a	21.31 $\pm$ 1.38 ^b	21.56 $\pm$ 1.29 ^b	19.09 $\pm$ 0.78 ^{ab}
	L6		---	15.92 $\pm$ 1.30	15.90 $\pm$ 0.45	18.22 $\pm$ 0.85
	L4	♀	25.89 $\pm$ 1.11 ^b	23.16 $\pm$ 0.60 ^{ab}	20.51 $\pm$ 0.76 ^a	20.34 $\pm$ 1.64 ^a
	L5		20.57 $\pm$ 0.63 ^a	24.58 $\pm$ 0.60 ^b	24.82 $\pm$ 0.40 ^b	20.29 $\pm$ 0.45 ^a
	L6		20.07 $\pm$ 1.16 ^c	17.39 $\pm$ 0.63 ^{ab}	15.88 $\pm$ 0.34 ^a	18.00 $\pm$ 0.90 ^{ab}
	L7		12.88 $\pm$ 0.46	13.49 $\pm$ 1.14	9.39 $\pm$ 3.27	16.98 $\pm$ 2.94
	L7					

Each variable was analysed by ANOVA, significant differences among treatment groups are indicated with different letters (Scheffe post hoc test).

Development of parasitoids

To estimate the influence of food quality transferred by the host to the development of the parasitoid *G. liparidis*, we applied leaf powder diets from mature (mid-June) leaves to gypsy moth larvae. When parasitized in premolt to the third instar, parasitoids emerged from fourth, fifth or sixth host instar, irrespectively of the oak diet the hosts were feeding. At parasitization, hosts from the *Q. cerris* diet were significantly heavier than those from the *Q. petraea* diet (12.8 and 11.2 mg, respectively, $p < 0.001$), but less heavily parasitized (15.0 and 20.5 parasitoids/host, respectively; $p < 0.05$). While no correlation existed between host weight at parasitization and the number of eggs injected (Pearson's correlation $r = -0.36$, $p > 0.05$, $n = 85$), parasitoid load correlated highly with the duration of endoparasitic development (Fig. 3; Pearson's correlation $r = 0.83$, $p < 0.001$, $n = 85$). Thus, endoparasitic development was significantly longer in *Q. petraea*-hosts than in *Q. cerris*-hosts (22.3 and 18.4 d, respectively; $p < 0.001$).

The duration of cocoon stadium and lifetime of adult wasps, however, were significantly shorter when parasitoids developed in *Q. petraea*-hosts than in *Q. cerris*-hosts (cocoon stage: 6.8 and 8.0 d, respectively; $p < 0.001$; lifetime 10 and 14 d, respectively; $p < 0.01$).

Mean weight of cocoons (2.67 and 2.50 mg, respectively) and weight of male (281 and 262 μg , respectively) and female (351 and 322 μg , respectively) adult wasps from *Q. petraea*-hosts and *Q. cerris*-hosts were not significantly different.

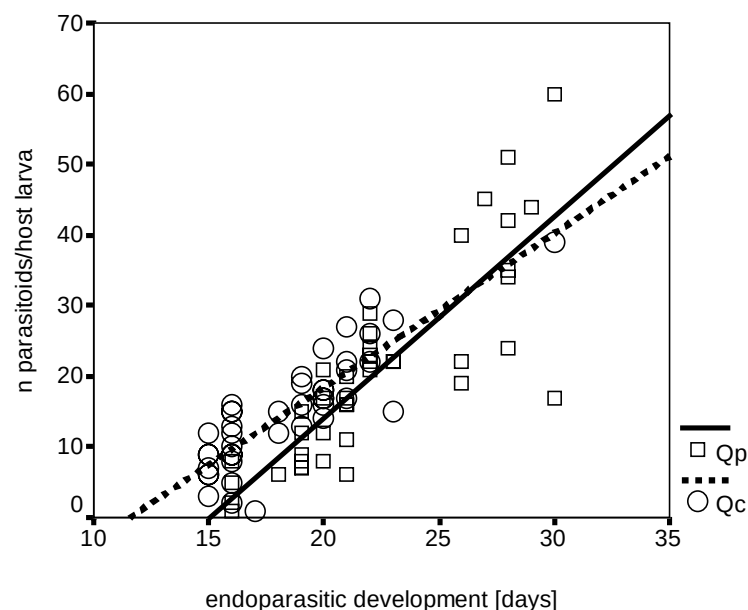


Figure 3. Correlation between the number of parasitoids per host larva and the duration of endoparasitic development in *Q. cerris*-hosts ($r^2 = 0.74$) and *Q. petraea*-hosts ($r^2 = 0.70$). Host larvae were parasitized in premolt to third instar.

When hosts were parasitized in premolt to the fifth instar, parasitoids emerged from six-instar hosts, regardless of the oak diet the hosts were feeding. Initial host weight of *Q. cerris*-hosts, however, was significantly higher than that of *Q. petraea*-hosts (128.7 and 74.0 mg; respectively, $p < 0.001$) and parasitoid wasps injected more eggs into *Q. cerris*-hosts than into *Q. petraea*-hosts (54.5 and 46.7 parasitoids/host, respectively; not significant), but endoparasitic development was significantly shorter in *Q. cerris*-hosts than in *Q. petraea*-hosts (13 and 17 d, respectively; $p < 0.001$).

Cocoon weight of parasitoids that had developed in *Q. cerris*-hosts was higher than that from *Q. petraea*-hosts (2.85 and 2.62 mg, respectively; $p < 0.05$). Generally, cocoon weight correlated significantly with parasitoid load (Fig. 4; Pearson's correlation $r = -0.71$, $N = 91$, $p < 0.001$). The weight of adult wasps (males and females) was not related to their host's diet. Accordingly, the sex of the host larvae had no influence on parasitoid development parameters.

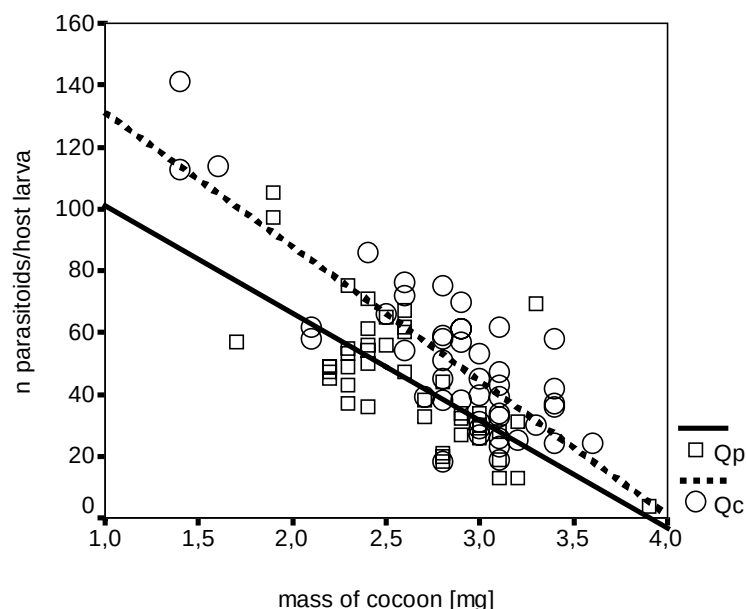


Figure 4. Correlation between the number of parasitoids per host larva and cocoon mass of parasitoids from *Q. cerris*-hosts ($r^2 = 0.67$) and *Q. petraea*-hosts ($r^2 = 0.49$). Host larvae were parasitized in premolt to fifth instar.

Conclusion

Gypsy moth larvae are known as highly polyphagous herbivores that feed on a vast number of host plant species. Although oak is their preferred food plant, we found significant differences in larval growth and development when larvae were reared on leaf powder diets made from lyophilized young (mid-May) and mature (mid-June) leaves of *Q. petraea* and *Q. cerris*.

Nutritional indices showed that larvae performed better on the young leaf diets than on the mature leaf diets, suggesting a significant decrease in nutritional quality during leaf maturation. Also, larvae developed faster and achieved higher pupal weights on the young than on the mature diets. Comparing the two oak species, *Q. petraea* young diet was the most suitable for gypsy moth larval performance and *Q. petraea* mature diet was the least. Larvae on the *Q. petraea* mature diet were not able to compensate the decrease in efficiency of food utilization by increased food consumption or assimilation. Our study confirms that young *Q. petraea* leaves are the most favourable food source for early instars of gypsy moth, however, leaf quality seems to decline faster than in *Q. cerris* leaves. Thus, under field conditions, a close synchrony between gypsy moth egg hatch and bud break in *Q. petraea* has evolved. Later instars then switch to *Q. cerris* as the more suitable host.

The food source of parasitized gypsy moth larvae had no significant influence on the performance of the gregarious parasitoid *G. liparidis*. Development of wasps was delayed

when parasitoid loads were high or when host larvae fed less suitable diets, but adult wasp weight and longevity were hardly affected. Thus, parasitoids seem to be able to adapt to unfavourable nutritional conditions mediated by their host by prolonging the duration of development, a phenomenon commonly observed in endoparasitoids to overcome nutrient constraints.

Acknowledgements

We thank Mrs A. Stradner for insect rearing and Mrs G. Motlik for technical assistance. This work was supported by the “Hochschuljubiläumsstiftung der Stadt Wien”, grant H-1167-2002.

References

- Bell, R.A., Owens, C.D., Shapiro, M. & Tardif, J.R. 1981: Development of mass-rearing technology. – In: The gypsy moth: research toward integrated pest management, eds. Doane and McManus, Washington. DC. US Dept. Agric. Tech. Bull. 1584: 599-633.
- Hoch, G. & Schopf, A. 1995: Der Parasitoidenkomplex des Schwammspinners *Lymantria dispar* L. (Lep., Lymantriidae) in Populationen hoher, mittlerer und niedriger Dichte im Burgenland. – Mitt. Deutsch. Ges. allg. angew. Entomol. 10: 195-198.
- Schopf, A., Hoch, G., Klaus, A., Novotny, J., Zubrik, M., & Schafellner, C. 1999a: Influence of food quality of two oak species on the development and growth of gypsy moth larvae. – In: Physiology and genetics of tree-phytophage interactions, eds. Lieutier, Mattson and Wagner, Les Colloques 90:231-247, INRA, Paris.
- Schopf, A., Hoch, G., Klaus, A. & Schafellner, C. 1999b: Suitability of two oak species, *Quercus petraea* and *Q. cerris*, for development and growth of gypsy moth larvae. Integrated Protection in Oak Forests. – IOBC/wprs Bull. 22 (3): 95-100.
- Sheppard, C.A. & Friedman, S. 1992: Effect of dietary nitrogen on gypsy moth larval nutritional indices, development and lipid content. – Entomol. Exp. Appl. 64: 269-280.
- Waldbauer, G. P. 1968: The consumption and utilization of food by insects. – Adv. Insect Physiol. 5: 229-288.

Effects of two disparlure analogues on the EAG response in the gypsy moth

Anna Cerboneschi ², Roberto Crnjar ¹, Anna Liscia ¹, Federica Maggiani ¹,
Carla Masala ¹, Paolo Solari ¹, Giorgia Sollai ¹

¹ Dipartimento di Biologia Sperimentale, Sezione di Fisiologia Generale, Università di
Cagliari, Cittadella Universitaria - 09042 Monserrato (CA), Italy

² Stazione Sperimentale del Sughero, Via Limbara 9, 07029 Tempio Pausania (SS), Italy

Abstract: In the present work, two different analogues of the female gypsy moth sex pheromone (+)disparlure were synthesized and tested, by means of an electrophysiological technique, on olfactory receptors of conspecific males, with the aim of identifying stronger or more stable attractants than (+)disparlure itself. Our results suggest that both analogues appear to interact with the natural sex pheromone, one by enhancing and the other by decreasing its stimulatory effectiveness.

Key words: *Lymantria dispar*, gypsy moth, EAG, (+)disparlure

Introduction

In Sardinia, the gypsy moth *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Lymantriidae) is the most important defoliator of cork oak (*Quercus suber* L.), leading to great losses in cork production. In this respect, any knowledge about the taste sensitivity of larvae (Solari et al., 2002), as well as the understanding of mechanisms underlying adult male sensitivity towards the female sex pheromone, may be critical to control the population fluctuations in their booming phase. Females produce a single-component sex pheromone, called (+)disparlure (2-methyl-7,8-epoxy-octadecane). Although the biosynthetic pathways remain to be cleared, the pheromone is known to be stored in glands until release and conspecific males perceive it through the activation of their antennal olfactory receptors (Hildebrand, 1996). In the present work, we have synthesized and screened two different analogues of the (+)disparlure, aimed at producing stronger and/or more stable attractants for male olfactory receptors.

Materials and methods

Two different analogues of the (+)disparlure, 2-decyl-1-oxaspiro[2.2]pentane (Epo01) and 4-(1-oxaspiro[2.2]pent-2-yl)butan-1-ol (Epo02), were synthesized and tested pure or added to the (+)disparlure (ratio 1:1), on male antennae, one per moth, by means of an electroantennogram bioassay (EAG), being the (+)disparlure as the control. All compounds were dissolved in CH₂Cl₂ at a 1:10, 1:100 and 1:1000 dilution ratio. Aliquots of 30 µl of each solution were then pipetted onto a 5 x 60 mm filter paper in a modified barrel of a syringe and used as stimulus through an odour delivery device. Each stimulation lasted 2 s and a recovery interval of 3 min was allowed between any two successive stimulations, with the intent of minimizing adaptation effects. Differences in EAG values were calculated by means of the Student's "t" test (Statistical software package) with a 95% confidence level ($p \leq 0,05$).

Results and discussion

Our results showed that the two compounds evoked two different responses. In details, the 2-decyl-1-oxaspiro[2.2]pentane (Epo01) analogue did not elicit any response from male

antennal receptors. However, when added to the (+)disparlure, it significantly decreased the EAG response to the two highest concentrations tested ($p < 0,05$) (Fig.1).

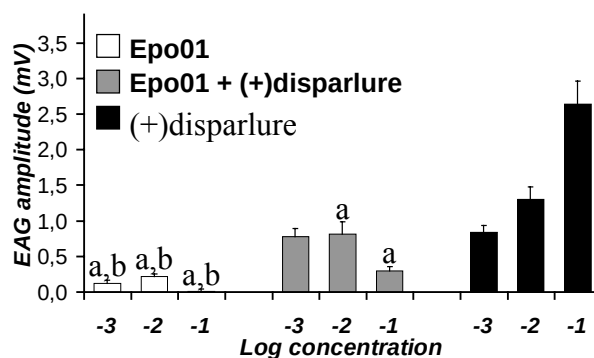


Figure 1. EAG responses after stimulation with Epo01 and (+)disparlure (mean values $\pm$ SE from 16 antennae). – (a) indicates the significant differences among (+)disparlure and Epo01 or the mixture and (b) the significant differences between Epo01 and the mixture.

Conversely, the 4-(1-oxaspiro[2.2]pent-2-yl)butan-1-ol (Epo02) compound evoked “per se” a stimulatory effect, and, at the 1:100 dilution, the EAG was stronger than that of pure pheromone at the same concentration ($p < 0,001$). Furthermore, the mixture evoked an additive-type EAG response ($p < 0,001$), but at the highest concentration (Fig. 2).

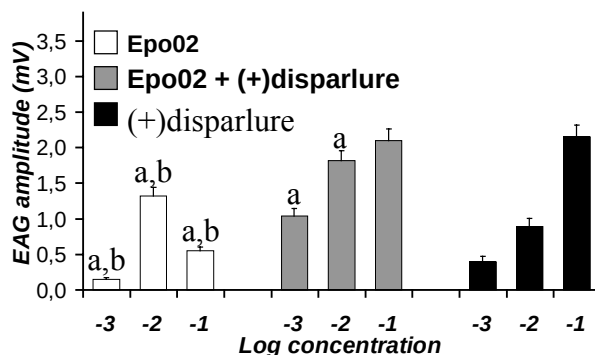


Figure 2. EAG responses after stimulation with Epo01 and (+)disparlure (mean values $\pm$ SE from 20 antennae). – (a) indicates the significant differences among (+)disparlure and Epo02 or the mixture and (b) the significant differences between Epo02 and the mixture.

In conclusion, our electrophysiological data suggest that the two analogues that we tested seem to interfere with the natural gypsy moth pheromone, one by enhancing its stimulatory effectiveness (Epo02), and the other (Epo01) by decreasing it.

References

- Hildebrand, J.G. 1996: Olfactory control of behaviour in moths: central processing of odour information and the functional significance of olfactory glomeruli. – *J. Comp. Physiol. A* 178: 5-19.
- Solari, P., Cerboneschi, A., Masala, C., Crnjar, R. & Liscia, A. 2002: Chemoreception in larvae of the moth *Lymantria dispar*. – *Ital. J. of Zool.* 69: 305-312.

Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* against *Thaumetopoea processionea* L.: field trials in *Quercus cerris* L. woods

Pio Federico Roversi, Matteo Faggi, Pietro Rumine

CRA - ISZA, Agriculture Research Council, Experimental Institute for Agricultural Zoology,
Via Lanciola 12/A, 50125 Florence, Italy, roversi@isza.it

Abstract: Field trials were carried out in a Mediterranean environment to test the efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in the control of *Thaumetopoea processionea* L. infestations on turkey oak. In early spring, a helicopter equipped with four atomizers was used to apply an undiluted commercial *Btk* formulation (Foray 48B) at 31.75, 44.45 and 57.15 BIU/ha over 1600 ha. Larval mortality was evaluated in 6 treated stands and in two untreated ones. In the treated areas, there was a maximum mortality of 97.7 to 100%, while in the untreated areas it was 43.1%. Laboratory examinations showed that almost all the dead and dying *T. processionea* larvae had *Btk* spores in their gut.

Key words: Turkey oak, Lepidoptera defoliators, urticating larvae, forest protection, microbial insecticide

Introduction

The oak processionary moth, *Thaumetopoea processionea* (L.), is a univoltine forest defoliator of deciduous oaks, widely distributed in southern and central Europe. Its larvae are equipped with urticating hairs on the dorsum (Agenjo, 1941). The adults appear between July and September and the female lays eggs on young oak twigs in characteristic uniplanar egg clusters destined to support overwintering. The larvae hatch in the spring of the following year, coinciding with renewed growth of the host trees (Bin & Tiberi, 1983); they exhibit gregarious behaviour throughout their development, feeding for a period of 2-3 months during which they build large sack-shaped nests on the stem or axil of large branches (Niccoli & Tiberi, 1986).

Since the 1990s, outbreaks of this phytophagous have been reported over vast areas of oak forests in various parts of Europe, including regions like Holland where large populations of the species have not been observed since the end of the 1800s (Flemming, 1997). This defoliator has also assumed increasing importance in Italy on account of strong and extensive infestations not only in environments characterized by Middle European oaks, like the pedunculate oak, but also in forests dominated by deciduous species of the submediterranean band like the turkey oak (Roversi, 1997; Roversi et al., 1997; Camerini et al., 2002). In Tuscany, a gradation reached a peak in 1996, affecting around 1500 ha of woods in the Demanio Regionale della Foresta di Santa Luce in the Province of Pisa, strongly decreasing forestry activities and preventing normal recreational uses of the forest (Roversi, 2002).

Following these outbreaks, research was implemented to study the population dynamics of the oak processionary moth, to establish monitoring methods and to identify low-environmental-impact strategies for the control of infestations. In the latter context, large-scale control with *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* was tested in spring 2004 after the

* Research carried out within the Progetto "META – Monitoraggio estensivo dei boschi della Toscana a fini fitosanitari." Regolamento CE n. 1257/99, Piano di Sviluppo Rurale 2000/2006, Misura 8 Selvicoltura

T. processionea populations had entered the progradation phase; these trials were based on previous studies conducted in Italy.

Here we report the results of precocious distribution of bacteria on 1st instar larvae of the oak processionary moth.

Material and methods

Study area

The forest of Santa Luce (Pisa) covers a mainly hilly area of 1607.55 ha (maximum altitude around 590 m a.s.l.). The formations are dominated by *Quercus cerris* L. together with *Quercus pubescens* Willd., *Fraxinus ornus* L., *Quercus ilex* L., *Acer opulifolium* Chaix, *A. pseudoplatanus* L., *A. campestre* L. and *Ulmus minor* Mill. Interspersion of the various vegetation types is particularly evident.

Monitoring of the oak processionary populations

To monitor variations in the abundance of oak processionary egg clusters, we collected 10 branches (from the highest part of the canopy of 10 randomly selected trees) at each of 24 stations uniformly distributed throughout the study area at the end of winter each year since 1986, for a total of 240 branches per year. From 2002, the sampling was extended to 26 stations.

Determination of the date of treatment

From the second week of April 2004, we collected further samples every 3 days to identify the best time to perform the treatment, i.e. between the hatching of all the eggs and the passage of a large proportion of the larval population to the II instar.

Treatment

On April 28 2004, we performed the treatment with FORAY 48B, using an Aérospatiale SA 315 “Lama” helicopter with a total capacity of 500 litres and equipped with 4 atomizers mounted on a 12 m wide bar. The area to be treated was divided into three subareas treated respectively with 31.75 BIU/ha (578 ha), 44.45 BIU/ha (306 ha) and 57.15 BIU/ha (756 ha).

Evaluation of the efficacy of treatment

The efficacy of the treatment was evaluated by: a) estimation of the levels of mortality 5 and 13 days after the treatment: on each date, we collected all the egg clusters and larval colonies present on 3 trees at a station in each of the 3 subareas treated with different doses of *Btk* and at one control station located outside the treated area; b) counting, in July, of the definitive nests on 10 randomly selected trees at the 26 permanent stations and at the two control stations outside the treated area.

a) The colonies were collected by pruning of the trees, with the help of an aerial platform, and subsequent felling of the trunk. On the examined trees, we also collected all the egg clusters laid in summer 2003, which were then studied in the laboratory to estimate the egg mortality.

All identified larvae were collected and reared in the field in fine-mesh metal-screen cages (fed on turkey oak leaves); periodic controls were performed to check for other dead individuals to use for microbiological examinations. The dead larvae were placed in Petri dishes with nutrient agar and incubated at 28-30°C to check for the presence of vital *Btk* spores in the gut.

b) Nests were counted after all the oak processionary larvae had reached maturity and individuals were no longer observed feeding on the trees. We took particular care to distinguish new nests from those of the previous year, opening the nests to assess the contents when necessary.

Results

Monitoring of the oak processionary populations

Following the strong gradation in the mid-1990s and the sudden decline in 1998 (when it was impossible to find any egg clusters on the sampled branches), the oak processionary population in the Santa Luce forest began to increase again in 2002. Figure 1 shows that the mean number of nests per tree almost tripled in the last triennium, from 0.26 to 0.65, with the presence of *T. processionea* nests on more than 50% of the sampled trees.

The data obtained up to 2003 revealed a very dangerous situation, with an evident tendency of the oak processionary population to begin a new gradation. Therefore, an experimental treatment was performed aimed at drastically reducing the density of the phytophagous.

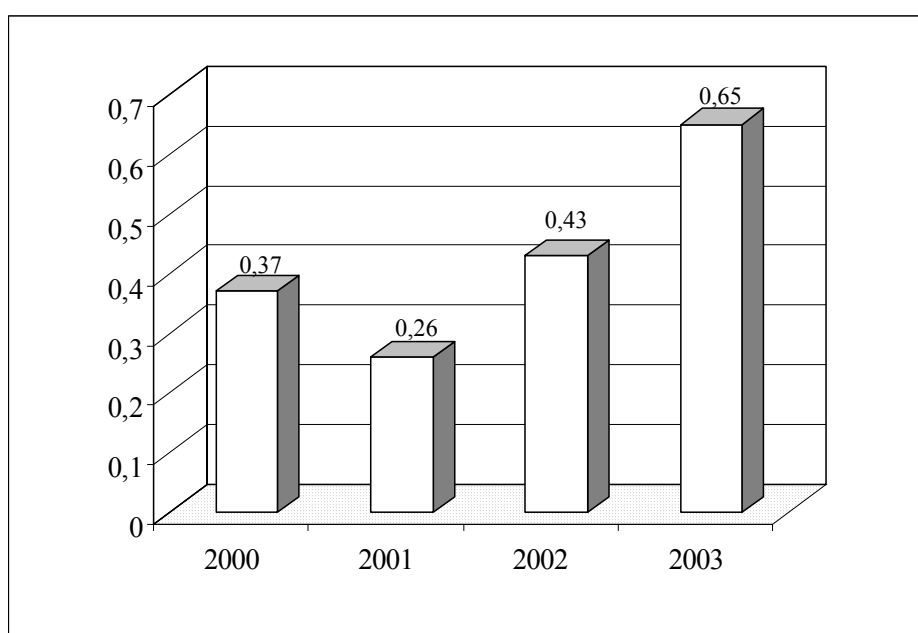


Figure 1. Mean number of *T. processionea* nests per tree in the period 2000-2003: in 2000-2001, the data refer to 24 stations, while in 2002-2003 they refer to 26 stations.

Mortality of eggs laid in 2003

The mortality of eggs laid in 2003 was respectively 29.43%, 17.34% and 25.00% in the subareas subsequently treated with the 3 doses of Foray 48B (2.5, 3.5, 4.5 l/ha). Lower values were found in the 2 control stations, 12.56% and 4.94% (Fig. 2).

Larval mortality 5 days after treatment

In the first sampling performed on May 3, we collected 59 colonies in the treated areas, for a total of 2951 larvae, compared with the 11695 larvae hatched from eggs laid on the same trees. At control station G, where the number of hatched eggs was 543, we found 4 colonies for a total of 340 larvae.

Therefore, we recorded high values of larval mortality at all the stations in the treated subareas, with a minimum of 69.72% in oak stands treated with 44.45 BIU/ha and a maximum of 82.58 % in the area treated with 57.15 BIU/ha, whereas the mortality was much lower at control station G (37.38%) (Fig. 3).

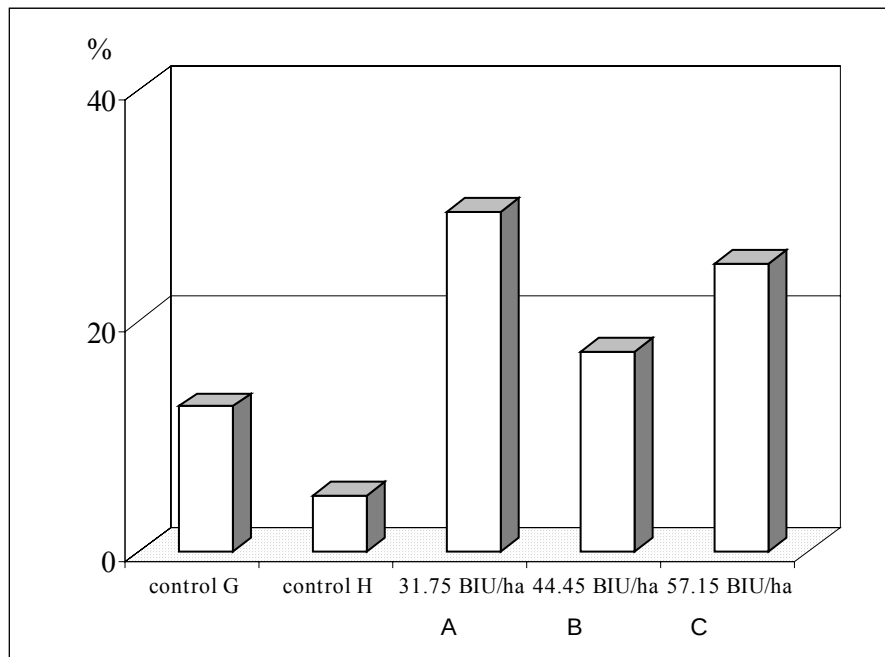


Figure 2. Unhatched eggs laid in 2003 in the 2 control areas and in the 3 subareas treated with different doses of *Btk*

Figure 4 reports the cumulative mortality for all colonies collected on each tree on May 3 and reared until May 24. It shows that most of the individuals from the stations treated with 44.45 and 57.15 BIU/ha died within 4 days after being collected. However, larval mortality was lower in colonies collected on 2 of the 3 trees in the subarea treated with 31.75 BIU/ha.

A completely different situation was observed at the first control station (G), as all the larvae survived for the entire observation period.

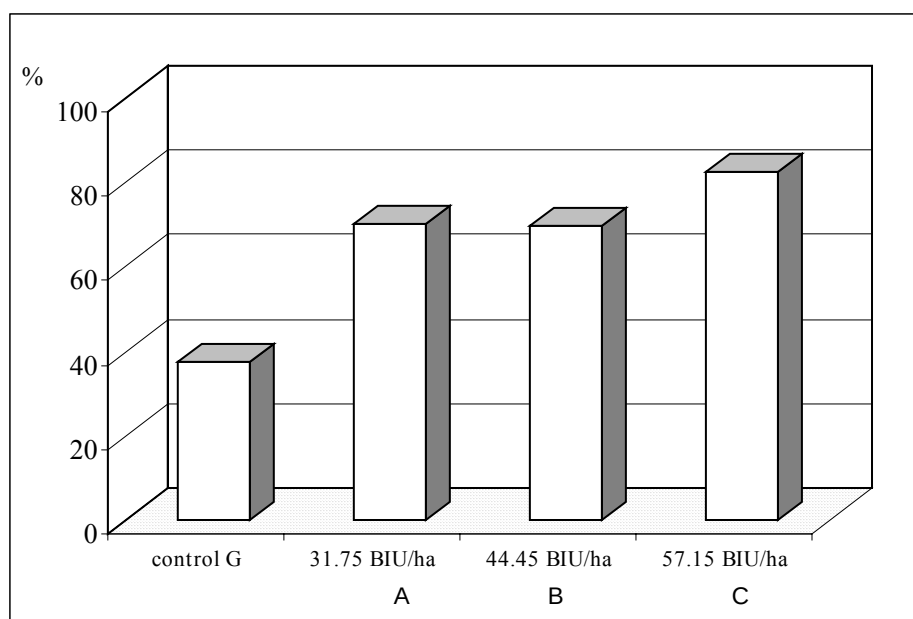


Figure 3. Larval mortality of I and II instar larvae 5 days after treatment with *Btk*.

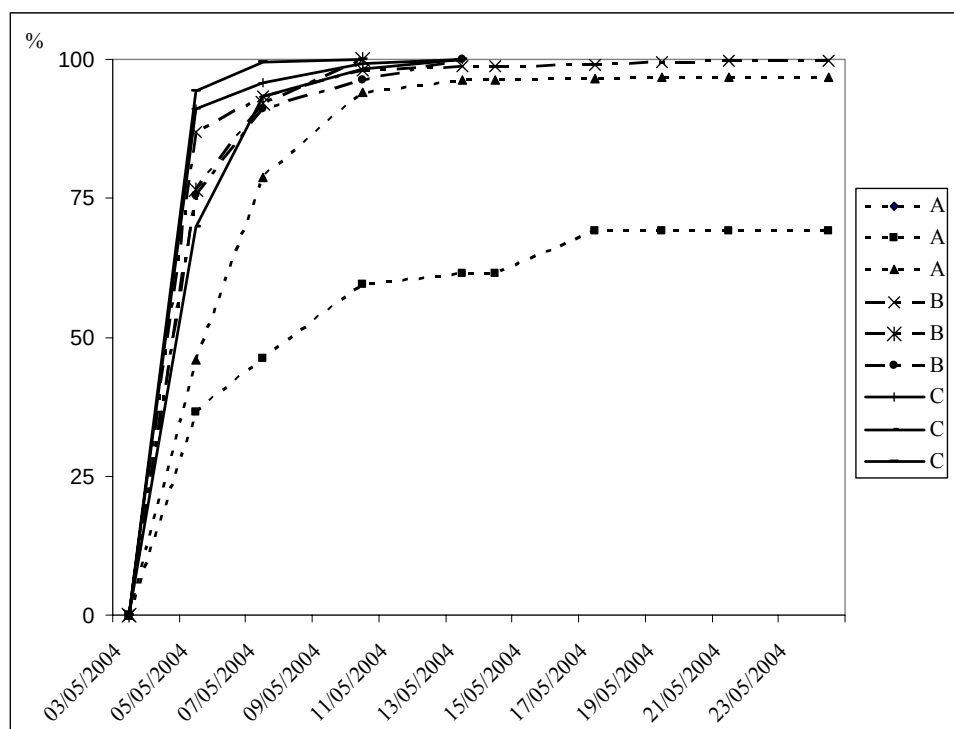


Figure 4. Cumulative mortality of larvae collected on May 3 on 3 trees at a station in each of the 3 subareas treated with different doses of *Btk* (A : 31.75 BIU/ha; B : 44.45 BIU/ha; C : 57.15 BIU/ha).

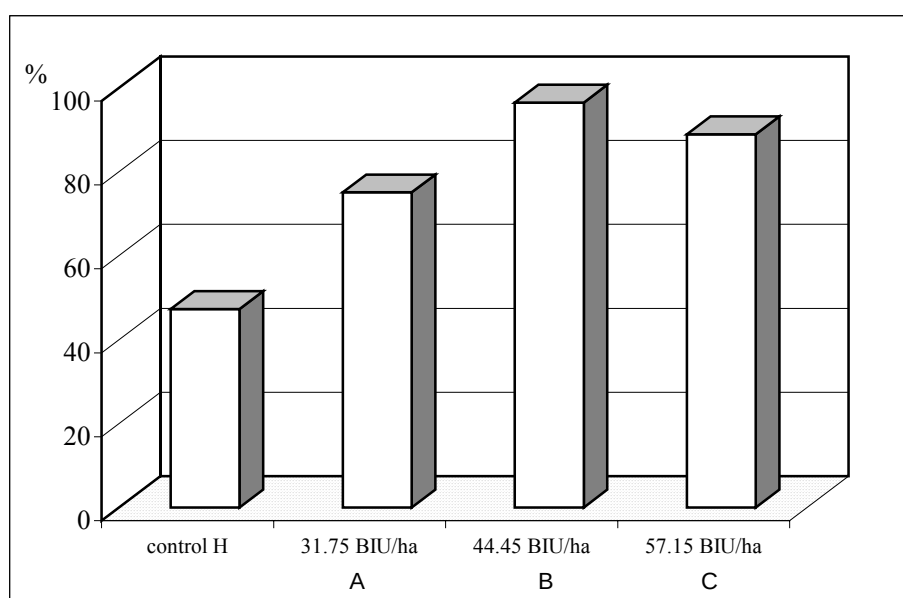


Figure 5. Larval mortality of I and II instar larvae 13 days after treatment with *Btk*.

Larval mortality 13 days after treatment

In the second sampling on May 11, we found a smaller number of living larvae in the treated areas, with mortality ranging from a minimum of 75.05% at the station treated with 31.75

BIU/ha to a maximum of 96.42% at the station treated with 44.45 BIU/ha. In contrast, at control station H, the percentage of dead larvae was not very different from the values recorded at control station G on May 3 (Fig. 5).

The plot of cumulative mortality of the larvae collected on May 11 and then reared in the field shows that most of them died within one day after being collected (Fig. 5). In fact, only 34 of the 1129 larvae (from 37 colonies) were still alive 26 days after the treatment, including 1 larva from the subarea treated with 44.45 BIU/ha and 33 larvae from the subarea treated with 31.74 BIU/ha (Fig.6).

As in the case of control station G, none of the living larvae collected at control station H on May 11 died during the subsequent rearing period.

Microbiological examinations

Microbiological examinations were carried out to evaluate the possible presence of vital spores of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in the gut of the larvae. They showed the development of *Btk* colonies in almost all the larvae collected from the treated areas. In contrast, none of the *T. processionea* larvae from the two control stations showed the development of the bacterial colonies.

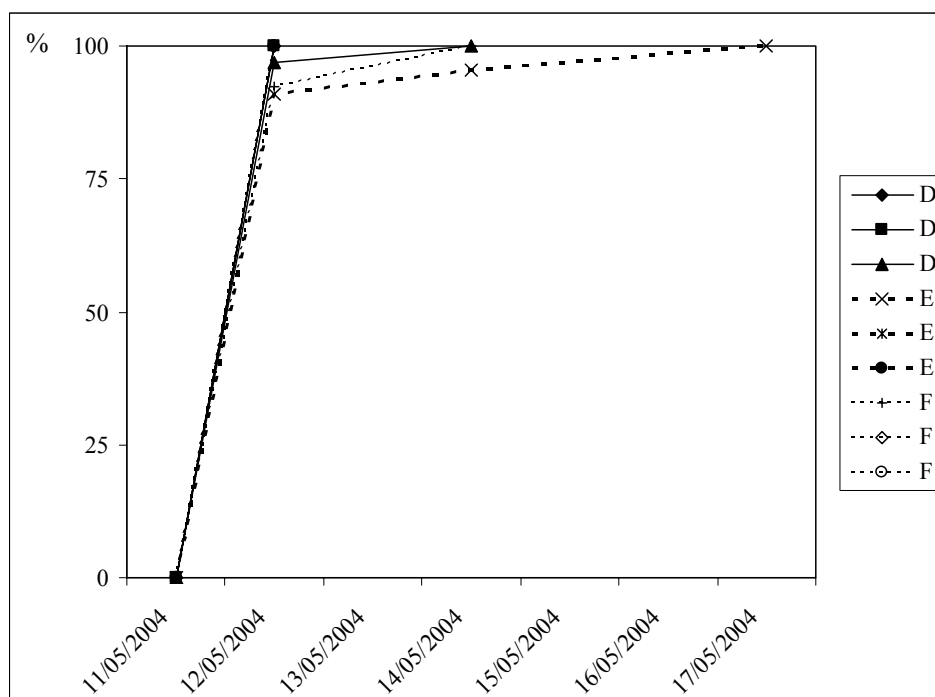


Figure 6. Cumulative mortality of larvae collected on May 11 on 3 trees at a station in each of the 3 subareas treated with different doses of *Btk* (D = 31.75 BIU/ha; E = 44.45 BIU/ha; F = 57.15 BIU/ha).

Definitive nests

Controls were performed to identify the possible presence of definitive *T. processionea* nests in July. However, we failed to observe any nests at 25 of the permanent stations in the 3 treated subareas. Only 3 nests were counted at a single station located at the margin of the subarea treated with 57.15 BIU/ha. Once again, the situation was completely different at the two control stations, with respectively 13 and 8 nests on the 10 trees examined at each station.

Discussion

The experimental treatment with a *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* suspension for the control of I and II instar larvae of the Oak Processionary was carried out in turkey oak stands out at the end of April 2004 when the leaves were in the initial unfolding phase. It resulted in effective control of the *T. processionea* population during the progradation phase, even in the area treated with 31.75 BIU/ha of FORAY 48B. In fact, the total mortality, i.e. the eggs that did not hatch due to various factors plus the larvae that died naturally and during rearing, was over 99% in the three treated areas, with a peak of 100% mortality at the two stations treated with the maximum dose.

This was confirmed by the controls performed in summer, which showed the virtual absence of new nests in the vast area coinciding with the treated oak woods.

It will be very important, in the near future, to follow the population dynamics of this defoliator in the treated area, as well as in the surroundings where large *T. processionea* populations persist. In this way, we can evaluate the long-term effects of the *Btk* application and monitor the possible migration of adult moths from the neighbouring areas into the 3 subareas subjected to the extensive microbiological control treatment.

Acknowledgements

We thank the personnel of the Municipality of Santa Luce for their valuable collaboration during the fieldwork in the woods, in particular Michele Suraci, Roberto Tabani, Andrea Verucci and Claudio Santucci. We are also grateful to Dr. Giuseppe Vetralla of the Italian Forestry Service for assistance with the aerial spraying.

References

- Agénjo, R. 1941: Monografía de la familia *Thaumetopoeidae* (Leo.). – Eos 17: 69-130.
- Bin, F. & Tiberi, R. 1983: Notizie preliminari sui parassitoidi oofagi di *Thaumetopoea processionea* (L.) in Italia centrale (Hym., Chalcidoidea; Lep., Thaumetopoeidae). – Redia 56: 449-459.
- Camerini, A., Caronni, F. & Roversi, P.F. 2002: Gradazioni di processionaria della quercia (*Thaumetopoea processionea* L.) in boschi planiziali: monitoraggio e controllo nel Parco Lombardo della Valle del Ticino. – Atti XIX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Catania 10-15 giugno 2002: 879-883.
- Flemming, G. 1997: Erste Erfahrungen bei der Bekämpfung des Eichenprozeßionsspinner (*Thaumetopoea processionea*) im nordwestlichen Teil des Landes Brandenburg im Jahre 1996. – Gesunde Pflanzen 49 (2): 54-57.
- Niccoli, A. & Tiberi, R. 1986: Osservazioni sulla biologia e sul comportamento delle larve di *Thaumetopoea processionea* (L.) (Lepidoptera, Thaumetopoeidae). – Redia 59: 285-297.
- Roversi, P.F. 1997: Problematiche di entomologia urbana connesse ad attacchi di Lepidotteri defogliatori provvisti di peli urticanti. – Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria, Nota Tecnica n.3 (in stampa).
- Roversi, P.F., Boretti, R., Merendi, G.A., Bartolozzi, L. & Toccafondi, P., 1997: Processionaria della quercia: danni e criteri di controllo. – Sherwood 3(8): 1-16.
- Roversi, P.F. 2002: Dinamica di popolazione di *Thaumetopoea processionea* L.: indicatori biologici ottenuti dalle ovature. Primo contributo. – La Difesa delle Piante. Atti Giornate di studio "Metodi Numerici, Statistici e Informatici nella Difesa delle Colture Agrarie e delle Foreste: Ricerca e Applicazioni", Scuola Superiore S. Anna, Pisa 20-23 maggio, 2002: 185-195.

Influence of different host plants on the biology and behaviour of the green oak leaf roller, *Tortrix viridana* L.: first results

Riziero Tiberi, Daniele Benassai, Angela Niccoli

Università degli Studi di Firenze, Dipartimento di Biotecnologie agrarie, Sezione di Entomologia Generale e Applicata, Via Maragliano, 75-77, 50144 Firenze. C.R.A., Istituto Sperimentale per la Zoologia agraria, Via Lanciola, 12/A, 50125 Firenze

Abstract: In Italy the green oak leaf roller moth, *Tortrix viridana* L., is a widespread pest in pure and mixed formations of deciduous and evergreen oaks. Even if many studies have been carried out on the biology and the ethology of this defoliating insect, methods to detect the occurrence of outbreaks are still lacking, and available information about the influence of different oak species on the preimaginal development is still inadequate.

Therefore, in order to contribute to the knowledge of the *T. viridana* ecology in Italian environments, in 2003-2004, a study was carried out in a tuscan oak stand composed prevalently of *Quercus cerris* and *Quercus pubescens*, with the occurrence of a severe infestation of *T. viridana*. The flight periods were monitored during the spring and summer 2003 and 2004; in late autumn 2003 twig samples were collected from 7 *Q. pubescens* and 5 *Q. cerris* specimens, at two different tree strata (2-4 m and 5-7 m), in order to assess the presence of eggs. In addition, starting 15 March 2004, on three of the most infested trees of each oak species, 60 twigs were examined weekly, in order to ascertain the influence of the host plant on the beginning and during the course of the leaf roller development.

The results confirmed the adult emergence in late spring-early summer. The number of laid eggs was similar on the two oak species, the most part being deposited in the higher strata (about 64% on *Q. pubescens* and 62% on *Q. cerris*). Larvae hatched almost three weeks earlier on *Q. cerris* than on *Q. pubescens*, and also the pupal stage occurred about two weeks earlier on *Q. cerris*.

Key words: *Tortrix viridana*, *Quercus cerris*, *Quercus pubescens*, life cycle-host plant relationship.

Introduction

The oak leaf roller moth, *Tortrix viridana* L., is one of the most widespread and harmful spring oak defoliators in the Palaearctic region. In Italy, the species is present wherever there are oak formations, and intense defoliations of both deciduous and evergreen oaks have been recorded since the early 20th century (Silvestri, 1923; Cecconi, 1924; Del Guercio, 1931). In mixed formations, the oak leaf roller prefers deciduous oaks, but even among these species there is a different intensity of attack in relation to the phenological coincidence between host tree and defoliator (Schütte, 1957; Schwerdtfeger, 1961; Du Merle & Mazet, 1983; Hunter, 1990; Pascual et al., 1994). In mixed oak forests, the late oaks host more abundant larval populations, as observed in various European regions (Bogenschütz, 1978) and more recently in central Italy where *Quercus pubescens* Willdenow, when growing together with *Quercus cerris* L., is always the most infested species (Tiberi & Roversi, 1989). In a comparative study on *Quercus ilex* L. and *Q. pubescens* in France, the phenology of the pubescent oak resulted in being more closely synchronised with the moth's life cycle (Du Merle, 1983).

In natural environments, in relation to the altitude, latitude and oak species present, there are populations of *T. viridana* that have adapted well to the vegetative cycle of the host tree on which they develop. In previous years, interesting articles discussed the presence of a

phenological polymorphism in response to the variations in budburst time among the different oak species (Altenkirch, 1966; Du Merle, 1983) and more recently, its ecophysiological and genetic basis were showed in research carried out in South Eastern France (Du Merle, 1999). Nevertheless, the phenological coincidence between budburst and larval hatch is not so close in some years, and the populations may be subjected to selection pressure that leads to the elimination of some individuals (Schütte, 1957; Du Merle, 1983); even though an initial asynchronism may be overcome thanks to resistance of newly hatched larvae against starvation (Hunter, 1990). In studies carried out in the year period 1982-1990, phenological synchronism with host plant appeared to be quite important also for the larval development in a population of *T. viridana* in the Crimean peninsula (Ivashov *et al.*, 2002).

Because of the recurrence of infestations by the oak leaf roller moth in central Italy (2-year outbreaks at intervals of 5-6 years) and the severe ecological and economic damage caused by the defoliation, we decided to evaluate possible preferences of the females for different oak species when laying eggs in mixed formations and to assess the influence of the host tree on the tortricid's preimaginal development. Such knowledge is very important for the definition of programs for the protection of mixed oak forests, since the presence of subpopulations of the oak leaf roller adapted to different oak species requires a differential schedule of control interventions, particularly when biological control measures are used, e.g. preparations based on *Bacillus thuringiensis* (Berliner).

Material and methods

The study was carried out over two years 2003-2004 in a mixed wood of *Q. pubescens* (the dominant species), *Q. cerris* and, secondarily, *Castanea sativa* Miller, *Ostrya carpinifolia* Scopoli, *Fraxinus ornus* L., *Sorbus aucuparia* L., situated at an altitude of 450-620 m above sea level in the "Pratomagno Valdarno" Forest Complex, managed by the Region of Tuscany. The study area covered a surface area of about 8 hectares, with western exposure and a slope varying from 50 to 63%.

The field observations on the biology and behaviour of the oak leaf roller moth and the sampling of vegetable organs to be examined in the laboratory were performed on 5 turkey oak and 7 pubescent oak trees, chosen from the most infested trees along a 500-m transect inside the study area. Five pheromone traps were set at least 70 m apart along this transect at the beginning of June 2003 and in mid-May 2004 to check the flight period of the oak leaf roller moth. In both years, the traps were checked weekly until the middle of July.

In November 2003, to ascertain possible preferences by the females when laying eggs for one of the two oak species and for twigs of different age, we randomly collected 15 twigs about 50 cm long (representing the growth of the last 4 years) at 2 heights of the canopy (from 2 to 4 m and from 5 to 7 m) for a total of 30 twigs per tree. In the laboratory, we recorded the presence and abundance of eggs on these samples separately for each oak species, canopy height and twig growth (1, 2, 3, 4 years).

From March 15 2004 until emergence of the adult moths, we collected 10 twigs (50 cm long) every week from each of 3 turkey oak and 3 pubescent oak trees, chosen among the most infested trees on the basis of the results of the previous investigations. These samples were examined in the laboratory to learn the pattern of bud development in the two oak species and the hatching of larvae on the turkey oak and pubescent oak. In addition, we studied the moth's preimaginal development, considering the presence and the number of the larvae in different instars and the pupae on each tree, in relation to the phenological phases of the two host species, and we recorded the percentage of mortality in the various developmental stages.

Results

In the Pratomagno Forest, spring 2003 (the first year of investigation) coincided with the peak phase of the *T. viridana* outbreak. However, attacks by the oak leaf roller were also rather intense in limited areas in 2002, especially in marginal areas of pure or mixed oak woods (oaks plus other deciduous trees) present in the same district.

Presence of adults

In 2003, it was not possible to record the initial period of flight with certainty, since adult emergence had probably already started before the time when the traps were placed in the wood. In the following year, we were able to study the entire flight period and we could infer that it was delayed by 10-15 days when compared to the preceding year. The first captures were recorded in the first week of June and the peak phase coincided with the third control (June 20), i.e. at least 2 weeks later than in 2003. However, the final phase of flight coincided in the two years.

Presence and distribution of eggs

On the turkey oak, 130 of the 150 twigs were infested (71 from the upper band of canopy and 58 from the lower band) and 797 eggs were found. In other words, there were no oviposition on 13.55% of the twigs, mainly from the lower part of the canopy (which alone constituted 11.11% of those examined). Of all the eggs found, 491 (61.60%) were on twigs from the upper band and 306 (39.39%) on twigs from the lower band, with a mean number per twig of 6.56 and 4.07 respectively (Tab. 1).

On the pubescent oak, eggs were found on 190 of the 210 twigs (102 from the upper band, 88 from the lower), for a total of 1234 eggs (Tab. 1); 20 twigs (9.5%) did not present eggs, 17 of which from the lower portion of the canopy. 63.86% of the eggs (788) were found on twigs from the upper band while the remaining 36.14% (446 eggs) were on twigs from the lower band, with a mean number per twig of 7.50 and 4.24 respectively.

Table 1. Presence of *T. viridana* eggs on the two oak species and distribution into the two canopy heights

	Eggs		Eggs (upper band)		Eggs (lower band)	
	<u>Mean Nb. $\pm$ D.S.</u>		<u>Mean Nb. $\pm$ D.S.</u>		<u>Mean Nb. $\pm$ D.S.</u>	
	per tree	per twig	per tree	per twig	per tree	per twig
<i>Q. cerris</i>	159.33 $\pm$ 26.31	5.31 $\pm$ 4.32	98.33 $\pm$ 9.29	6.56 $\pm$ 4.60	61.00 $\pm$ 17.35	4.07 $\pm$ 3.66
<i>Q. pubescens</i>	176.28 $\pm$ 46.55	5.88 $\pm$ 4.75	112.57 $\pm$ 23.40	7.50 $\pm$ 4.80	63.71 $\pm$ 25.59	4.25 $\pm$ 4.12

The presence of eggs was more intense on the 2 year twigs in *Q. cerris* (57.11% of the total) than on the 3 year (24.69%) and 1 year (12.76%); only on one tree a few eggs (5.02%) were found on 4 year growths, from the lower part of the canopy (Tab. 2).

Also in *Q. pubescens*, the distribution of eggs on the twigs of different age revealed a clear preference by *T. viridana* females to lay eggs on the 2 year twigs (71.88% of the total), while only 13.86% were found on the 3 year growths and 13.45% on the 1 year; only very few ovipositions (0.81%) occurred on 4 year twigs, all from the lower band of canopy (Tab. 2).

Table 2. Distribution of *T. viridana* eggs on twigs of different age (1, 2, 3, 4 years) in the two oaks species

		1 year	2 years	3 years	4 years
<i>Q. cerris</i>	Eggs per twig Mean Nb. $\pm$ S.D.	1.36 $\pm$ 1.97	6.07 $\pm$ 3.88	2.62 $\pm$ 3.56	0.53 $\pm$ 1.08
	% of the total	12.76	57.11	24.69	5.02
<i>Q. pubescens</i>	Eggs per twig Mean Nb. $\pm$ S.D.	1.58 $\pm$ 2.23	8.45 $\pm$ 4.89	1.63 $\pm$ 2.34	0.09 $\pm$ 0.51
	% of the total	13.45	71.88	13.86	0.81

Presence and development of larvae and pupae

As already indicated in the methodology, the relationship between the hatching of *T. viridana* larvae and bud development was evaluated by examining twig samples collected each week starting in mid-March 2004. At the second sampling, the turkey oak buds were already in the swelling phase, with initial separation of the scales. At the March 29 control, the buds of one turkey oak tree were already infested by young *T. viridana* larvae (Fig 1). At the following control, 1st instar larvae were recorded on the buds of all 3 turkey oak trees.

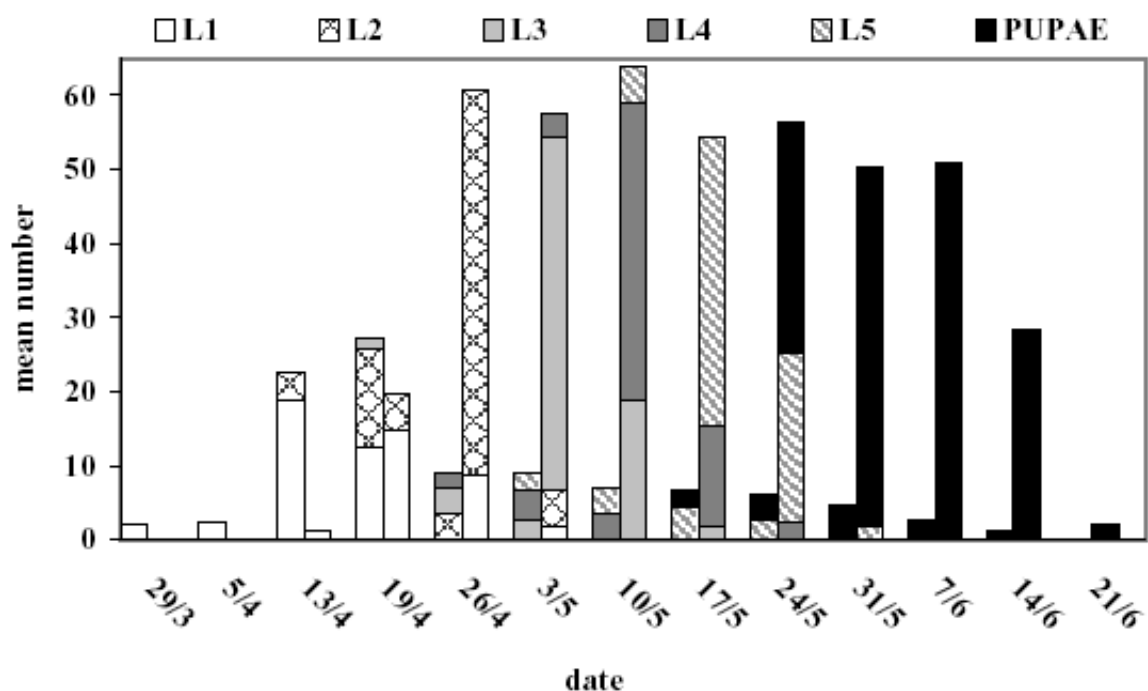
On the pubescent oaks, the presence of 1st instar larvae, and thus bud infestation, was observed at the April 13 control, coinciding again with bud swelling. This confirms the observations of Du Merle and Mazet (1983) in a similar study comparing the phenology of the oak leaf roller moth with those of the pubescent oak and holm oak.

The earlier bud development of the turkey oak than of the pubescent oak, which is well known in central Italy (Arena, 1958), was also evident in the following period. The first leaflets were observed on the turkey oak in the middle of April, while they appeared on the pubescent oak in the last few days of the same month. Likewise, the moth's preimaginal development also showed a different pattern: 2nd instar larvae were observed on the turkey oak starting from the second half of April, again about 10 days earlier than on the pubescent oak. Figure 1 shows that the 5th instar larvae were observed firstly on the turkey oak in early May compared with one week later on the pubescent oak. Pupae were recorded from the middle of May on the turkey oak and from the last week of May on the pubescent oak. Consequently, the emergence of adults on the turkey oak was earlier than on the pubescent oak; in fact, the first pupal exuviae were found in the first week of June on *Q. cerris* but only in the middle of June on *Q. pubescens*.

In the same figure, the higher number of *T. viridana* specimens found on *Q. pubescens* is also evident in comparison with those on *Q. cerris*, mainly starting from 2nd larval instar until pupal stage.

Also the incidence of the various mortality factors appeared to be different on the two oaks, table 3 shows that there was a higher percentage of mortality in all the preimaginal stages on the turkey oak than on the pubescent oak. On the turkey oak, the highest mortality was recorded in the egg stage, where the activity of oophagous enemies, represented almost exclusively by predators, affected 381 eggs, i.e. 47.81% of the total (27.97% on twigs of the upper band of canopy, 19.84% on twigs of the lower band). The mortality incidence was high also in the 1st and especially 2nd instar larvae, coinciding with a sudden lowering of temperature: during this period, all the dead larvae were found inside the buds. No dead larvae were found in the 3rd instar stage, while the percentage of mortality was again high

among 4th and 5th instar larvae and pupae; however, in these cases, death was mainly due to biotic causes.



		29/3	5/4	13/4	19/4	26/4	03/5	10/5	17/5	24/5	31/5	07/6	14/6	21/6
L1	c	1.73	2.31	6.43	4.16									
	p			0.58	7.77	2.31	1.15							
L2	c			2.64	2.31	0.58								
	p				4.58	19.76	3.60							
L3	c				1.15	0.58	0.58							
	p						7.37	14.57	1.15					
L4	c					1.00	0.00	1.15						
	p						4.04	15.04	6.43	1.53				
L5	c						1.15	0.58	0.58	0.58				
	p							6.93	13.23	6.00	1.15			
pupae	c								1.15	0.58	0.58	1.00	0.58	
	p									12.16	6.43	2.00	2.52	1.00

Figure 1. Presence of *T. viridana* larvae, in different instars, and pupae on *Q. cerris* (left bars) and *Q. pubescens* (right bars) in 2004 and table of the standard deviation values (c = *Q. cerris*; p = *Q. pubescens*)

Table 3. Mortality of *T. viridana* preimaginal stages on the two oak species

		eggs	larvae					total	pupae
			L1	L2	L3	L4	L5		
<i>Q. cerris</i>	%	47.81	23.65	44.44	0	20.00	11.11	25.35	13.79
<i>Q. pubescens</i>	%	17.34	2.90	1.73	0.51	4.79	1.04	2.00	3.85

On pubescent oak, 17.34% of all eggs were attacked by natural enemies (41.12% of the dead eggs were found in the lower band and 58.88% in the upper), with a clear prevalence of preyed eggs over parasitized ones. Percentage mortality also appeared lower in all the following stages on this host plant, as shown in the same table.

The highest mortality was among 4th instar larvae, even though the value remained relatively low; in most cases, the mortality was due to natural antagonists. On the pubescent oak, abiotic factors of mortality were of negligible importance in both larvae and pupae: very few 1st and 2nd instar larvae were found dead inside the buds.

Discussion

The results of our study, conducted in a mixed formation of turkey oak and pubescent oak in Tuscany, showed that the life cycle of *T. viridana* is closely related to the phenology of the oak species on which the eggs are laid, thus confirming data obtained in France by Du Merle and Mazet (1983) for a deciduous oak (pubescent oak) and evergreen oak (holm oak).

Also, in our case, the oak leaf roller larvae hatch at the time of budburst, and thus adapt to the different bud development schedules of the two oak species. In the turkey oak (one of the most precocious deciduous oaks), bud development is 2-3 weeks earlier than in the pubescent oak, and *T. viridana* larval hatching and bud infestation occur at least 2 weeks later on the latter host. The staggered developmental times are maintained until the appearance of the adults. This confirms that in mixed oak formations, the oak leaf roller moth populations are strictly adapted to the phenology of the host tree, as previously shown by Du Merle (1983).

The different intensity of damage to the two oak species does not seem to depend on the initial level of infestation (at least in our case), since the mean number of eggs per twig was only slightly different on the two trees. Instead, the lower infestation on the turkey oak could have been due to the activity of oophagous enemies, which were much more abundant on this species. Moreover, because of the anomalous spring weather, the mortality of larvae inside the buds could have played a crucial role in determining the different levels of infestation on the two oaks.

The results relating to the egg distribution were in accordance with those obtained in oak formations of central Italy by Roversi and De Silva (1994) and in Sardinia by Serra et al. (1998; 2001; 2002). In fact, we observed that *T. viridana* females show a clear preference for the higher part of the canopy when laying eggs and for 2 year twig growths rather than for those of 3 years. However, unlike the above-mentioned studies, we found more ovipositions on 1 year than on 4 year twigs.

Finally, the pattern of adult captures recorded in the pheromone traps during the two-year observation period generally confirms the results of previous studies conducted in oak forests in Tuscany (Tiberi & Roversi, 1989).

References

- Altenkirch, W. 1966: Zum Vorkommen von *Tortrix viridana* L. in Portugal. – Zeit. angew. Zool. 53: 403-415.
- Arena, M. 1958: Ricerche sul ciclo riproduttivo di specie del genere *Quercus* della flora italiana. III. Contributo alla biologia di *Quercus pubescens* Willd. in Sicilia. – Ann. Acc. It. Sci. For. 7: 259-290.
- Bogenschütz, H. 1978: Tortricinae. – In: Die Forstschädlinge Europas. Band III, ed. W. Schwenke, Hamburg und Berlin, Paul Parey: 55-89.

- Cecconi, G. 1924: Manuale di Entomologia Forestale. – Tip. d. Seminario, Padova: XIX+680.
- Del Guercio, G. 1931: La Tortrice, la Limantria e la Processionaria della quercia nei Boschi della Pieve a Presciano (Arezzo). – Redia 19: 197-211.
- Du Merle, P. 1983: Phénologies comparées du chêne pubescent, du chêne vert et de *Tortrix viridana* L. (Lep., Tortricidae). Mise en évidence chez l'insecte de deux populations sympatriques adaptées chacune à l'un des chênes. – Acta oecol. Oecol. applic. 4(1): 55-74.
- Du Merle, P. 1999: Eggs development and diapause: ecophysiological and genetic basis of phenological polymorphism and adaptation to varied hosts in the green oak tortrix, *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera: Tortricidae). – J. Insect. Physiol. 45: 599-611.
- Du Merle, P. & Mazet, R. 1983: Stades phénologiques et infestation par *Tortrix viridana* L. (Lep., Tortricidae) des bourgeons du chêne pubescent et du chêne vert. – Acta oecol., Oecol. applic. 4 (1): 47-53.
- Hunter, M.D. 1990: Differential susceptibility to variable plant phenology and its role in competition between two insect herbivores on oak. – Ecol. Entomol. 15: 401-408.
- Ivashov, A.V., Boyko, G.E. & Simchuk, A.P. 2002: The role of host plant phenology in the development of the oak leafroller moth, *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera: Tortricidae). – Forest. Ecol. Manag. 157: 7-14.
- Pascual, J., Perez, M. & Peris, S. 1994: Densidad de *Tortrix viridana* L. en encina y quejigo en una masa mixta. – Bol. San. Veg. Plagas 20: 899-907.
- Roversi, P.F. & De Silva, J. 1994: Distribuzione spaziale e temporale delle uova di *Tortrix viridana* (L.) in querceti della Toscana (Lepidoptera: Tortricidae). – Atti XVII Congr. naz. it. Entomol., Udine, 13-18 giugno 1994: 743-746.
- Schütte, F. 1957: Untersuchungen über die Populationsdynamik des Eichenwicklers (*Tortrix viridana* L.). – Z. ang. Entomol. 40: 1-36 et 285-331.
- Schwerdtfeger, F. 1961: Das Eichenwickler-Problem. Auftreten, Schaden, Massenwechsel und Möglichkeiten der Bekämpfung von *Tortrix viridana* L. in Nordwestdeutschland. – Forsch. Berat. Landesaussch. landw. Forsch. Minist. Ernähr. Nordrh. Westf.(c) pt: 1-174.
- Serra, G., Luciano, P. & Gilioli, G. 1998: Indagini sulla distribuzione spaziale delle ovi-deposizioni di *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera Tortricidae) in querceti della Sardegna. – Redia 81: 161-174.
- Serra, G., Luciano, P. & Gilioli, G. 2001: Indagini sulla distribuzione spaziale delle ovi-deposizioni di *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera Tortricidae) in querceti della Sardegna. Secondo contributo. – Redia 84: 161-172.
- Serra, G., Luciano, P. & Gilioli, G. 2002: Indagini sulla distribuzione spaziale delle ovi-deposizioni di *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera Tortricidae) in querceti della Sardegna. Terzo contributo: Disegno di campionamento in formazioni forestali a *Quercus pubescens* Willd. – Redia 85: 213-227.
- Silvestri, F. 1923: Contribuzioni alla conoscenza dei Tortricidi della quercia (I.II). – Boll. Lab. Zool. gen. agr., Portici 17: 41-107.
- Tiberi, R. & Roversi, P.F. 1989: Osservazioni sull'impiego di trappole a feromone sessuale di *Tortrix viridana* L. in querceti della Toscana (Italia centrale) (Lepidoptera, Tortricidae). – Redia 72 (1): 277-290.

Efficacy of Foray 48B against *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera Tortricidae) in a Sardinian pubescent oak forest *

Giuseppe Serra¹, Andrea Lentini², Pietro Luciano²

¹ Istituto per lo Studio degli Ecosistemi (sez. Ecologia Applicata e Controllo Biologico), CNR, via E. De Nicola, 07100 Sassari, Italy; ² Dipartimento di Protezione delle Piante (sez. Entomologia agraria), Università di Sassari, via E. De Nicola, 07100 Sassari, Italy.

Abstract: The possibility of controlling green oak leaf-roller moth infestations with Foray 48B (*Bacillus thuringiensis* Berl. subsp. *kurstaki*) was assessed in spring 2004 in a Sardinian pubescent oak forest. At the time of treatment, the larval density was 0.70-0.88 larvae per shoot. The insecticide was aerially sprayed at ULV in a dose of 4 l/ha (equivalent to 42.4 BIU/ha). One week later, a population reduction of 82% was observed in the treated plots. Canopy defoliation was 14% in the treated plots compared with 30% in the untreated plots. The experiment demonstrated the efficacy of Foray 48B treatment, but large-scale application requires further tests to assess the efficacy of *B.t.k.* in limiting oak defoliation when larval densities are high.

Key words: green oak leaf-roller moth, microbiological control, *Bacillus thuringiensis kurstaki*.

Introduction

In the last three years, *Tortrix viridana* L. has caused extensive defoliation in almost all the deciduous oak forests in Sardinia, increasing oak decline in some areas. To assess the possibility of controlling green oak leaf-roller moth infestations by microbiological treatment, we conducted an experiment using Foray 48B, an insecticide based on *Bacillus thuringiensis* Berl. subsp. *kurstaki* (*B.t.k.*), which is widely used to control the main forest lepidopterous defoliators (Luciano *et al.*, 2003).

Materials and methods

The experiment was carried out in spring 2004 in a forest of *Quercus pubescens* Willd. situated at around 1000 m a.s.l. in central Sardinia (localities Badde Salighes and Ortachis, municipality of Bolotana, Nuoro). A helicopter was used to spray Foray 48B (Valent BioSciences Corporation) at ultra low volume (ULV) in a dose of 4 l/ha (equivalent to 42.4 BIU/ha). Three 50-ha plots were treated with the insecticide while another 3 adjacent plots of the same size were maintained as controls. The efficacy of the treatment was evaluated by estimating the larval density on 300 shoots per plot before the intervention and then 4, 8, 15 and 22 days after treatment. The shoot samples were collected by cutting the apical portion of a branch from 30 plants selected along 3 transects crossing each plot. In the laboratory, 10 shoots were randomly chosen on each branch and the number and instar of the larvae on each one were recorded. The efficacy of the Foray 48B treatment was also assessed at the end of larval development by estimation of the percentage defoliation on 10 trees from each transect using the guide for the evaluation of Mediterranean tree canopies (AA.VV., 1994).

* Work supported by PIC Interreg III A France-Italy "Islands" Sardinia, Corsica, Tuscany

* Work supported by PIC Interreg III A France-Italy "Islands" Sardinia, Corsica, Tuscany.

Results and discussion

The treatment was carried out on May 27 (temperature was 13°C, RH 95%, and wind 1.7 m/s), when the shoots were still in the phase of leaf distension and 82% of the *T. viridana* larvae were at the III-IV instars. The mean density recorded on the day of treatment was higher in the treated plots (0.88 larvae/shoot) than in the control ones (0.70 larvae/shoot) although the difference was not statistically significant (Tab. 1). The larval density in the control plots remained constant at 0.71 larvae/shoot in the next two surveys (Tab. 1). In the treated plots, Foray 48B caused high larval mortality: the density declined by 64 and 82% respectively 4 and 8 days after the intervention (Tab. 1). Natural factors of mortality (particularly pathogenic agents) had a significant effect 15 days after treatment, in both cases causing the decline of about 60% of the green oak leaf-roller moth population. At the last survey (18 June), there were 0.03 pupae/shoot in the treated plots compared with 0.18 pupae/shoot in the control plots, with overall reductions of the initial larval density of 96 and 74% respectively.

Table 1. Density and reduction of the *T. viridana* larval population in the Foray 48B-treated and untreated plots (Bolotana, 2004)

Sampling date	No. larvae, pupae per shoot (mean $\pm$ mse)		Population reduction (%)	
	Untreated	Treated	Untreated	Treated
27/5/04	0.70 $\pm$ 0.10 (a)*	0.88 $\pm$ 0.16 (a)		
31/5/04	0.71 $\pm$ 0.11 (a)	0.32 $\pm$ 0.07 (b)	0%	64%
4/6/04	0.71 $\pm$ 0.12 (a)	0.16 $\pm$ 0.04 (b)	0%	82%
11/6/04	0.29 $\pm$ 0.04 (a)	0.05 $\pm$ 0.01 (b)	58%	94%
18/6/04	0.18 $\pm$ 0.04 (a)	0.03 $\pm$ 0.01 (b)	74%	96%

* Values on the same line followed by different letters are significantly different ($P < 0.05$).

The green oak leaf-roller moth population was not particularly abundant in the forest area where the experiment was carried out. In fact, the reduction of leaf mass in the control plots was only 30%. However, the insecticide treatment limited the damage, halving the percentage of defoliation (14%). The experiment demonstrated good efficacy of microbiological treatment with Foray 48B against *Tortrix viridana*, even though the larvae of this species live and feed inside shelters they make by rolling up the leaf edge, which protect them from the insecticide. Nevertheless, large-scale application of microbiological control of the green oak leaf-roller moth requires further research to assess the efficacy of *B.t.k.* in limiting the defoliation of trees with high larval densities.

Acknowledgements

We thank Mrs Leonarda Fadda and Mr Michele Loi for their technical assistance.

References

- AA.VV., 1994: Alberi della regione mediterranea – Guida alla valutazione delle chiome. – CEC–UN/ECE, Brussels, Geneva: 158 pp.
- Luciano, P., Lentini, A. & Cao, O.V. 2003: La lotta ai defogliatori delle sugherete in Provincia di Sassari. – Industria grafica Poddighe s.r.l., Sassari: 72 pp.

Microbiological control of *Malacosoma neustria* (Linnaeus) (Lepidoptera: Lasiocampidae) infestations in Sardinia

Pietro Luciano, Andrea Lentini, Omar Vincente Cao

Università di Sassari, Dipartimento di Protezione delle Piante (sez. Entomologia agraria),
via E. De Nicola, 07100 Sassari, Italia.

Abstract: In central Sardinia, severe infestations of *Malacosoma neustria* (Linnaeus) are becoming increasingly frequent in cork oak forests degraded to woodland pasture. In the last three years, control of the defoliator was attempted in 15,600 hectares by means of ultra low volume aerial spraying of Foray 48B, an insecticide based on *Bacillus thuringiensis* Berliner subsp. *kurstaki*, at a concentration of 4 litres per hectare (equivalent to 42.4 BIU/ha). In the treated areas, the mortality rate of II-III larval instars was 88.8 to 98.4%, which ensured optimal protection of cork oak foliage even when the defoliator populations were extremely dense (more than 500 larvae on 40 branches).

Key words: common lackey moth, infestations, cork oak forests, *Bacillus thuringiensis kurstaki*.

Introduction

In central Sardinia, severe infestations of *Malacosoma neustria* (Linnaeus) have become increasingly frequent in cork oak forests degraded to woodland pasture, resulting in the total defoliation of large forested areas. A microbiological control program to limit the damage caused by this lepidopter and by *Lymantria dispar* (Linnaeus) (Lepidoptera: Lymantriidae) was begun in 2001, involving around 45,000 hectares of cork oak in the period 2001-04 (Luciano et al., 2003). Here we report the main results achieved in 15,600 hectares in which the population of the lasiocampid was in a culmination phase and its larvae represented almost all the phyllophagous insects on cork oaks.

Materials and methods

The size of the *M. neustria* population during winter was evaluated each year at 6 to 20 sites depending on the area to be treated. At each site, we counted the egg-masses present on 5 branch tips about 30 cm long, collected in the southern quadrant of each tree from the highest part of its crown. The number of trees was variable depending on the density of the species (Luciano et al., 2003). For each area, the population density of the larval stage was evaluated at 3 to 8 sites according to the extent of the area treated; we collected 4 branch tips from 10-20 trees and counted the number of larvae on them. The sampling was carried out 1 day before spraying and 7-10 days after treatment. In all cases, the number of egg-masses and larvae were expressed per 40 branches (Tab. 1). The insecticide treatments were performed when the population consisted of II-III larval instars (9-11 May 2002, 15-17 May 2003, and 24-29 May 2004); a concentration of 4 litres per hectare (equal to 42.4 BIU/ha) of Foray 48B (Valent BioSciences Corporation), a product based on *Bacillus thuringiensis* Berliner subsp. *kurstaki* (*Btk*), was sprayed at ultra low volume with a helicopter equipped with 4 micronairs.

During treatments, temperatures varied between 13 and 21°C, relative humidity between 50 and 98% and winds were < 15 Km/h.

Results and discussion

The treatments resulted in very high larval mortality in all the areas (indicated in table 1 by the name of the town and the initials of the Province containing most of the treated area): 7-10 days after treatment, the mean mortality was between 88.8 and 98.4% (Tab. 1). In 2002, in two small isolated wooded areas maintained as controls near the treated areas, the natural mortality of *M. neustria* larvae in the same period was 7.5 and 12.1% respectively, confirming the effectiveness of the treatment.

The species was particularly sensitive to the insecticide in all the treated areas, as there was a drastic population decline as early as 2-3 days after treatment. This sensitivity was also observed in the laboratory, where we recorded 96, 100 and 88% mortality after 72 hours in samples of III, IV and V larval instars fed with treated foliage (Luciano et al., 2003).

Table 1. Common lackey moth egg-mass and larval densities in Sardinian *B.t.k.* treated areas.

Year	Treated area	Hectares (No.)	Egg-masses on 40 branches (No. $\pm$ SD)	Larvae on 40 branches (No. $\pm$ SD)		Mortality (%)
				1 day before treatment	7-10 days after treatment	
2002	Bono (SS)	3,200	17.7 $\pm$ 3.9	483.6 $\pm$ 274.4	7.7 $\pm$ 5.9	98.4
	Orotelli (NU)	1,700	5.6 $\pm$ 3.8	504.8 $\pm$ 357.1	8.8 $\pm$ 7.3	98.2
2003	Mamoiada (NU)	2,700	6.3 $\pm$ 3.2	121.3 $\pm$ 123.4	13.6 $\pm$ 10.1	88.8
2004	Orune (NU)	8,000	5.1 $\pm$ 3.6	447.5 $\pm$ 343.6	8.5 $\pm$ 13.2	98.1

The mortality of *M. neustria* was generally higher than that of the *L. dispar* populations in areas with mixed populations of the two lepidopters and in other treated forest areas with the lymantriid larvae at the II-III instars. In fact, the larval mortality of *L. dispar* was about 10% less than the mean mortality of *M. neustria* larvae, varying between 67.4 and 99.3% with a mean of 84.2% (data partly published in Luciano et al., 2003).

Conclusion

Microbiological control of *M. neustria* has been particularly effective in Sardinia, resulting in adequate protection of the spring budding of cork oaks and thus indirect protection of cork production. The mortality recorded in this species was higher than in larvae of *L. dispar*. This could be due to higher sensitivity of *M. neustria* to Foray 48B.

References

Luciano, P., Lentini, A., Cao, O.V. 2003: La lotta ai defogliatori delle sugherete in Provincia di Sassari. – Industria grafica Poddighe s.r.l., Sassari: 72 pp.

Analyse de la régénération naturelle des chênes dans les subéraies de Sardaigne

Pino Angelo Ruiu, Clizia Sechi, Agostino Pintus

Stazione Sperimentale del Sughero, Via Limbara 9, 07029 Tempio Pausania (SS), Italia

Résumé: La régénération naturelle de trois espèces de chênes a été étudiée dans les principales régions subéricoles de la Sardaigne. Les relevés ont été effectués dans chacun des 43 sites, le long de 4 transects de 20 m de long et 40 cm de large, disposés selon les quatre points cardinaux. Pour chaque plantule de *Quercus suber* L., *Q. pubescens* Wild. et *Q. ilex* L., on a noté l'espèce, le diamètre au collet, la hauteur et la position le long d'un mètre a ruban. Les caractéristiques de la régénération naturelle (nombre de plantules/ha, diamètre et hauteur) ont été comparées en fonction de la composition de la strate arborescente. Les plantules de chêne-liège sont en général moins abondantes que celles de chêne pubescent et de chêne vert, espèces qui montrent une remarquable capacité à se disperser dans des sites où ils ne font pas partie de la strate arborescente. La régénération du chêne-liège a été analysée en fonction de l'état phytosanitaire des subéraies et de leurs principaux caractères forestiers et sylvicoles. L'absence de strate arbustive, le pâturage comme le mauvais état sanitaire du peuplement, ont un impact négatif sur les caractéristiques quantitatives et qualitatives des plantules.

Mots clés: Régénération naturelle, *Quercus suber*, *Q. pubescens*, *Q. ilex*, Sardaigne

Introduction

La régénération naturelle au sein des peuplements forestiers constitue un élément essentiel de leur maintien et de leur développement futur. Dans ce contexte, l'analyse des facteurs qui limitent les potentialités d'autorégénération des forêts a une importance fondamentale.

Les principaux peuplements forestiers de Sardaigne, et en particulier les subéraies, ont fait l'objet d'une série de recherches visant à connaître les caractéristiques de la régénération naturelle en fonction de différents modèles de gestion, notamment en présence de pâturage (Pampiro et al., 1991; 1994; Ruiu et al., 1996, Dettori et al., 2001). On a noté en particulier l'effet négatif du pâturage et du débroussaillage sur l'abondance des plantules de chêne-liège, ainsi que sur leur diamètre et leur hauteur qui sont toujours inférieurs à ceux du chêne pubescent.

La régénération des subéraies de l'Espagne a été analysé par Montero et al.(1994), et ils ont relevé que généralement le nombre de plantules est suffisant pour assurer la régénération naturelle; mais que ces plants ont aussi des difficultés à s'affirmer lorsqu'ils deviennent adultes.

Après la création du réseau de surveillance des subéraies déperissantes (Sechi et al., 2005; Ruiu et al., 2005a), des recherches ont été effectuées en parallèle afin de relever des principales caractéristiques qualitatives et quantitatives de la régénération naturelle dans ces différents types de forêts.

Compte tenu du rôle économique et environnemental des subéraies, ces recherches sont d'un grand intérêt pour évaluer l'importance de la régénération naturelle dans les différentes régions subéricoles de Sardaigne et pour déceler les facteurs qui, en limitant les potentialités de régénération, s'opposent au développement durable d'une bonne partie de notre patrimoine forestier.

Matériel et méthodes

Les recherches ont été menées dans les 43 sites d'étude répartis dans les principales régions subéricoles de Sardaigne, qui font partie du réseau de surveillance des subéraies déperissantes (Sechi et al., 2005; Ruii et al., 2005a, 2005b).

Dans les aires d'étude circulaires, de 1 256 m² de surface, les relevés concernant la régénération naturelle ont été effectués le long de 4 transects de 20 m de long sur 40 cm de large, disposés selon les quatre points cardinaux.

Les analyses ont pris en considération les plantules de *Quercus suber* L., *Q. pubescens* Willd. et *Q. ilex* L. Pour chaque plantule on a noté l'espèce, le diamètre au collet, la hauteur, et la position le long d'un mètre ruban. Les paramètres de la régénération naturelle des trois espèces (nombre de plantules/ha, diamètre et hauteur) ont été comparés en fonction à la composition de la strate arborescente et des différents types de subéraie observés. L'importance de la régénération du chêne-liège, enfin, a été analysée en fonction de l'état phytosanitaire des subéraies et de leurs principaux modes de gestion.

Les comparaisons de données ont été effectuées par des analyses de variance (ANOVA) suivie par des comparaisons de moyennes multiples par le test LSD de Fisher. La comparaison des données relatives au type de peuplement a été effectuée par le t-test. Les calculs ont été réalisés à l'aide du programme Statgraphics Plus 3.1.

Résultats et discussion

Analyse de la régénération des trois espèces de chênes

On a compté au préalable le nombre de sites dans lesquels chaque espèce de chêne était présente au niveau de la strate arborescente : le chêne-liège a été trouvé dans les 43 sites alors que le chêne pubescent et le chêne vert n'ont été vus respectivement que dans 16 et 19 d'entre eux (Tab. 1). En examinant la composition de la strate de régénération, on a constaté que les plantules de chêne-liège étaient présentes dans les 43 sites, et celles de chêne pubescent et de chêne vert respectivement dans 25 et 26 sites. Par conséquent, la germination de ces deux dernières espèces a lieu dans un plus grand nombre de sites que ceux où elles sont représentées dans la strate arborescente, ce qui montre leur remarquable capacité de dispersion.

Tableau 1. Présence dans les sites d'étude des 3 espèces de chênes-lièges, au niveau des strates arborescente et de régénération, et caractéristiques moyennes des plantules

Espèce	Nombre de sites		Caractéristiques des plantules		
	Strate arborescente	Strate de régénération	Nb plantules/ha	Diamètre (cm)	Hauteur (cm)
Chêne-liège	43	43	10.574	0,26	19,9
Chêne pubescent	16	25	7.738	0,43	32,9
Chêne vert	19	26	2.668	0,60	35,0

L'analyse des caractéristiques des plantules montre que le chêne-liège est l'espèce la plus abondante, le nombre de plantules/ha semblant suffisant pour assurer la régénération (Montero et al, 1992). On constate toutefois que la hauteur et le diamètre moyens des

plantules sont plus faibles que ceux du chêne pubescent et du chêne vert, qui les dépassent largement (Tab. 1).

En examinant en détail la composition de la strate arborescente des subéraies, on remarque quatre typologies principales: subéraies pures (15 sites), subéraies mixtes avec chêne pubescent (9 sites), subéraies mixtes avec chêne vert (12 sites) et subéraies mixtes avec chêne vert et chêne pubescent (7 sites). On a analysé la composition en plantules de chênes de la strate de régénération pour chacun de ces types de subéraies (Tab. 2).

Tableau 2. Fréquence des trois espèces de chêne dans la strate de régénération selon le type de subéraie

Type de subéraie	Nb de sites	Présence de plantules (% de sites)		
		Chêne-liège	Chêne pubescent	Chêne vert
Pure	15	100	46,6	33,3
Mixte avec chêne pubescent	9	100	100	44,4
Mixte avec chêne vert	12	100	16,6	83,3
Mixte avec chênes vert et pubescent	7	100	100	100

Le chêne-liège, logiquement présent dans la strate arborescente de toutes les subéraies, régénère naturellement dans tous les sites, tandis que le chêne pubescent et le chêne vert, qui régénèrent dans les subéraies mixtes où ils font partie de la strate arborée, se rencontrent aussi à l'état de plantules dans une partie des subéraies pures. Les plantules de chêne pubescent sont aussi présentes dans les subéraies où chêne vert et chêne-liège poussent en mélange, de même, le chêne vert régénère dans une partie des subéraies mixtes à chêne pubescent. Ces deux espèces de chêne montrent ainsi leur remarquable capacité de dispersion.

Dans une subéraie donnée, l'abondance relative du chêne-liège est toujours plus forte dans la strate arborescente que dans la strate de régénération; cette espèce devient même minoritaire dans la strate de régénération des subéraies où elle est associée au chêne pubescent (Tab. 3).

Tableau 3. Abondance relative (%) de *Q. suber* (QS), *Q. pubescens* (QP) et *Q. ilex* (QI) dans la strate arborescente et la strate de régénération des différents types de subéraie

Type de subéraie	Strate arborescente(%)			Strate de régénération (%)		
	QS	QP	QI	QS	QP	QI
Pure	100	0	0	79,7 ± 5,9a*	12,9 ± 4,9b	7,4 ± 4,4b
Mixte à chêne pubescent	60	40	0	45,3 ± 7,7a	53,4 ± 7,2a	1,3 ± 1,1b
Mixte à chêne vert	90	0	10	81,2 ± 7,2a	1,2 ± 3,7b	17,7 ± 5,8c
Mixte à c. vert et pubescent	60	33	7	30,5 ± 8,9a	59,3 ± 7,6b	10,3 ± 2,5c

* Pour une même ligne, les données suivies par la même lettre, ne diffèrent pas significativement pour $p=0,05$

Les pieds de chêne pubescent et de chêne vert, par contre, ont toujours une abondance relative bien supérieure dans la strate de régénération que dans la strate arborescente d'une subéraie donnée.

La plus forte densité moyenne de plantules/ha a été enregistrée dans les subéraies mixtes à chêne pubescent (Tab. 4) ; le chêne-liège semble, d'un point de vue numérique, trouver les meilleures conditions de développement dans les subéraies mixtes à chêne vert, alors que sa densité est beaucoup plus faible dans les subéraies où il est associé aux deux espèces de chênes. Les plantules de chêne pubescent ou de chêne vert par contre présentent les densités les plus élevées dans les subéraies où leur espèce n'est associée qu'avec le chêne-liège. Toutefois les différences de densité ne sont généralement pas significatives.

Tableau 4. Densité moyenne ($\pm$ es) des plantules de *Q. suber* (QS), *Q. pubescens* (QP) et *Q. ilex* (QI) selon le type de subéraie

Type de subéraie	Densité des plantules/ha			
	QS	QP	QI	Total
Pure	9000 $\pm$ 3546a*	1458 $\pm$ 843a	833 $\pm$ 620a	11292 $\pm$ 3892a
Mixte à chêne pubescent	9792 $\pm$ 4548a	11528 $\pm$ 4181b	278 $\pm$ 122a	21597 $\pm$ 7683a
Mixte à chêne vert	16484 $\pm$ 6119a	234 $\pm$ 168a	3594 $\pm$ 1608a	20313 $\pm$ 6339a
Mixte à chênes vert et pubescent	4777 $\pm$ 2279a	9286 $\pm$ 3154b	1607 $\pm$ 588a	15670 $\pm$ 4291a

* Dans la même colonne, les données suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement pour $p=0,05$

Les plantules de chêne-liège ont en moyenne un diamètre et une hauteur inférieurs à ceux des deux autres espèces de chênes (Tab. 5 et 6); elles semblent trouver les meilleures conditions de développement dans les subéraies pures et mixtes à chêne vert et à chêne pubescent, ce qui est peut-être lié à la plus faible densité de la régénération totale.

Les plantules de chêne vert ont toujours des valeurs de ces paramètres les plus élevées, sauf dans les subéraies pures, où les plantules de chêne pubescent ont un diamètre et une hauteur nettement supérieurs.

Tableau 5. Diamètre moyen ($\pm$ es) des plantules des trois espèces de chêne selon le type de subéraie

Type de subéraie	Diamètre (cm)		
	<i>Q. suber</i>	<i>Q. pubescens</i>	<i>Q. ilex</i>
Pure	0,31 $\pm$ 0,01a*	1,05 $\pm$ 0,09a	0,52 $\pm$ 0,04a
Mixte à chêne pubescent	0,24 $\pm$ 0,01b	0,31 $\pm$ 0,02b	1,12 $\pm$ 0,40b
Mixte à chêne vert	0,23 $\pm$ 0,02b	0,24 $\pm$ 0,06b	0,49 $\pm$ 0,04a
Mixte à chênes vert et pubescent	0,35 $\pm$ 0,03a	0,38 $\pm$ 0,03b	1,03 $\pm$ 0,17b

* Dans la même colonne, les données suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement pour $p=0,05$

Tableau 6. Hauteur moyenne ($\pm$ es) des plantules des trois espèces de chêne selon le type de subéraie

Type de subéraie	Hauteur (cm)		
	<i>Q. suber</i>	<i>Q. pubescens</i>	<i>Q. ilex</i>
Pure	22,2 $\pm$ 0,98a*c	73,1 $\pm$ 5,62a	21,0 $\pm$ 2,70a
Mixte à chêne pubescent	20,4 $\pm$ 0,89a	22,4 $\pm$ 1,16b	38,6 $\pm$ 6,06abc
Mixte à chêne vert	17,3 $\pm$ 0,87b	13,8 $\pm$ 2,66b	35,2 $\pm$ 2,48b
Mixte à chênes vert et pubescent	25,0 $\pm$ 1,97c	36,9 $\pm$ 2,18c	49,4 $\pm$ 8,46c

* Dans la même colonne, les données suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement pour $p=0,05$

Analyse de la régénération naturelle du chêne-liège

La régénération naturelle du chêne-liège a fait l'objet d'une analyse particulière, afin de vérifier si ses caractéristiques qualitatives et quantitatives étaient influencées par les modèles de gestion adoptés. Pour ce faire, on a pris en considération plusieurs paramètres descriptifs des peuplements: arbres de même âge/d'âge différent, présence/absence de la strate arbustive et du pâturage (Tab. 7).

Tableau 7. Caractéristiques moyennes ($\pm$ es) des plantules de *Q. suber* selon les type de peuplement

Type de peuplement	Nb	Nb plantules/ha	Diamètre (cm)	Hauteur (cm)
équiennes	28	7.098 $\pm$ 2.090a*	0,33 $\pm$ 0,02a	22,4 $\pm$ 0,93a
arbres de différents âges	15	17.042 $\pm$ 5.019b	0,21 $\pm$ 0,01 b	18,0 $\pm$ 0,60b
débroussaillés	9	9.132 $\pm$ 3178a	0,22 $\pm$ 0,01a	14,1 $\pm$ 0,69a
embroussaillés	34	10.947 $\pm$ 123a	0,27 $\pm$ 0,01b	21,2 $\pm$ 0,63b
pâturés	31	8.969 $\pm$ 2.465a	0,23 $\pm$ 0,01a	17,5 $\pm$ 0,60a
non pâturés	14	14.255 $\pm$ 4.528b	0,31 $\pm$ 0,01b	23,4 $\pm$ 0,95b

* Dans la même colonne, pour un paramètre donné, les données suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement pour $p=0,05$

La densité des plantules de chêne-liège est significativement plus élevée dans les peuplements d'arbres de différents âges et non pâturés; le diamètre et la hauteur des plantules sont significativement supérieurs dans les peuplements équiennes, embroussaillés ou non pâturés.

La combinaison de la présence/absence du pâturage et du sous-bois permet de distinguer trois modèles de gestion différents, pour lesquels on a calculé les caractéristiques qualitatives et quantitatives moyennes de la régénération naturelle (Tab. 8).

Dans les subéraies non pâturées et pourvues d'une strate arbustive, les valeurs moyennes de la hauteur et du diamètre des plantules sont significativement supérieures à celles des deux

autres types de peuplements. La densité des plantules dans la strate de régénération est minimale dans les subéraies embroussaillées et pâturées, mais les différences ne sont pas significatives.

Tableau 8. Caractéristiques moyennes des plantules de *Quercus suber* selon les modèles de gestion de la subéraie

Modèles de gestion	Nb	Nb plantules/ha	Diamètre (cm)	Hauteur (cm)
Débroussaillée et pâturée	9	9.132 ± 3.178a*	0,22 ± 0,01a	14,1 ± 0,7a
Embroussaillée et pâturée	21	8.899 ± 3.639a	0,24 ± 0,01a	19,0 ± 0,8b
Embroussaillée et non pâturée	13	14.255 ± 4.699a	0,31 ± 0,01b	23,4 ± 1,0c

* Dans la même colonne, pour un paramètre donné, les données suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement pour p=0,05

Les sites étudiés faisant partie du réseau de surveillance du dépérissement des subéraies en Sardaigne (Sechi et al., 2005; Ruiu et al., 2005a), on a recherché une éventuelle relation entre l'état phytosanitaire de la strate arborescente et les caractéristiques qualitatives et quantitatives de la régénération. Les aires ont été divisées en trois groupes, selon un indice de dépérissement croissant, en enregistrant pour chaque groupe les caractéristiques de la régénération du chêne-liège. (Tab. 9).

La densité/ha, la hauteur et le diamètre moyens des plantules décroissent lorsque l'indice de dépérissement des subéraies augmente. Ces résultats diffèrent significativement entre les trois groupes pour la hauteur des plantules et entre les deux groupes extrêmes pour le diamètre.

Tableau 9. Caractéristiques moyennes des plantules de chêne-liège selon l'indice de dépérissement des subéraies

Indice de dépérissement	Nb de subéraies	Nb plantules/ha	Diamètre (cm)	Hauteur (cm)
0 - 1	9	13194 ± 4885a*	0,30 ± 0,02a	23,4 ± 1,1a
1,1 – 1,5	24	11237 ± 3643a	0,26 ± 0,01ab	19,9 ± 0,7b
> 1,5	10	6594 ± 2814a	0,22 ± 0,01b	14, 0 ± 0,8c

* Dans la même colonne, pour un paramètre donné, les données suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement pour p=0,05

Conclusions

L'analyse globale des données révèle que le chêne-liège se régénère naturellement dans toutes les subéraies étudiées tandis que le chêne pubescent et le chêne vert peuvent être présents à l'état de plantules dans des subéraies où ils ne font pas partie de la strate arborescente, ce qui montre la remarquable capacité de dispersion de ces deux essences. Le nombre de plantules de

chêne-liège est, en moyenne, supérieur à celui des autres espèces de chênes mais leur diamètre et leur hauteur moyens sont inférieurs à ceux du chêne pubescent et du chêne vert.

On constate dans l'ensemble, que le chêne pubescent et le chêne vert ont tendance à se répandre de façon plus ou moins forte dans tous les sites où pousse le chêne-liège, ce qui, à moyen ou à long terme, laisse craindre l'extension des peuplements mixtes si l'homme n'intervient pas pour limiter le développement des deux essences compétitrices du chêne-liège.

Le nombre des plantules de chêne-liège paraît, dans toutes les situations, numériquement suffisant pour assurer la régénération naturelle mais les paramètres forestiers (hauteur et diamètre) révèlent leur réelle difficulté de développement, ce que confirment les travaux montrant que la régénération naturelle du chêne-liège demeure insuffisante (Montero et al., 1992). Le chêne-liège semble en effet subir négativement les effets de la compétition avec les autres espèces de chênes (Dettori et al., 2001; Barneschi, 1975).

La régénération naturelle du chêne-liège est aussi fortement limitée par le pâturage et le débroussaillage, surtout dans les subéraies où les interventions humaines ne sont pas gérées et contrôlées rationnellement (Dettori et al., 2001; Ruiiu et al., 1996, Sanchez et al., 1994). Dans les subéraies qui présentent des phénomènes de dépérissement, amorcés par des conditions stationnelles défavorables et souvent aggravés par les modes de gestion appliqués à mauvais escient (Sechi et al., 2005; Ruiiu et al., 2005a), la régénération naturelle présente des problèmes évidents.

Références

- Barneschi, L. 1975: I problemi della sughericoltura sarda. – Atti "I° Convegno Nazionale sughero", Tempio 14/16 Ottobre 1971.
- Dettori, S., Filigheddu, M.R., Gutierrez, M., 2001: La coltivazione della quercia da sughero. – Tipografia TAS.
- Montero, G., Torres, E., Canellas, I., & Ortega, C. 1994: Regeneración de alcornocales. Síntesis bibliográfica. – In: «Simposio mediterráneo sobre regeneración del monte alcornocal», Merida (España): 101-112
- Pampiro, F., Pintus, A. & Ruiiu, P.A. 1991: Rapporto bosco pascolo in alcune tipologie forestali della Sardegna: effetti. – Collana Biologica n. 2. Stazione Sperimentale del Sughero, Tempio Pausania.
- Ruiiu, P.A., Pampiro, F. & Pintus, A. 1996: Analisi dell'influenza del pascolo sulla vegetazione erbacea ed arbustiva bassa in alcune sugherete della Sardegna. – Collana Biologica n. 8. Stazione Sperimentale del Sughero, Tempio Pausania.
- Ruiiu, P.A., Pampiro, F. & Pintus, A. 1996: Analisi della rinnovazione in diverse tipologie di sughereta del Nord-Sardegna. – Collana Biologica n. 4. Stazione Sperimentale del Sughero, Tempio Pausania.
- Ruiiu, P.A., Sechi, C., Linaldeddu, B.T. & Franceschini, A. 2005a: Création d'un réseau de surveillance du dépérissement des subéraies en Sardaigne et analyse des premiers résultats. – IOBC/wprs Bull. 28(6): 45-51.
- Ruiiu, P.A., Sechi, C., Linaldeddu, B.T. & Franceschini, A. 2005b: Variabilité de l'incidence du dépérissement des espèces de chênes présentes dans les subéraies de la Sardaigne. – IOBC/wprs Bull. 28(6): 53-58.
- Sanchez Garcia, G.M. 1994. Los alcornocales andaluces: tipificación y situación regenerativa actual. – In: «Simposio mediterráneo sobre regeneración del monte alcornocal», Merida (España): 79-86

Sechi, C., Ruiiu, P.A. & Franceschini, A. & Corda, P. 2005: A monitoring network of cork oak decline in Sardinia to establish control strategies. – International IUFRO Conference “Monitoring and indicators of forest biodiversity In Europe”. Firenze 12/15 Novembre 2003 (sous presse).

Analysis of the natural regeneration in Sardinian cork oak stands

Abstract: The natural regeneration of three oak species was studied in the main cork areas of Sardinia. The surveys were carried out in each of the 43 trial areas, along 4 transect areas (20 m long and 40 cm wide), oriented towards the four cardinal directions. The species, collar diameter, height and position along a tape measure of each seedling of *Quercus suber* L., *Q. pubescens* Willd. and *Q. ilex* L., were recorded. The characteristics of the oak natural regeneration (seedling number/ha, diameter and height) were analysed at global level, in relation to the composition of the tree stratum. Seedling density of cork oak appeared generally lower than that of holm or pubescent oaks, which have greater height and diameter average values than cork-oak. Holm and pubescent oaks showed a remarkable capacity to grow in stands where they were lacking in the tree stratum. Cork oak regeneration was also studied in relation to the main forest management and stand health conditions. Undergrowth absence, grazing and increasing decline incidence have a negative influence on the quantitative and qualitative features of the cork oak seedlings.

Key words: natural regeneration, *Quercus suber*, *Q. pubescens*, *Q. ilex*, Sardinia

Variabilité adaptative du chêne-liège en Tunisie

Mohamed Larbi Khouja¹, Abdelhamid Khaldi¹, Hédi Sellemi²

¹ INRGREF BP n°2, 2080 Ariana, Tunisie, Khouja.medlarbi@iresa.agrinet.tn

² Service des Forêts de Nefza-CRDA, Béja, Tunisie

Résumé : Les problèmes liés aux conditions du milieu, à la sénescence et au manque de régénération ont entraîné un appauvrissement du patrimoine génétique de la subéraie tunisienne, qui risque de mettre en danger la survie des peuplements et réduit leurs potentialités d'adaptation aux changements imprévisibles du milieu. Pour disposer du matériel nécessaire à la mise en route d'un plan de conservation et d'amélioration génétique du chêne-liège, des plantations comparatives de différentes provenances ont été réalisées afin de connaître la variabilité géographique de cette essence et opérer une première sélection de provenances. L'essai installé à Tebaba (Nord ouest de la Tunisie) en 1997 comprend 26 populations de chêne-liège issues de l'aire de répartition naturelle de l'espèce. Le dispositif expérimental adopté est un dispositif en blocs aléatoires complets. On a dénombré le nombre de plants survivants et mesuré la hauteur totale des plants âgés de 7 ans. Les analyses montrent que les provenances diffèrent très significativement en fonction de leur croissance en hauteur et qu'elles manifestent une bonne adaptation aux conditions du milieu (taux de survie supérieur à 72 %). La meilleure provenance permet d'avoir des plants de 7 ans dont la hauteur dépasse de 70 % celle de la provenance la moins vigoureuse.

Mots clés : variabilité génétique, provenance, *Quercus suber*

Introduction

Le chêne-liège (*Quercus suber* L.) est une composante essentielle de la forêt tunisienne. En Tunisie comme dans l'ensemble de l'Afrique du Nord, cette essence est soumise à des conditions écologiques particulièrement sévères (pluies irrégulières, sécheresse forte et prolongée) auxquelles s'ajoute la pression exercée sur la forêt par une forte présence humaine et une charge animale excessive. Les peuplements de chêne-liège sont de ce fait très hétérogènes du point de vue densité, vigueur, forme architecturale et rendement. Ces conditions ont conduit à une réduction significative des superficies couvertes par le chêne-liège en divers points de son aire de répartition. La surface de la subéraie tunisienne est passée ainsi de 127 000 ha en 1950 (Boudy, 1951) à 60 000 ha en 1995 (DGF, 1995), soit une réduction d'environ 45% en 50 ans. Cette régression a entraîné un appauvrissement génétique très alarmant et la perte d'un nombre important d'écotypes présents à la limite de l'aire géographique de l'espèce.

Pour faire face au problème, le reboisement s'est imposé comme une alternative incontournable à la régénération naturelle. Il nécessite le choix d'un matériel végétal ayant les meilleures potentialités génétiques. En Tunisie, des plantations de chêne-liège sont réalisées essentiellement pour reconstituer les chênaies dégradées ou colonisées par des résineux comme pour rajeunir les vieux peuplements (DGF, 1995). Le choix des meilleures sources de semences est un gage de réussite des efforts consentis. Dans tous les cas, les objectifs de sélection sont les mêmes puisqu'ils doivent aboutir à des reboisements bien adaptés (résistants à la sécheresse et aux différents ravageurs) et plus rentables économiquement (meilleure production de liège en quantité et en qualité).

La mise en place de plantations comparatives de différentes provenances est l'une des approches suivies par les forestiers pour connaître la variabilité géographique du chêne-liège et déterminer la meilleure source de semences pour le reboisement. Cette phase est obligatoire pour disposer du matériel de base nécessaire à la mise en route d'un programme d'amélioration génétique (Baradat, 1986).

C'est dans ce contexte que s'intègrent les essais de provenances et de descendance réalisés dans le cadre du réseau Euforgen (Turok et al, 1997). Ils devraient permettre d'estimer l'amplitude de la variabilité géographique du chêne-liège et ses caractéristiques génétiques, éléments nécessaires pour définir la stratégie de conservation et d'amélioration à adopter dans les conditions pédoclimatiques tunisiennes.

Dans le présent travail, nous présentons les résultats de l'essai de provenances installé dans le site expérimental de Tebaba.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Dans le cadre d'une action concertée, lancée à partir de 1996 et appuyée financièrement par l'Union Européenne, une collection de provenances (34 provenances au total subdivisées en plusieurs descendance) a été constituée à partir d'un échantillonnage réalisé sur l'ensemble de l'aire de répartition naturelle de l'espèce. Le matériel récolté (glands) a été élevé en pépinière au Portugal puis distribué aux différents pays participants. La liste et la description écologique des stations d'origine des 26 provenances utilisées en Tunisie sont données dans le tableau 1.

Site expérimental

La parcelle d'essai a été mise en place en 1997 dans le site de Tebaba (nord-ouest de la Tunisie). Le tableau 2 donne une description des caractéristiques écologiques de ce site.

La parcelle repose sur le versant sud du Jbel sur un terrain accidenté présentant une pente supérieure à 12 %. Le terrain a subi une préparation mécanique (ripage et labour) suivi d'un billonnage équidistant de 3 m entre les lignes de plantation.

Dispositif expérimental et méthodes d'analyse

L'essai a été réalisé selon un dispositif statistique en blocs aléatoires complets avec 3 plants par parcelle unitaire. Les 26 provenances sont répétées 30 fois dans des blocs constitués de 78 plants disposés sur 3 lignes, à raison de 26 plants par ligne. Les provenances représentées par 3 plants chacune sont réparties d'une manière aléatoire à l'intérieur du bloc.

La hauteur totale des plants a été mesurée en septembre 2004, soit 7 ans après la plantation. Les données ont été soumises à une analyse de variance et comparées par la méthode de Newman et Keuls (Dagnelie, 1975), conformément au modèle linéaire suivant :

$$y_{ijk} = \mu + p^i + b_j + pb_{ij} + e_{ijk}$$

avec

y_{ijk} = hauteur totale de chaque plant (en cm)

μ = moyenne générale

p_i = effet provenance

b_j = effet bloc

pb_{ij} = interaction provenance-bloc

e_{ijk} = erreur

Tableau 1 : Liste des provenances de *Quercus suber* installées en Tunisie et description écologique de leurs stations d'origine

N°	Pays	Provenance	Latitude	Longitude	Altitude	Précip.	Temp.	Substrat
1	Alg.	Guerbes	-	-	-	-	-	-
2	P+ E	Basteros+	7°13';	39°12';	450-515	642	15,5	Silicieux
3	Tun.	B. fernana	8°32'	36°35'	270	1044	17,9	Silicieux
4	Tun.	Mekna	8°51'	36°57'	12	1044	17,9	Silicieux
5	Italie	Lazio	11°57'	42°25'	160	-	-	Eruptive
6	Italie	Brindizi	17°40'	40°34'	45	-	-	Calcaire
7	Italie	Catania	14°30'	37°07'	250	-	-	Terra rosa
8	Italie	Cagliari	8°51'	40°27'	200	-	-	Granite
9	Italie	Sassari	8°34'	39°05'	300	-	-	Eruptive
10	Mar.	Boussafi	6°03'	35°11'	150	-	-	Argileux
11	Mar.	Aïn Rami	5°16'	35°07'	300	-	-	Silicieux
12	Mar.	Aïn Johra	6°20'	34°07'	150	-	-	Argileux
13	Mar.	Oulmes	4°06'	33°46'	1115	-	-	Schisteux
14	Mar.	Bab Azhar	4°15'	34°12'	1130	-	-	Schisteux
15	Esp.	Villuercas	5°21'	39°22'	600-800	963	11,9	Silicieux
16	Esp.	Funcaliente	4°16'	38°24'	700-900	719	14,3	Silicieux
17	Esp.	Jerez de Los Cabaleros	6°42'	38°13'	400-500	666	16	Silicieux
18	Esp.	La Almoraima	5°22'	36°16'	20-120	993	16,6	Silicieux
19	Esp.	Sa coloma de Farnès	2°32'	41°51'	200-500	802	15	Silicieux
20	Esp.	El Pardo	3°45'	40°31'	680-740	455	13,9	Silicieux
21	Esp.	Haza de Lino	3°18'	36°50'	1300	742	13	Schisteux
22	Port.	Chamusca	8°26'	39°12'	75	-	-	Schisteux
23	Port.	Ponte de Sor	8°10'	39°03'	70	710	-	Silicieux
24	Port.	San Bras Alportel	7°56'	37°02'	440-485	874	15,9	Silicieux
25	Port.	Azaruja	7°48'	38°45'	360	564	15,6	Silicieux
26	Port.	Santiago de Cacem	8°42'	38°01'	140	736	15,6	Silicieux

Tableau 2 : Caractéristiques du site expérimental de Tebaba (Nord ouest de la Tunisie)

Caractéristiques	Site expérimental
Latitude	8°52' E
Longitude	36°58' N
Altitude	250 m
Bioclimat	Humide
Précipitations (moyenne annuelle)	1044 mm
Température (moyenne annuelle)	17,9
Température (Maximum)	30,3 °C
Température (minimum)	7,2 °C
Coefficient d'Emberger	142
Texture du sol	Argilo-sableuse
Pente	12 – 15%

Résultats

Survie des plants

Le tableau 3 présente les taux de survie des provenances à l'âge de 7 ans. La survie est bonne dans l'ensemble puisqu'elle est comprise entre 72,2 et 94,4 % avec une moyenne de 83,5 %. Le taux le plus faible est enregistré pour la provenance de Boussafi au Maroc et le plus élevé pour celle de Santiago de Cacem au Portugal.

Hauteur totale des plants

Le tableau 4 résume les principaux résultats de l'analyse de variance portant sur la hauteur des plants âgés de 7 ans. Il met en évidence un effet provenance très hautement significatif.

Tableau 3 : Taux de survie des provenances de chêne liège à 7 ans dans le site expérimental de Tebaba (Nord ouest de la Tunisie)

Provenance	Pays	Survie %	Provenance	Pays	Survie %
Santiago de Cacem	Portugal	94,4	Chamusca	Portugal	83,3
Oulmes	Maroc	88,8	Fuencaliente	Espagne	77,7
Cataluna	Espagne	77,7	San Bras de Alportel	Portugal	77,7
Ain Johra	Maroc	77,7	Haza de Lino	Espagne	88,8
Ain Rami	Maroc	94,4	Guerbes	Algérie	83,3
Boussafi	Maroc	72,2	Sassari	Italie	83,3
La Almoraima	Espagne	83,3	Azaruja	Portugal	88,8
Montes de Toledo	Espagne	88,8	El Pardo	Espagne	88,8
Bab Azhar	Maroc	77,7	Fernana	Tunisie	77,7
Ponte de Sor	Portugal	88,8	Catania	Italie	77,7
Bast+Alburq	Portugal +Esp.	88,8	Lazio	Italie	83,3
Sirra Morena	Espagne	83,3	Puglia	Italie	72,2
Mekna	Tunisie	88,8	Sardaigna - Cagliari	Italie	83,3
Moyenne : 83,5 %					

Tableau 4 : Analyse de variance de la hauteur totale des plants de chêne-liège âgés de 7 ans dans le expérimental de Tebaba

Source de la variation	Degrés de liberté	Carré moyen	F ; signification
Provenance	25	5116,66	4,99 ; p > 0,0001
Bloc	29	10349,59	10,09 ; p > 0,0001
Prov. x Bloc	725	959,92	0,94 ; Non significatif

Le tableau 5 présente les résultats de la comparaison à l'aide du test de Newman et Keuls des hauteurs moyennes totales des plants en fonction des provenances. Les provenances reliées par les mêmes lettres ne diffèrent pas significativement les unes des autres au seuil de probabilité 5%. La hauteur moyenne atteinte par les plants de chêne-liège âgés de 7 ans est de 58,5 cm. La provenance Santiago de Cacem du Portugal est la plus performante avec une moyenne de 69,9 cm suivie par la provenance marocaine d'Oulmès (68,7 cm) et la provenance espagnole de Cataluna (67,7 cm). En revanche la provenance sarde de Cagliari (Italie) se classe dernière avec une moyenne de 40,3 cm.

Tableau 5 : Comparaison des moyennes des hauteurs totales des plants du site expérimental de Tebaba par le test de Newman et Keuls

Provenance-PAYS	Hauteur moyenne (cm)	Test de Newman et Keuls : niveau de signification					
Santiago de Cacem-POR	69,93	a					
Oulmes-MAR	68,65	a					
Cataluna-ESP	67,67	a	b				
Ain Johra-MAR	67,57	a	b				
Ain Rami-MAR	65,79	a	b				
Boussafi-MAR	65,07	a	b	c			
La Almoraima-ESP	64,86	a	b	c			
Montes de toledo-ESP	64,54	a	b	c	d		
Bab Azhar-MAR	64,21	a	b	c	d		
Ponte de Sor-POR	63,65	a	b	c	d		
Bast. + Alburq. -POR + ESP	63,51	a	b	c	d		
Sirra Morena- ESP	62,80	a	b	c	d		
Mekna-TUN	60,57	a	b	c	d	e	
Chamusca-POR	59,00	a	b	c	d	e	
Fuencaliente-ESP	57,79	a	b	c	d	e	
San Bras de Alportel- POR	56,76	a	b	c	d	e	f
Haza de Lino-ESP	55,78	a	b	c	d	e	f
Guerbes-ALG	55,00	a	b	c	d	e	f
Sassari-IT	53,40	a	b	c	d	e	f
Azaruja-POR	53,38	a	b	c	d	e	f
El Pardo -ESP	49,63		b	c	d	e	f
Fernana-TUN	49,30		b	c	d	e	f
Catania-IT	46,74			c	d	e	f
Lazio -IT	46,38				d	e	f
Brindizi-IT	44,60					e	f
Cagliari-IT	40,32						f
Moyenne = 58,46 cm							

a, b, c... : niveaux de signification. Les provenances reliées par les mêmes lettres ne diffèrent pas significativement les unes des autres au seuil de probabilité 5%.

Conclusion

L'intérêt de l'essai de Tebaba réside surtout dans le fait que la station expérimentale est située à la limite inférieure du chêne-liège, dans une région où ne restent que les vestiges d'une ancienne subéraie autrefois plus dense et en meilleur état sanitaire. Les résultats de l'essai nous permettent de sélectionner les provenances les mieux adaptées à cette zone et susceptibles de la recoloniser avec l'espoir de reconstituer progressivement l'ancienne forêt.

Les provenances sélectionnées montrent une bonne adaptation au milieu (taux de survie supérieur à 72 %), mais présentent une forte variabilité du point de vue de leur croissance en hauteur, ce qui donne la possibilité de sélectionner celles qui sont les plus performantes. Les plants de la meilleure provenance atteignent une hauteur totale moyenne qui dépasse de 70 % celle de la provenance la moins vigoureuse. Toutefois, les résultats actuels ne concernent que des plants âgés de 7 ans et il est encore prématuré de vouloir établir une liste définitive des

provenances à préconiser pour ce type de milieu. Il faut attendre que la concurrence s'établisse entre les arbres pour pouvoir repérer les provenances conservant le meilleur état sanitaire et donc les mieux adaptées au milieu.

Par ailleurs, il faut rappeler que dans les conditions de la forêt tunisienne, qui a été fortement fragilisée par de nombreux facteurs, la question de la production est secondaire par rapport à la nécessité de rétablir un écosystème forestier durable. Le choix des provenances qui seront finalement retenues, doit en priorité tenir compte de leur capacité de résistance aux différents aléas du milieu y compris les attaques de ravageurs de tous ordres.

Remerciements

Les auteurs remercient M. Ben Mabrouk Boujemaa qui a assuré l'installation des essais sur le terrain.

Références

- Baradat, Ph. 1986: Variabilité génétique et systèmes de reproduction. – Rev. For. Fr., numéro spécial : 26-38.
- Boudy, P. 1951: Economie forestière nord-africaine, Tome 4. – Larose, Paris: 483 p.
- Dagnelie, P. 1975: Théorie et méthodes statistiques. Applications agronomiques. – Les Presses agronomiques de Gembloux, Tome 2: 463 p.
- DGF 1995: Résultats du premier inventaire forestier national en Tunisie. – Direction Générale des Forêts, Tunis: 88 p.
- Khouja, M.L., Khaldi, A., Ben Jemaa, M.L., Toumi, L. & Lumaret, R. 2000: Conservation and improvement of cork oak forests in Tunisia : Acquired of researches and technical applications. – Congrès mondial sur le chêne-liège, Lisbonne (Portugal), 19-21 juillet 2000, 11 p.
- Turok, J., Varela, M.C. & Hansen, C. 1997: *Quercus suber* Network (EUFORGEN). Report of the third and fourth meetings of Sassari, Italy (9-12 June 1996) and Almoraima-Spain (20-22 February 1997). – IPGRI Publication: 5-10.

Adaptive variability of cork oak in Tunisia

Abstract: Problems related to environmental conditions, senescence and lack of regeneration, induced a reduction of the genetic inheritance of Tunisian cork oak forest with the risk of endangering the stand survival and reduce their possibilities of potential adaptation to unpredictable environment changes. Comparative plantation of various cork oak provenances were performed in order to know the geographical variability of the species and operate a first provenance selection to start up a genetic improvement program. The provenances trial installed in Tebaba (North-West of Tunisia) in 1997 is composed of 26 cork oak populations sampled from the whole natural area of the species. The statistical experimental design is composed of complete randomized blocks. The surviving 7 year old seedlings were numbered and their total height measured. The results showed that average height differences among provenances are highly significant and seed sources well adapted to the site conditions (survival rate superior to 72%). This enabled a possible selection in favour of the most effective provenances. The best provenance, at this time, revealed a height growing capacity, 70% better than that of the least vigorous one.

Key words: adaptive variability, provenance, *Quercus suber*

Evaluation de la régénération et analyse de la croissance du chêne-liège (*Quercus suber*) dans la forêt de Ain Snoussi, Tunisie

Boutheina Stiti ¹, Houcine Sebei ², Abdelhamid Khaldi ¹

¹ Institut National de Recherches en Génie Rural, Eaux et Forêts (Tunis)

² Ecole Supérieure d'Agriculture de Mograne, Tunisie.

Résumé : La dégradation progressive des subéraies cause un déséquilibre dans les écosystèmes forestiers du pays. La présente étude vise à analyser la croissance des chênes-lièges et à évaluer leur potentiel de régénération dans la forêt de Ain Snoussi. 91 placettes ont été choisies et 71 arbres abattus et divisés en sections pour l'analyse de leur tige. L'âge des arbres échantillonnés et coupés a été estimé par comptage, sur les sections de la base des troncs, du nombre total de cernes à partir du centre. Le comptage des cernes ligneux montre une forte baisse de la régénération du chêne-liège au cours des dernières décennies (47,46 % des arbres ont entre 100 et 180 ans alors que seulement 6,78% ont entre 0 et 60 ans). Ce résultat a été confirmé par le très faible pourcentage de plants recensés dans la station. L'âge, la surface terrière, la densité, le couvert et l'état phytosanitaire de la station ont été analysés afin d'appréhender l'effet des facteurs stationnels sur la régénération naturelle. La mesure de l'accroissement radial annuel des arbres échantillonnés a été réalisée sur les rondelles coupées à 1,30 m du sol. L'accroissement annuel du bois est en moyenne de 1,32 mm/an ; il varie, selon les placettes, de 0,51 à 2,53 mm/an. En outre, l'épaisseur du liège (mâle et de reproduction) a été mesurée et son accroissement moyen annuel mesuré ; elle atteint en moyenne 0,46 mm pour le liège mâle et 2,26 mm pour le liège de reproduction.

Mots clés : *Quercus suber*, Tunisie, bois, régénération, croissance, liège.

Introduction

Autrefois, la subéraie tunisienne occupait une superficie beaucoup plus importante. Celle-ci a diminué sous l'action de l'homme (Boudy, 1952). L'élimination progressive des strates basses et des semis a conduit à des difficultés majeures au niveau de la régénération naturelle et une modification de la structure des peuplements (Hasnaoui, 1992). La dégradation des subéraies induit une réduction, à moyen et à long terme, de la richesse spécifique de la faune et de la flore. Il est donc important d'analyser la situation de la régénération naturelle du chêne-liège dans nos forêts.

D'autre part, la croissance des arbres a, à plusieurs égards, une importance considérable en matière d'aménagement des forêts. Elle constitue un élément essentiel dans l'appréciation du développement et de la dynamique des peuplements forestiers et sa connaissance permet l'estimation de la production du bois et de liège.

La présente étude vise à analyser la croissance des chênes-lièges (bois, liège) dans la forêt de Ain Snoussi (région d'Aïn Draham) et à évaluer le potentiel de régénération de ce peuplement.

Matériel et méthodes

L'étude a été effectuée à Ain Snoussi, dans la subéraie de la Kroumirie-Mogods au nord-ouest de la Tunisie. Cette forêt dépend de l'arrondissement forestier de Ain Draham (première série, subdivision de Tabarka). Elle couvre une superficie de 3 735 ha dont 2 424 ha sont occupés par le chêne-liège. La station est classée dans l'étage bioclimatique humide à variante hivernale tempérée selon la classification d'Emberger (Plan d'aménagement : DGF, 1983).

Dans le but de chercher la précision des estimations et compte tenu des difficultés de terrain et des limites de temps disponibles, 91 placettes circulaires de 4 ares ont été choisies au hasard sur l'ensemble de la station. Au sein de chaque placette, plusieurs variables dendrométriques caractérisant la station ont été relevées :

- la circonférence du tronc à 1,30 m ;
- la hauteur totale de l'arbre ;
- la hauteur de démasclage ;
- l'épaisseur du liège des arbres.

Age des arbres et accroissement radial du bois

71 arbres ont été sélectionnés en fonction de leur circonférence et de leur hauteur, abattus et divisés en sections prélevées à diverses hauteurs pour l'analyse de tige. Les rondelles sectionnées sur 12 des arbres abattus étaient trouées ou abîmées, ce qui a limité l'étude aux sections des 59 autres arbres. L'âge des arbres échantillonnés a été déterminé à vue, à l'aide d'une grande loupe, par comptage du nombre total de cernes depuis le centre jusqu'à la périphérie des sections correspondant à la base des troncs. L'âge a été corrélé à la circonférence et l'équation obtenue a été utilisée pour le calcul de l'âge de tous les arbres inventoriés dans les 91 placettes (2 123 arbres).

La mesure de l'accroissement radial annuel des arbres échantillonnés a été réalisée, sur les rondelles coupées à 1,30 m du sol, par ordinateur à l'aide de TSAP (Time Series Analysis and Presentation) et LINTAB. Ces mesures ont été effectuées au laboratoire de sylviculture à CIFOR-INIA (Madrid).

La croissance du liège

L'analyse de la croissance du liège mâle et du liège de reproduction est déduite de données prises à partir des mesures, par une réglette graduée, de l'épaisseur totale de l'écorce des arbres sur pied dans les différentes placettes. L'accroissement moyen annuel du liège mâle a été calculé en faisant le rapport de l'épaisseur totale mesurée par l'âge de l'arbre. L'accroissement annuel du liège de reproduction a été déterminé en mesurant les cernes sur des plaquettes de l'écorce des arbres échantillonnés à l'aide d'un pied à coulisse digital.

Caractéristiques sylvicoles

Les caractéristiques sylvicoles de la strate arborée ont été mesurées dans toutes les placettes choisies à Ain Snoussi. Ces critères ont en effet un impact sur la production de la subéraie:

- **La densité du peuplement**: les placettes ont été réparties en 3 classes :
 - classe 1 : placettes claires (densité inférieure à 200 arbres / ha) ;
 - classe 2 : placettes moyennement denses (200 à 400 arbres/ha) ;
 - classe 3 : placettes denses (densité supérieure à 400 arbres/ha).
- **La surface terrière**: somme des sections des troncs de tous les arbres à l'hectare:

$$G = \sum n_i \frac{C_i^2}{4\pi} \quad (1) \quad \text{avec } C_i : \text{circonférence de l'arbre à 1,30 m du sol.}$$

- **Le couvert forestier:** la surface couverte par les chênes-lièges est représentée par la surface correspondant à la projection verticale du houppier des arbres (Dubourdieu, 1997). Cette surface (r) a été calculée pour chacune des placettes.

$$r = \sum n_i \pi \frac{D_i^2}{4} \quad (2)$$

avec : n_i = nombre d'arbres par placette et D_i = diamètre moyen du houppier.

Le rapport R (en %) entre la surface r , occupée par le chêne liège, et la surface totale de chaque placette (400 m^2) a été calculé :

$$R(\%) = \frac{r}{4} \quad (3)$$

Selon ce rapport, 4 classes de couvert ont été retenues (DGF, 1995), à savoir :

- couvert clairsemé : R inférieur à 25 %.
- couvert clair : R compris entre 25 % et 50 %.
- couvert dense : R compris entre 50% et 75 %.
- couvert très dense : R supérieur à 75 %.

Evaluation de la régénération naturelle et de l'état phytosanitaire

L'évaluation qualitative de la régénération naturelle a été réalisée dans les 91 placettes en prenant quatre unités carrées de 1 m de coté selon quatre directions (nord est, nord ouest, sud est et sud ouest) placées à 10 m du centre de chaque parcelle. On a déterminé la présence ou l'absence des semis dans chaque unité. Les placettes ont été subdivisées en 4 classes :

- classe 1 : pourcentage de régénération inférieur à 25 %.
- classe 2 : pourcentage de régénération compris entre 25 et 50 %.
- classe 3 : pourcentage de régénération compris entre 50 et 75%.
- classe 4 : pourcentage de régénération est supérieur à 75 %.

Le taux de mortalité des arbres a été calculé en faisant le rapport entre l'effectif des arbres morts et celui du total des arbres de chaque placette.

Calculs statistiques

Tous les calculs de moyennes, de paramètres d'équations et de coefficients de corrélation ont été exécutés sur des variables non transformées, à l'aide du logiciel "Excel 5.0". Pour chaque série, l'équation de régression retenue a été celle qui avait le plus fort coefficient de détermination parmi les courbes de tendance proposées par le logiciel.

Résultats

Age des arbres

Le comptage des cernes ligneux a permis d'évaluer l'âge des arbres échantillonnés. La figure 1 présente la distribution suivant les classes d'âge des 59 arbres abattus dans la forêt de Ain Snoussi.

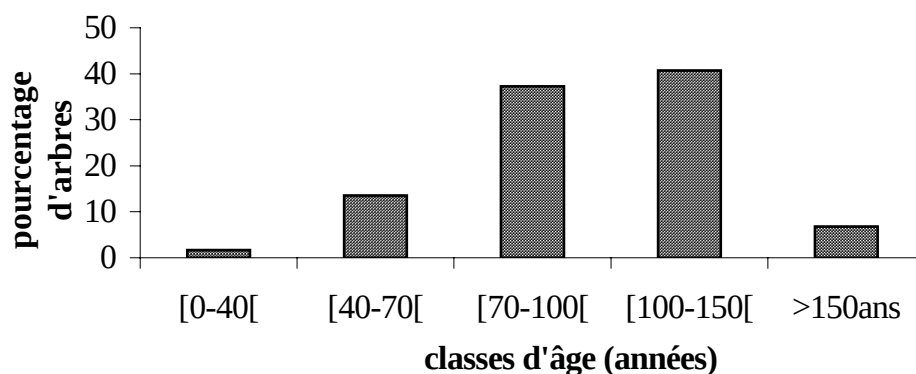


Figure 1. Distribution des arbres échantillonnés dans les placettes de la forêt de Ain Snoussi en fonction des classes d'âge

La figure 2 illustre la relation entre l'âge des arbres abattus et leur circonférence à 1,30 m. Cette équation a un coefficient de corrélation très hautement significatif.

$$A = 2.7853.C^{0.7759} \quad r = 0.904^{***} (\alpha = 0.001) \quad (4)$$

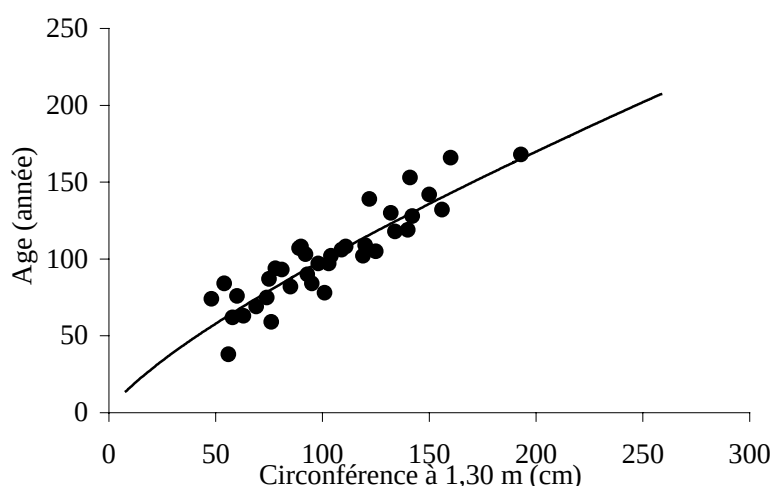


Figure 2. Relation entre la circonférence à 1,30 m et l'âge des arbres échantillonnés à Ain Snoussi

Le calcul de l'âge des arbres inventoriés dans les différentes placettes à l'aide de l'équation (4) a montré que le pourcentage d'arbres ayant un âge inférieur à 40 ans est très faible (0,70 %) alors que celui des arbres de plus de 70 ans est le plus élevé (61,04 %). Il ressort de ces résultats que la forêt de Ain Snoussi est dans un état de sénescence alarmant.

Accroissement annuel du bois et croissance du liège

L'accroissement radial annuel moyen de la station a été évalué à 1,32 mm/an ; il varie, selon les placettes, de 0,51 à 2,53 mm/an. La figure 3 présente la relation entre l'âge des arbres et l'accroissement annuel moyen du bois. On constate que l'accroissement radial annuel moyen des arbres s'affaiblit avec l'âge.

La production de liège mâle a été étudiée à partir des mesures de l'épaisseur de l'écorce des arbres sur pied. En 2003, cette épaisseur a varié de 3 à 57 mm (moyenne= 29,3 mm). Le calcul de l'âge, à partir de la relation (4), a permis de déduire l'accroissement moyen annuel du liège mâle des arbres inventoriés. Celui-ci varie de 0,053 à 0,9 mm (moyenne : 0,46 mm).

En 2003, l'épaisseur du liège de reproduction mesurée à Ain Snoussi a varié de 5 à 25 mm (moyenne : 15,6 mm). Les mesures de l'accroissement annuel moyen du liège de reproduction ont révélé une variation entre les placettes de 1,6 à 3,02 mm (moyenne = 2,26 mm).

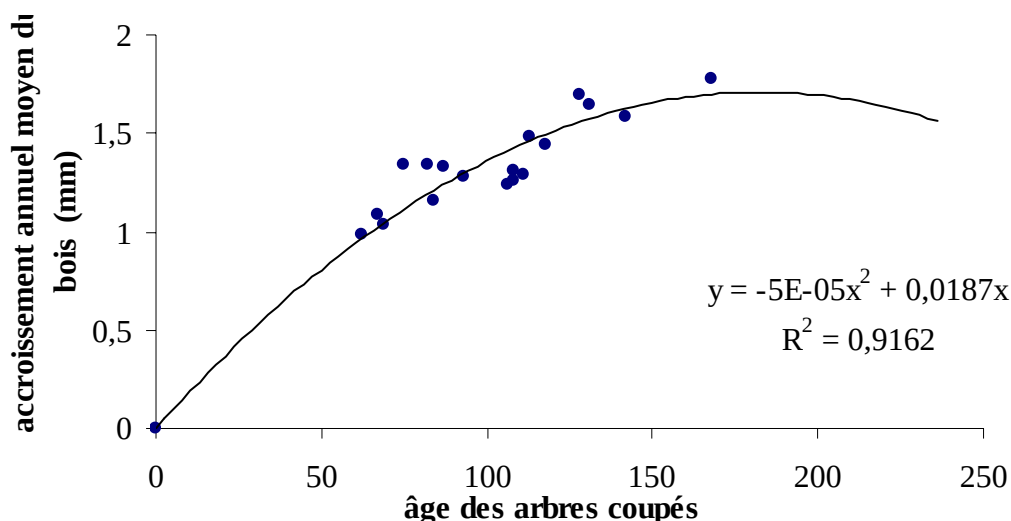


Figure 3. Relation entre l'accroissement radial annuel moyen et l'âge des arbres échantillonnés

Caractéristiques sylvicoles

La densité moyenne de la forêt de Ain Snoussi est estimée à 586,53 arbres/ha. 65,93 % des placettes sont denses (densité > 400 arbres/ha) et 17,6% présentent des densités supérieures à 1 000 arbres/ha (Fig. 4).

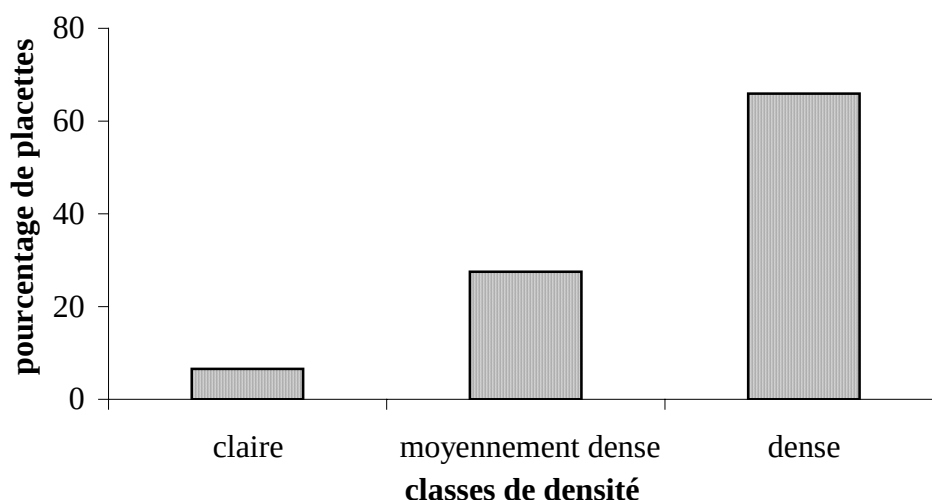


Figure 4. Distribution des placettes suivant les classes de densité

Le tableau 1 montre que 67,03% des placettes possèdent un couvert étendu (supérieur à 75%) avec des houppiers se développant surtout dans la strate supérieure. En outre, 53,8% des placettes disposent de plus de 100% de couvert, ce qui amène à penser que les houppiers des arbres interceptent la majeure partie de la lumière incidente.

Tableau 1. Distribution des placettes suivant les classes de couverture (R)

Classes de couverture	Pourcentage de placettes (%)
clairsemé	4,40
clair	14,29
dense	14,29
très dense	67,03

Le calcul de la surface terrière a révélé une variation de 10,06 à 1083,45 m²/ha selon la placette. La surface terrière moyenne de la forêt de Ain Snoussi est estimée à 288,25 m²/ha. En outre, 48,35% des placettes présentent des surfaces terrières supérieures à 250 m²/ha et seulement 24,17 ont des surfaces terrières inférieures à 100 m²/ha.

Evaluation de la régénération naturelle et de l'état phytosanitaire

Le comptage des cernes ligneux montre une forte baisse de la régénération du chêne-liège au cours des dernières décennies (47,46% des arbres ont entre 100 et 180 ans alors que seulement 6,78% ont moins de 60 ans). De même, on constate que 0,71% seulement des arbres échantillonnés ont moins de 40 ans. Ce résultat a été confirmé par le faible pourcentage de semis recensés dans la station. En effet, 52% des placettes montrent un pourcentage de régénération de 25% et seulement 22% ont un pourcentage supérieur à 25%, alors que 26% ne montrent aucune régénération. Ces données indiquent un très faible potentiel de rajeunissement de la forêt de Ain Snoussi, d'où l'âge moyen avancé des arbres échantillonnés (100 ans en moyenne).

D'autre part, le recensement des arbres morts a montré que 21,98% des placettes présentent des arbres morts. On a trouvé jusqu'à 36,36% d'arbres morts non coupés par placette. Des dommages d'insectes peu intenses ont été observés dans certaines placettes. De plus, les tiges portent fréquemment des blessures dues à une mauvaise levée du liège. Enfin, l'abattage a révélé que 16,9% des arbres présentent des tiges trouées, bien que leur apparence soit quelquefois saine.

Discussion

Les résultats des mesures ou des calculs de l'âge des chênes-lièges montrent que la forêt de Ain Snoussi présente un pourcentage élevé de sujets de plus de 70 ans. L'âge mesuré sur les arbres échantillonnés varie entre 38 et 174 ans tandis que l'âge calculé des arbres de la placette varie entre 31 et 233 ans. Ces conclusions attestent un état de vieillesse alarmant de la forêt qui est lié principalement à son faible potentiel de régénération. Il est à noter que les placettes présentant une fréquence élevée de semis renferment des pieds de diamètre inférieur à 1 cm, ce qui prouve que, physiologiquement, les glands n'ont aucun problème de germination, et qu'il n'y a donc en théorie aucun obstacle au renouvellement de la forêt. Pourtant les plants de plus de 1 cm de diamètre sont quasiment absents, ce qui indique la présence d'autres facteurs du milieu qui contribuent à l'échec de la régénération naturelle. Cette observation confirme d'autres études effectuées dans d'autres stations de la subéraie tunisienne, notamment celles de Hasnaoui (1992).

La forêt de Ain Snoussi présente une densité assez forte, un couvert élevé et une surface terrière considérable, ce qui témoigne d'une forte concurrence entre les chênes-lièges et freine ainsi le développement des semis. En fait, l'important développement des arbres, évalué par la surface terrière qui constitue un bon indice de concurrence (Cussenot, 2000), et la densité du couvert qui a une influence négative sur la régénération des plants (Khaldi et al., 2001), réduit conduit à un vieillissement du peuplement. De même, les pratiques sylvicoles susceptibles de protéger, renouveler et maintenir l'équilibre de la forêt n'ont pas été assurées à Ain Snoussi, ce qui peut expliquer le faible potentiel de régénération de cette station. D'autre part, l'absence d'opérations de sylviculture ayant pour but d'assurer un maximum de conditions favorables à la bonne croissance du peuplement, a eu un impact négatif sur la croissance du liège puisque l'épaisseur moyenne du liège de reproduction a été évaluée en 2003 à 15,6 mm alors que les mesures provenant de la récolte 1983 donnaient 27 mm de liège à Ain Snoussi (Plan d'aménagement : DGF, 1983). En 2001, Sebei et al. avaient obtenu une épaisseur moyenne du liège de reproduction égale à 32,5 mm.

Il convient pourtant de noter que l'état phytosanitaire de cette forêt est globalement bon et que les attaques d'insectes sont présentes, mais peu intenses. Par contre, la sénescence et le dépérissement dû à divers facteurs anthropiques et abiotiques entraînent progressivement sa régression. Cette première analyse de l'état phytosanitaire de la subéraie devra être confirmée par des travaux ultérieurs plus approfondis.

Remerciements

Ce travail a été financé par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique et de Technologie (Tunisie) et par l'Agence Espagnole de Coopération Internationale (AECI-MAE-Espagne) dans le cadre de la coopération Tuniso-Espagnole. Nous tenons à remercier la Direction Générale des Forêts, l'arrondissement des forêts de Ain Draham ainsi que le triage de Ain Snoussi pour l'abattage des arbres échantillonnés et l'appui logistique fourni. Nous remercions aussi Monsieur Ali Aloui, maître de conférence à l'Institut Sylvo-Pastoral de Tabarka pour sa contribution scientifique.

Références

- Boudy, P. 1952: Guide du forestier en Afrique du Nord. – La maison rustique, Paris, 505 p.
- DGF 1983: Plan d'aménagement:1984-2007. – Forêt domaniale de Amdoun. 1^{er} série. Subdivision des forêts de Tabarka. Triage de Ain Snoussi. Direction Générale des Forêts.
- DGF 1995: Résultats du premier inventaire forestier national en Tunisie. – Direction Générale des Forêts, Ministère de l'Agriculture. Tunisie. 88 p.
- Hasnaoui, B. 1992: Chênaies du Nord de la Tunisie: Ecologie et régénération. – Thèse Université de Provence, Marseille: 149-150.
- Khaldi, A., Belghazi, B., Ezzahiri, M. & Aloui, J. 2001: Bilan actualisé de la régénération du chêne-liège en Kroumirie-Mogods, Tunisie. – International Meeting on Silviculture of cork oak and cedar. Rabat, Morocco: 133-151.
- Dubourdieu, J. 1997: Manuel d'aménagement forestier. – Office National des Forêts. Lavoisier Tec et Doc. Paris: 244 p.
- Cussenot, M. 2000: Adapter la sylviculture aux risques croissants d'accidents climatiques. – INRA Centre de Nancy. Champenoux, 2 p.
- Sebei, H., Albouchi, A., Rapp, M. & El Aouni, M.H. 2001: Evaluation de la biomasse arborée et arbustive dans une séquence de dégradation de la subéraie à cytise de Kroumirie (Tunisie). – Ann. For. Sci. 58: 175-191.

Growth regeneration and analysis of cork oak (*Quercus suber*) trees in the Ain Snoussi forest, Tunisia

Abstract: The degradation of cork oak stands causes an unbalance in the Tunisian forest ecosystem. This paper aimed at assessing the regeneration potential of cork oak in the Ain Snoussi forest (north of Tunisia). After prospecting in 91 stations, 71 trees were selected, felled and cut up for stem analysis. Tree age was evaluated by wood rings counting (47.46% of the trees were 100-180 yr old, while only 6.78% are less than 60 yr old) showing that cork oak regeneration was extremely reduced over the last decades. This result was confirmed by the very small percentage of seedlings counted in the plots. In each station, the age, the basal area, the density, the cover, and the phytosanitary state of the trees were used to determine the healthy state of the stand and to analyze their impact on the natural regeneration. This work also aimed at analyzing the growth of cork oak wood. The annual growth rings of trunk sections, cut up at 1.30 m from the ground level, were measured in order to evaluate the annual wood increment and the cork thickness. In average, wood increment was estimated to 1.32 mm/year (from 0.51 to 2.53mm/year) while virgin cork increment reached 0.46 mm/year and cork thickness attained 2.26 mm/year.

Key words: *Quercus suber*, Tunisia, wood, regeneration, growth, cork, wood.

L'effet de la fertilisation dans la récupération des peuplements de chêne-liège au Portugal

Edmundo de Sousa¹, Graça Oliveira², Otília Correia², M^a Natércia Santos¹, José Marcelino¹

¹ INIAP–Estação Florestal Nacional; Quinta do Marquês 2780–Oeiras, Portugal.
edmundo.sousa@efn.com.pt.

² Faculdade de Ciências de Lisboa, Departamento de Biologia Vegetal, Lisboa, Portugal

Résumé : Parmi les multiples facteurs impliqués dans le déclin du chêne-liège au Portugal, la structure du sol et la modification de l'équilibre de ses éléments minéraux interviennent sur l'affaiblissement de l'arbre et l'augmentation des possibilités d'attaque par des agents biotiques. Pour évaluer le rôle de la fertilisation sur le processus de récupération de la vigueur de l'arbre, un essai a été effectué, pendant quatre années consécutives, dans deux types de sols (sable et schiste), représentatifs de la région du chêne-liège au Portugal et situés dans la province « Alentejo ». La récupération de l'arbre a été mesurée à partir de paramètres de croissance, écophysologiques et de défoliation en comparant quatre traitements. Les résultats montrent une nette récupération du chêne-liège dans les sols sableux après une fertilisation avec Fertigafsa 4-16-12 (NPK) et dans les sols schisteux par l'addition de Fertigafsa 0-26,5-0 (P) comme de Fertigafsa 0-20-17 (PK). Toutefois la réponse des arbres n'est pas uniforme, car la récupération de leur vigueur a eu lieu surtout durant l'année qui a suivi la première fertilisation.

Mots-clés : chêne-liège, déclin, sol sableux, sol schisteux, fertilisation

Introduction

L'insuffisance et/ou l'excès de macro- et de micro-éléments ont été fréquemment associés à l'affaiblissement des écosystèmes (Bernardo et al., 1992 ; Huber, 1978 ; Sousa et al., 2000). Plusieurs stratégies de contrôle des agents biotiques antagonistes proposent de corriger l'équilibre minéral des sols à l'aide d'éléments nutritifs (Engelhard, 1989 ; Sonesson, 1999). Siwecki (1999) considère ainsi que la création d'une base de données pour l'amélioration de la qualité des sols constitue de nos jours une priorité de la recherche concernant les chênes.

Au Portugal, on a montré que l'affaiblissement des chênes-lièges, évalué à travers des paramètres visuels et physiologiques était fortement corrélé à des pH faibles, une insuffisance de potassium, de phosphore, de magnésium et de cuivre et un excès d'aluminium et de zinc dans le sol (Bernardin et al., 1992; Cabral & Lopes, 1992; Jacobs et al., 1992; Sousa et al., 1995; 1999; 2000). Nous nous sommes intéressés aux sols les plus représentatifs de la subéraie, afin d'analyser le comportement des arbres face à différents types de fertilisation.

Matériel et méthodes

L'essai a été conduit dans la région la plus représentative de la subéraie au Portugal dans des parcelles à Pegões (sols de sables, arénosols, de la propriété de « Besteiros ») et au Cercal (sols de schistes, lithic leptosols, de la propriété de « Reguengo Grande »).

Des études antérieures sur l'association entre nutriments du sol et dépérissement de l'écosystème, ont permis de choisir différents fertilisants pour tester leur rôle sur la récupération des chênes-lièges (Tabl. 1).

Dans chaque site, une aire de 2 ha a été divisée en 4 placettes selon les 4 modalités de fertilisation (3 + 1 témoin). En octobre 1999, une fertilisation "au lancé" a été effectuée de manière uniforme dans chaque placette. Les engrais utilisés et leurs dosages respectifs sont présentés dans le tableau 2. Le nombre d'arbres par placette n'est pas identique car les deux peuplements sont différents (Tab. 2). Celui sur sol schisteux est plus hétérogène, les arbres plus petits ont un indice de surface foliaire plus faible que ceux poussant sur sol sableux.

Tableau 1. Type de fertilisant et dosages utilisés dans chaque sol

Fertilisant	Sol sableux (H. Besteiros)	Sol schisteux (H. R. Grande)
Fertical (CaCo3)	2000 kg/ha	2000Kg/ha
Fertigafsa 4-16-12 (NPK) 16% Ca - 4% Mg	875 kg/ha	875Kg/ha
Fertigafsa	0-20-17 (PK) 18% Ca - 4% Mg 700 kg/ha	0-26,5-0 (P) 35% Ca 525 kg/ha

Tableau 2. Nombre initial d'arbres dans chaque placette

Nombre d'arbres	Témoin	(CaCo3)	(NPK)	(P)	(PK)
Sol sableux	45	30	33	-	34
Sol schisteux	32	43	35	34	-

La récupération de la subéraie a été appréciée, avant et après la fertilisation, et en juillet de chaque année (2000, 2001 et 2002), par une évaluation à vue de la défoliation des arbres à l'aide d'une notation adoptée à l'échelle internationale (Anonyme, 1989) : 0 (0-10%) ; 1 (11-25%) ; 2 (26-60%) ; 3 (60%) ; 4 (mort). Il s'est avéré parfois difficile d'attribuer ces notes, c'est pourquoi nous avons ajouté des classes intermédiaires (0/1 ; 1/2 ; 2/3 et 3/4), soit un total de 9 classes de défoliation.

Dans les sols sableux (Besteiros), on a fait un suivi écophysiological de 4 chênes-lièges pris au hasard dans chaque placette. Après la fertilisation, les paramètres suivants ont été relevés chaque année: nombre de feuilles/cm de branche ; surface foliaire; poids des feuilles ; masse surfacique (LMA = poids sec/surface foliaire) ; indice de surface foliaire mesuré avec un appareil de type LAI.2000 (LAI = surface foliaire totale de la couronne/surface de la couronne projetée au sol); efficacité photochimique du photosystème II à la mi-journée, mesurée avec un Mini-PAM (Fv/Fm).

Trois branches (≥ 2 ans) ont été cueillies du côté sud de la couronne, à 2-3 m de haut. Pour chaque branche, 5 rameaux de 2 ans ont été examinés pour connaître le nombre et longueur des rameaux de l'année et le nombre de feuilles. Le potentiel hydrique a été mesuré sur 3 rameaux/arbre, récoltés du côté sud de la couronne. L'efficacité photochimique maximale (Fv/Fm) a été mesurée sur 3 feuilles/arbre.

Résultats

Avant la fertilisation, on a constaté que la fréquence des classes de défoliation des arbres varie selon des placettes sélectionnées pour les traitements : sur sol schisteux cette distribution diffère significativement selon les parcelles ($\chi^2 = 28,5$; $p = 0,1$; ddl = 18). Les plus grandes

différences concernent les effectifs d'arbres des classes 2, 2/3 et 3 (Fig. 1). Sur sol sableux, cette distribution est plus homogène ($\chi^2 = 18,2$; $p = 0,1$; ddl = 18). Néanmoins, dans tous les cas la majorité des arbres (60 à 93%) présente une défoliation supérieure à 26% (classes 2 à 3) quelque soit la placette ou le type de sol. De plus, dans les deux sites, aucun arbre n'appartient aux classes de défoliation 0 et 0/1.

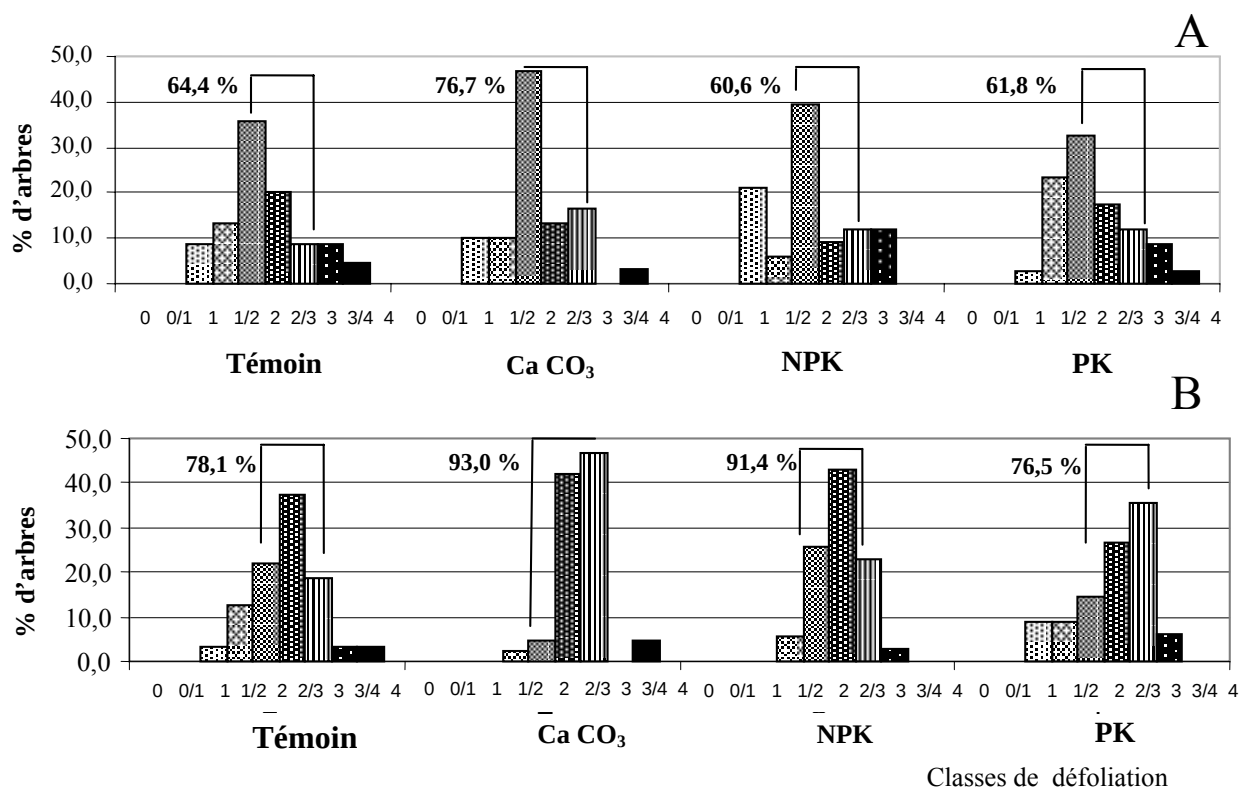


Figure 1. Évaluation avant fertilisation de l'état végétatif des arbres dans chaque placette (classes de défoliation).

A : sol sableux (Besteiros) ; B: sol schisteux (Reguengo Grande).

Sur sol sableux, l'évolution annuelle du niveau de défoliation (99/00, 00/01, 01/02) a permis d'évaluer l'impact de la fertilisation sur la récupération des arbres (Fig. 2A). La réponse n'a pas été uniforme. La fertilisation a eu un effet positif la première année (99/00) : les arbres ont en général récupéré significativement ($F=6,98$; $p=0,002$; 3 ddl) par rapport aux témoins, dans les parcelles NPK (plus de 60%) et PK (environ 70%) (test LSD = 0,0155 ; 129 ddl), mais la parcelle traitée au CaCO₃ ne montre pas de différence significative avec le témoin.

L'étude de la défoliation effectuée en 1999, avant fertilisation, permet de comprendre l'effet cumulatif des traitements au cours des trois années suivantes (Fig. 2B). La seconde année (00/01), les différences ($F=4,25$; $p=0,007$; 3 ddl) se rapportent seulement à l'effet négatif du CaCO₃ (50% des arbres ont perdu de la vigueur) (test LSD = 0,01499 ; 135 ddl). Il en est de même la troisième année ($F=5,000$; $p=0,003$; 3 ddl) où environ 45% des arbres se sont affaiblis sous l'influence du CaCO₃ (test LSD = 0,0129 ; 135 ddl).

L'effet cumulé de NPK et PK sur la récupération de la vigueur des arbres, par rapport au témoin (T) et à la parcelle traitée au CaCO₃, se maintient la deuxième année ($F=10,66$; $p<0,0001$; 3 ddl) (test LSD= 0,02357 ; 129 ddl). Environ 90% des arbres ont maintenu ou amélioré leur état de vigueur dans les deux parcelles, mais la troisième année ($F=8,676$;

($F=8,676$; $p<0,0001$; 3 ddl), seule la parcelle fertilisée au NPK montre encore une amélioration de sa vigueur (5% des arbres seulement ont vu leur état s'aggraver). L'effet régressif du CaCO_3 s'est clairement manifesté la troisième année après l'application du fertilisant (l'état d'environ 70% des arbres s'est aggravé) (test LSD = 0,03161 ; 127 ddl).

On vérifie ainsi que les arbres ont répondu à la fertilisation au NPK durant trois années consécutives (Fig. 3), soit par une augmentation ou un maintien de leur vigueur, soit par une diminution du taux de mortalité (environ 2 arbres dans les classes 3/4 et 4).

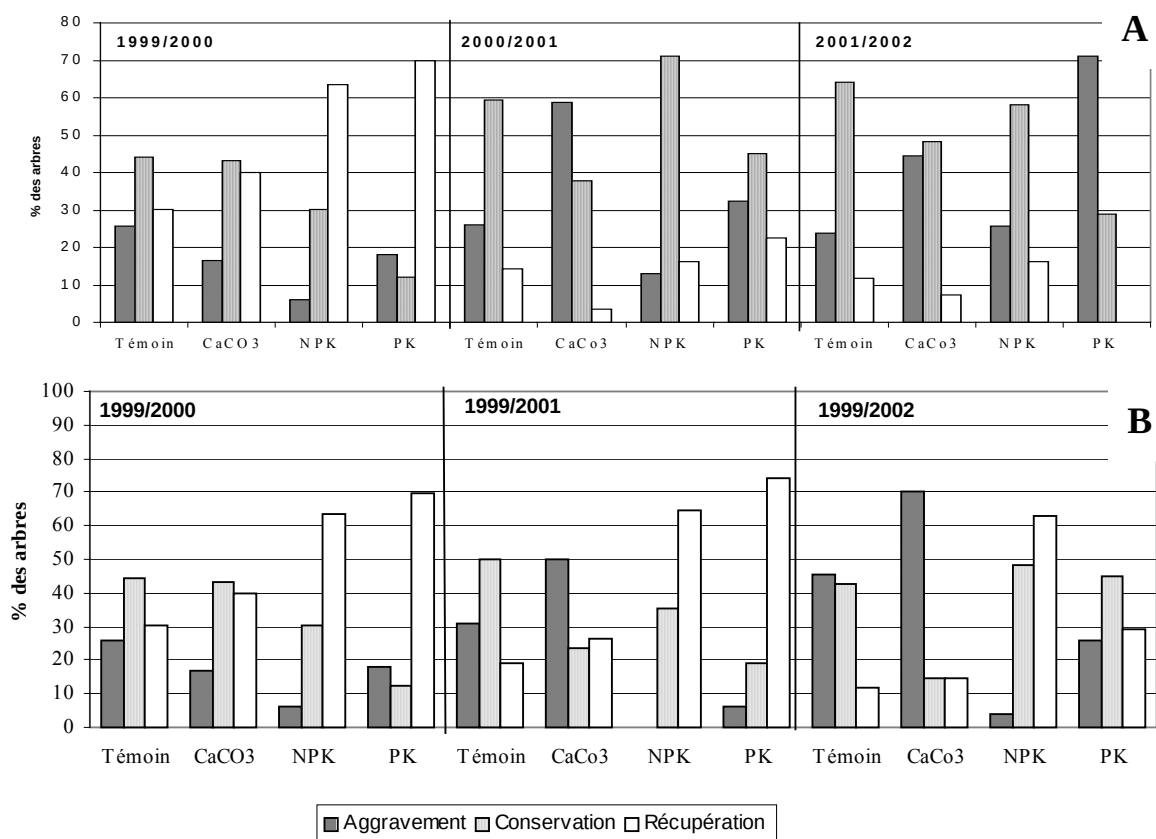


Figure 2. Sol sableux (Besteiros).

A : Effet des traitements sur l'évolution annuelle de la défoliation.

B : Effet cumulatif des traitements durant les trois ans suivant la fertilisation.

L'addition de CaCO_3 au sol a un effet négatif sur la vigueur des arbres et contribue à une accélération de la mortalité au niveau de la placette (environ 6 arbres dont la note de défoliation atteint 3/4 et 4).

L'effet de la fertilisation avec NPK s'est révélé particulièrement efficace sur les arbres qui appartiennent aux classes de défoliation 2 et 2/3 (Fig. 4) ; certains sont même passés de la classe 1 à la classe 0/1 (défoliation presque imperceptible). Par contre l'effet négatif de PK est apparu la troisième année lorsque les arbres, qui les années précédentes avaient atteint les classes 0/1 et 1, sont retournés à la classe 2.

Le suivi écophysologique effectué (facteurs de croissance, caractéristiques des feuilles et mesure de paramètres écophysologiques) a confirmé les données obtenues sur la récupération de la vigueur générale des arbres. Ainsi, la première année la réponse des arbres à la fertilisation au NPK se manifeste par des valeurs de l'indice de surface foliaire ($2,2\pm 0,1 \text{ m}^2/\text{m}^2$) significativement plus élevées que pour le témoin ($2,0\pm 0,1 \text{ m}^2/\text{m}^2$). La deuxième

année, cet effet n'est pas significatif (NPK : $1,5 \pm 0,4 \text{ m}^2/\text{m}^2$; témoin : $1,1 \pm 0,5 \text{ m}^2/\text{m}^2$). On peut donc en conclure que la valeur observée la première année indique une réponse rapide des arbres à l'effet de la fertilisation. Néanmoins, l'augmentation de cet indice ne correspond pas à une augmentation du rapport entre le nombre de feuilles produites et la longueur de la branche (NPK : $2,20 \pm 1,34 \text{ cm}$; témoin : $2,40 \pm 1,97 \text{ cm}$), mais à l'accroissement d'une année à l'autre de la surface foliaire des feuilles, comme le montrent les valeurs du rapport poids /surface (LMA), inférieures à celles des témoins (NPK : $14,3 \pm 1,4 \text{ mg}/\text{cm}^2$; témoin : $16,2 \pm 2,1 \text{ mg}/\text{cm}^2$). Les mesures du potentiel hydrique et de l'efficacité photochimique maximale (Fv/Fm) à la mi-journée ne diffèrent pas significativement selon les traitements ; elles varient respectivement de 0,74 à 0,75 MPa et de -1,6 à -1,7.

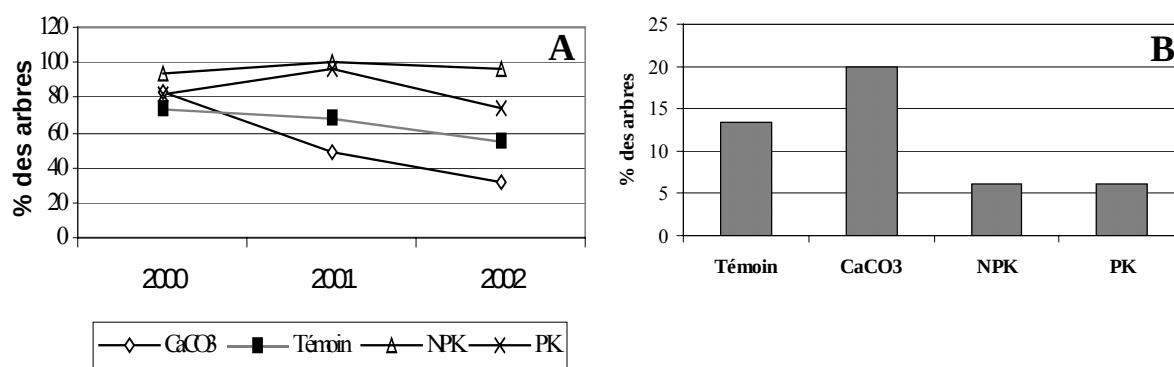


Figure 3. Sol sableux, trois ans après la fertilisation.

A : Pourcentage cumulé d'arbres s'étant maintenus ou ayant récupéré de la vigueur selon le type de fertilisation.

B : Pourcentage d'arbres ayant atteint les modalités de défoliation 3/4 et 4 (arbres morts).

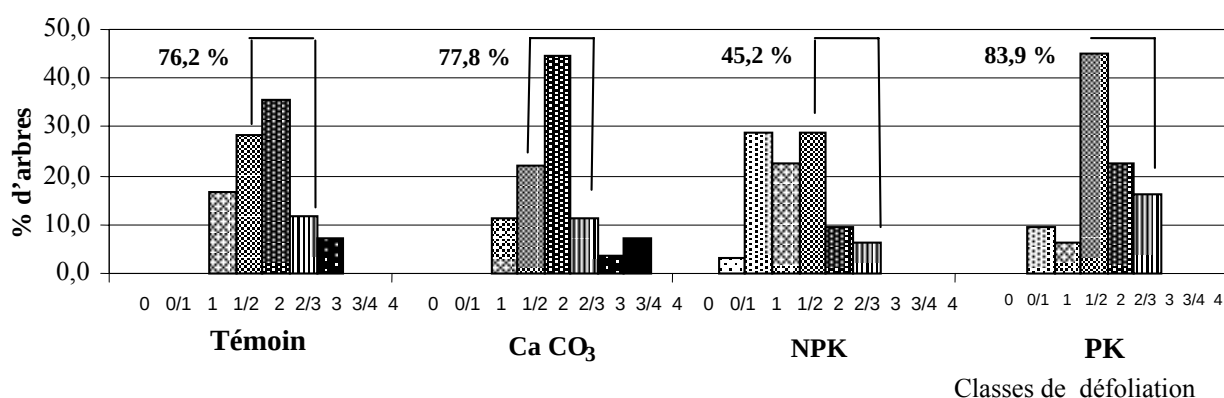


Figure 4. Évaluation de la défoliation trois ans après la fertilisation (sol sableux).

L'évaluation globale sur sols schisteux (P. de Reguengo Grande) de l'effet des traitements dans les changements annuels du niveau de défoliation (1999/2000 ; 2000/2001 ; 2001/2002) a montré une réponse identique à celle trouvée sur sols sableux (Figure 5A).

Une fois encore cette réponse n'est pas uniforme et varie selon les années. Ici, l'effet de la fertilisation est prolongé car il apparaît durant les deux premières années qui suivent la fertilisation (1999/2000 : $F=6,44$; $p=0,00412$; 3 ddl; 2000/2001 : $F=4,38$; $p=0,00565$; 3 ddl) et non uniquement au cours de la 1^{re} année, comme sur sols sableux. L'augmentation de la

vigueur des arbres est évidente pour les deux années (1999/2000 : LSD = 0.0230 ; 137 ddl; 2000/2001 : LSD = 0.0142 ; 131 ddl) dans les parcelles NPK et P (Fig. 5B). Curieusement, la réponse au CaCO_3 diffère selon le type de sol : l'effet régressif détecté sur sables la 2ème année n'apparaît sur sol schisteux que la dernière année (2001/2002 : LSD = 0,0174 ; 131 ddl).

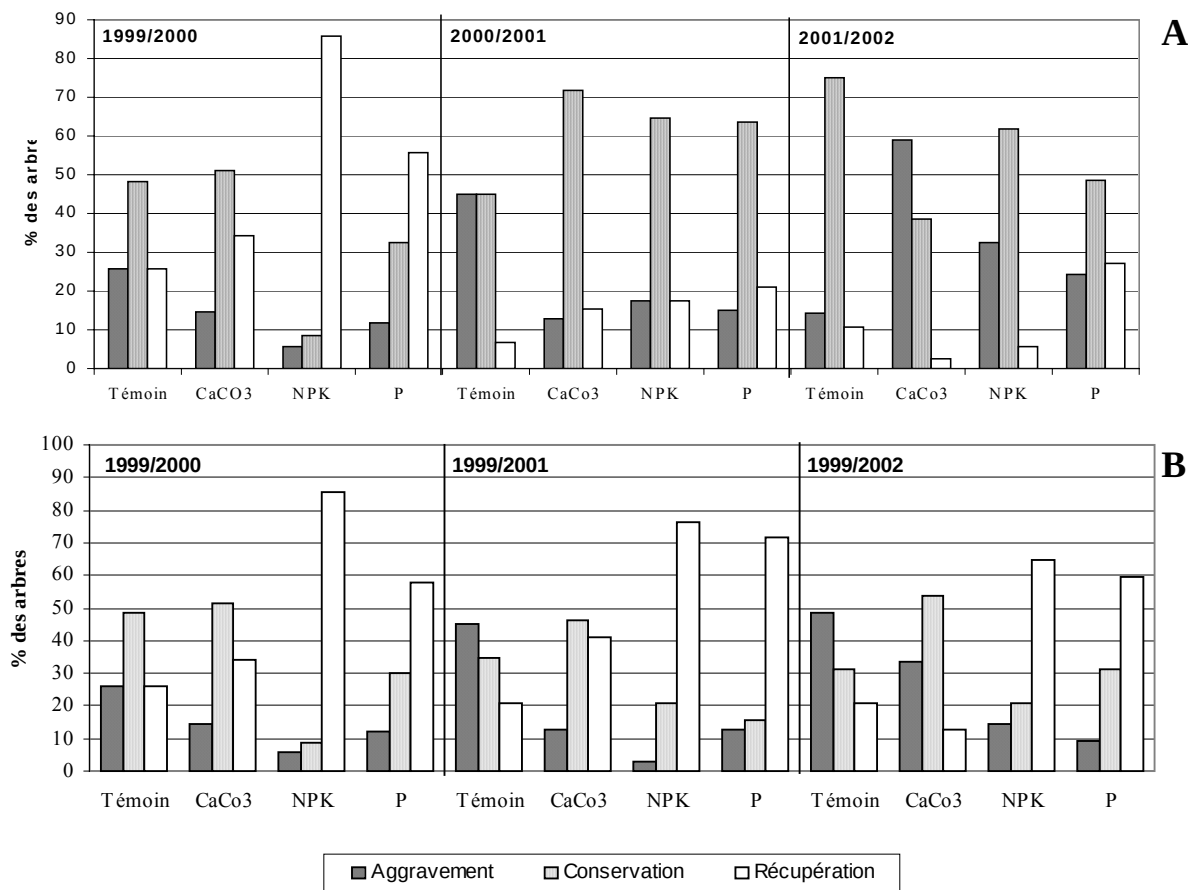


Figure 5. Sols schisteux (Reguengo Grande).

A. Effet des traitements sur l'évolution annuelle de la défoliation ;
 B : Effet cumulatif durant les trois ans suivant la fertilisation.

La comparaison avec les taux de défoliation trouvés en 1999 (l'année précédant la fertilisation) permet de comprendre l'effet cumulatif des traitements au cours des trois années suivantes (Fig. 5B).

L'effet de NPK et PK sur l'accroissement de la vigueur des arbres, par rapport au témoin et à la parcelle traitée au CaCO_3 , se maintient la 2ème année ($F=7,21$; $p=0,0002$; 3 ddl) (test LSD = 0,02286; 131 ddl), et la 3ème année ($F=5,097$; $p=0,002$; 3 ddl) (test LSD = 0.03869 ; 131 ddl), ce qui prouve que sur sol schisteux les arbres répondent de manière prolongée à la fertilisation (sur sable, cet effet n'a été visible que la 2ème année). D'autre part, que l'effet négatif évident du CaCO_3 sur sol sableux n'apparaît pas clairement sur sol schisteux car les différences observées par rapport au témoin ne sont pas significatives.

Sur sol schisteux, la fertilisation par NPK et P (Fig. 6) a un effet positif sur la récupération des arbres, que ce soit par une augmentation de leur vigueur ou par une réduction de leur mortalité (et ce contrairement aux sols sableux où l'addition de N semble être déterminante). Le comportement des arbres est identique avec un apport de P. L'effet négatif du CaCO_3 sur

sol schisteux se manifeste autant par la mort d'arbres (11 arbres dans les classes 3/4 et 4) que par un affaiblissement général des arbres.

Dans les sols schisteux l'effet de la fertilisation avec NPK et P s'est révélé particulièrement efficace pour les arbres des classes 2, 2/3 et 3, qui ont récupéré leur vigueur et atteint des niveaux de défoliation inférieurs à 26% (classes 0/1 et 1) (Fig. 7).

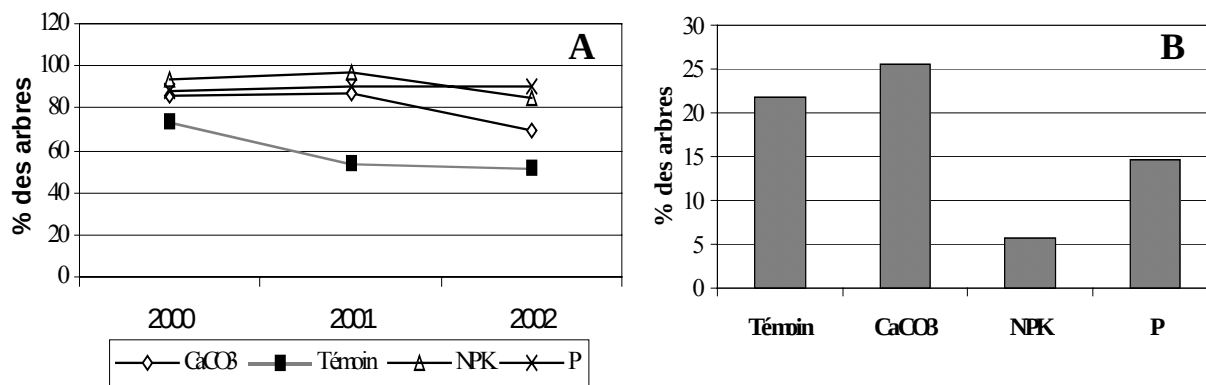


Figure 6. Sol schisteux, trois ans après la fertilisation.

A : Pourcentage cumulé d'arbres s'étant maintenus ou ayant récupéré de la vigueur selon le type de fertilisation.

B : Pourcentage d'arbres ayant atteint les classes de défoliation 3/4 et 4 (arbres morts).

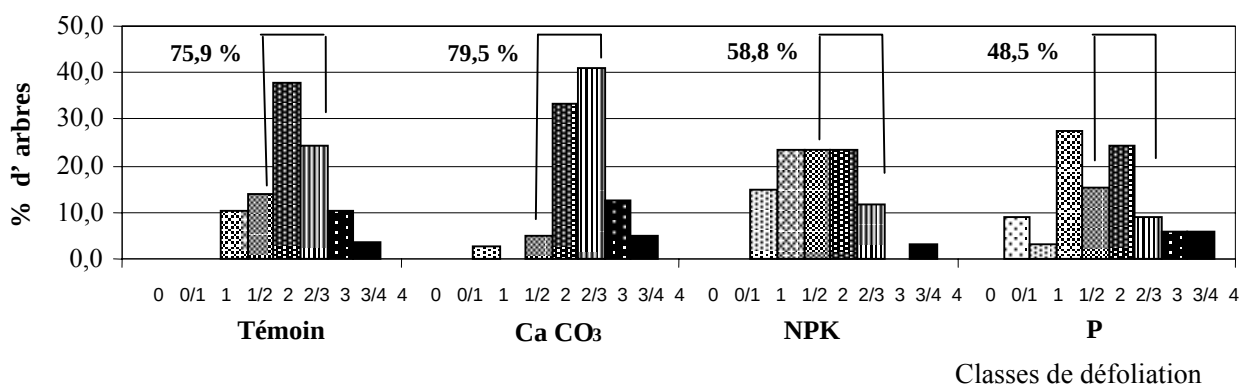


Figure 7. Évaluation de la défoliation trois ans après la fertilisation (sol schisteux).

Conclusions

La première année qui suit fertilisation, on a observé de façon globale une nette récupération des arbres avec les traitements au Fertigsfa NPK, PK et P sur les deux types de sol (sableux et schisteux), surtout dans le cas du traitement (NPK), alors que le traitement avec Fertical CaCO₃ n'a pas montré d'effet significatif. L'évolution de l'état végétatif des arbres au cours des deux années suivantes a montré une tendance au maintien de leur vigueur, sauf dans le cas du traitement au CaCO₃ dont l'effet négatif est apparu la troisième année sur les deux types de sols. Le traitement avec PK sur sol sableux a eu aussi un effet négatif la troisième année, sans que l'on ait pu identifier le ou les facteurs concernés.

La comparaison entre l'état végétatif des arbres (défoliation) et les paramètres de croissance, montre d'une manière générale, une relation très nette entre une augmentation de la densité de la couronne et un accroissement de ces paramètres, les résultats les plus nets

ayant été obtenus, pour les deux types de sol, avec le traitement Fertigafsa NPK. Aucune différence significative n'a par contre été obtenue entre parcelles traitées et témoins pour les paramètres écophysologiques (potentiel hydrique et efficacité photochimique maximale).

La comparaison entre l'état végétatif initial des parcelles et celui obtenu la troisième année après la fertilisation des sols montre que cette technique devra être prise en compte dans l'ensemble des mesures déjà préconisées pour une gestion équilibrée de la subéraie.

Références

- Anonyme 1989: Global environmental monitoring system. Forest damage and air pollution; Draft Report on the 1988 forest damage survey in Europe. Project FP/9/01-86-05, ECE/UNEP. Genève.
- Bernardo, A., Gomes, A.A., Evaristo, I., Tinoco, I. & Saraiva A. 1992: Um exemplo de mortalidade de montado de sobro na região do Cercal - Herdade da Cordeira. In: 2º Encontro sobre os montados de sobro e azinho, Évora: 238-247.
- Engelhard, A.W. 1989. Management of diseases with macro and microelements. American Phytopathological Society Press.
- Huber, D.M. 1978: Disturbed mineral nutrition. In Plant pathology, an advanced treatise Vol. III, eds. Warstfall & Cowling, Academic Press, New York: 163-178
- Sonesson, K. 1999: Effects of nitrogen free fertilization in three oak stands in southern Sweden. In: International conference "Recent advances on oak health", Warsaw, Poland (in press).
- Sousa, E.M.R.; Debouzie, D. & Pereira, H. 1995 : Le rôle de l'insecte *Platypus cylindrus* F. (Coleoptera: Platipodidae) dans le processus de dépérissement des peuplements du chêne liège au Portugal. IOBC Wprs Bull. 18(6): 43-49.
- Sousa, E.M.R.; Pinto, J.C.; Santos, M.N.S.; Gomes, A.A. & Bonifácio, L. 1999. Association of soil, macro and micronutrients and cork oak decline in Portugal. In: International Conference "Recent Advances on Oak Health in Europe, Varsaw, Poland (in press)
- Sousa, E.M.R.; Santos, M.N.S.; Pinto, J.C.; Gomes, A.A. & Bonifácio, L. 2000. Montado de sobro: associação de alguns factores abióticos e declínio do ecossistema. In: Congresso Mundial "o Sobreiro e a Cortiça". Lisboa (in press).
- Siwecki, K. 1999. Research on improvement of silviculture and protection of oak stands. International Conference "Recent Advances on Oak Health", Warsaw, Poland (in press)

Impact of fertilisation on cork oak stand recovery in Portugal

Abstract: Among the multiple factors involved in the cork oak decline in Portugal, the structure and the balance of the soil chemical elements were considered as causes of tree weakness and increase of biotic agent's attacks. The role of fertilization in the entire recovery process of the tree strength was evaluated by tests carried out, during four sequential years, in the two types of soil (sandy and schistose) representative of cork oak distribution in Portugal, and located in the "Alentejo" province. Tree recovery was analysed through growth, eco-physiologic and defoliation parameters variation between the four treatments. The results clearly showed considerable cork oak recovery in the sandy soils due to the fertilization with Fertigafsa 4-16-12 (NPK) and in the schistose soils by the addition of both Fertigafsa 0-26,5-0 (P) and Fertigafsa 0-20-17 (PK). However, tree response was not uniform throughout the study period, as the recovery of the tree strength was observed mainly during the first year, after the first fertilization.

Key-words: Cork oak; decline; sandy soil; schistose soil, fertilization

Conservation and recovering of cork oak forests. First results of cooperation between Sardinia (Italy) and Tunisia

Gianluca Serra¹, Daniele Tomasi¹, Abdelhamid Khaldi³, Mohamed Nouri³, Luisa Carta², Stefano Loddo¹, Ignazio Camarda², Mohamed Nejib Rejeb³, Angelo Aru¹.

¹ Dipartimento di Scienze della Terra, Università di Cagliari, Via Trentino 51, I-09127 Cagliari. ² Dipartimento di Botanica ed Ecologia Vegetale, Università di Sassari, Via Muroni 25, I-07100 Sassari. ³ Institut National de Recherche en Génie Rural, Eaux et Forêts, Rue Hedi Karray, 1004 El Menzah IV, B.P. 10, 2080 Ariana, Tunis.

Abstract: Cork is an important natural resource for the economy of southern European and North African countries. In these areas, large productive cork oak forests are declining and cork quality is deteriorating due to both the exploitation intensification and the lack of proper management. Therefore, the identification and the study of the degradation factors in Sardinian and Tunisian cork-growing areas may contribute to provide information on the planning strategies to follow in order to recover the degraded areas. This was, with special attention to the state of soil conservation, the aim of several research projects coordinated by the chair of Geopedology at Cagliari University. Their objectives were achieved with: the identification of representative study areas; their geological, morphological, pedological, climatic, and vegetation survey; the study of land use change and its relationships with forest degradation, the planning of strategies for the recovering of the degraded areas. Four study sites were selected: two in Tunisia (Tabarka and Nefza delegations), and two in Sardinia (Planargia and Gallura). Similar degradation problems, linked to the decay of existing cork oak forests, to the scarcity or absence of renovation and to soil erosion, were observed in the four areas. In each site, test plots were selected on the basis of vegetation cover, lithology and morphological aspects, and the following investigations performed: floristic and vegetation survey; soil survey with description of soil profiles; humus forms; cork oak renovation along transects; cork oak dendrometry. The anthropic activity was assessed by the modification of the forest vegetation structure and, when degradation occurred, by the degree of soil erosion and soil barring. Anthropic activities played a main role in cork oak stands degradation process. Major causes are fire, ploughing and overgrazing. Soil erosion, loss of organic matter, absence or reduction of plant regeneration, and loss of vegetation cover are the main processes acting in those areas. The cooperation carried out between Mediterranean countries must be encouraged to increase the knowledge about conservation and recovering strategies for all natural resources.

Key words: cork-oak, conservation, cooperation, Sardinia (Italy), Tunisia.

Introduction

Cork oak (*Quercus suber* L.) is an evergreen, heliophilous, semi-sclerophilic species exclusive of the central-western side of Mediterranean Basin. In Italy, it is widespread in western regions. Sardinia is the Italian region with the more extensive cork-landscapes. The real extension of cork oak formations is difficult to estimate because of the different cork-forest definitions used around the Mediterranean countries.

Sardinian Forest Authority performed a woodlands survey during 1996-98 which result showed manifest differences with national statistics. Including degraded cork forests, the census reports 122,204 hectares as total cork oak area in Sardinia (Beccu, 1998).

The peculiarity of cork forests results from their special productive value, but large productive areas are on decline and cork quality is deteriorating due to both the exploitation intensification and the lack of proper cork oak forest management. This problem was the object, with special attention to the state of soil conservation, of several research projects coordinated by the chair of Geopedology at Cagliari University (EU-MEDALUS project, 1992-1999; PANDA project, 1994-1996; ABAKOS project, 1995-1997). This paper deals with several projects financed in 1997-2003 by the L.R. 19/96, 43/90, and 26/96 of the Regione Autonoma della Sardegna into the cooperation between the Department of Earth Sciences of the University of Cagliari, the Department of Botany and Vegetal Ecology of the University of Sassari and the Institut National de Recherche en Génie Rural, Eaux et Forêts of the Tunisian Ministry of Agriculture.

The main objective of the projects is the identification and the study of the degradation factors in cork-growing areas in Sardinia (Italy) and Tunisia aiming at providing information on the planning strategies to follow for recovering the degraded areas.

The researches highlighted the role of anthropic activities in the degradation of cork oak stands areas. Major causes are fire, ploughing, and overgrazing. Soil erosion, loss of organic matter, absence or reduction of plant renovation, and loss of vegetation cover are the main processes acting in those areas.

Materials and methods

The work carried out into cooperation, started with the selection of the study areas through field excursions in the two countries participating in the projects. Four study areas were selected to represent soils and cork oak stands developed under different conditions in relation to soil forming factors and land use: two in Tunisia (Tabarka and Nefza Delegations), and two in Sardinia (Planargia and Gallura regions). Other study areas (Gallura, Barigadu and Iglesiente regions) were revised from a previous PANDA Project (Aru et al., 1996) and verified during this cooperation project (Fig. 1).

A survey of soils and vegetation was carried out in the selected areas. Eight representative pedons were described by standard soil survey methodology (Soil Survey Division Staff, 1993). Soils were classified according to Soil Survey Staff (1999). All analyses were performed on air-dried < 2 mm soil, according to the procedures published by Ministero delle Politiche Agricole e Forestali (2000). The following laboratory analysis were made on the collected soil samples: texture, pH(H₂O), pH(KCl), carbonates, organic carbon, total nitrogen, total acidity, exchangeable basis, and exchange cation capacity.

In order to establish relationships between variations in vegetation cover and environmental factors, particularly the soil, one adopted a method that recognized the floristic and vegetation differences as well as the physiognomy differences.

In the studied sites, vegetation differences may be attributed to geomorphology and topography variation as well as to a variety of anthropic factors that brought in time about profound modifications in the original plant cover. The anthropic activity was recognizable by the changes determined on the forest vegetation structure as well as, in the course of degradation, by the degree of soil erosion and soil baring. The study which aimed at defining the plant cover diversity and the vegetation types, focused on the determination of the surface covered by the vegetal structures, the height measurement of the vegetal strata and the evaluation of the human impact on the sample sites.

Phytosociological surveys were performed according to the method of the Zurich-Montpellier sigmatist school (Braun-Blanquet, 1951).

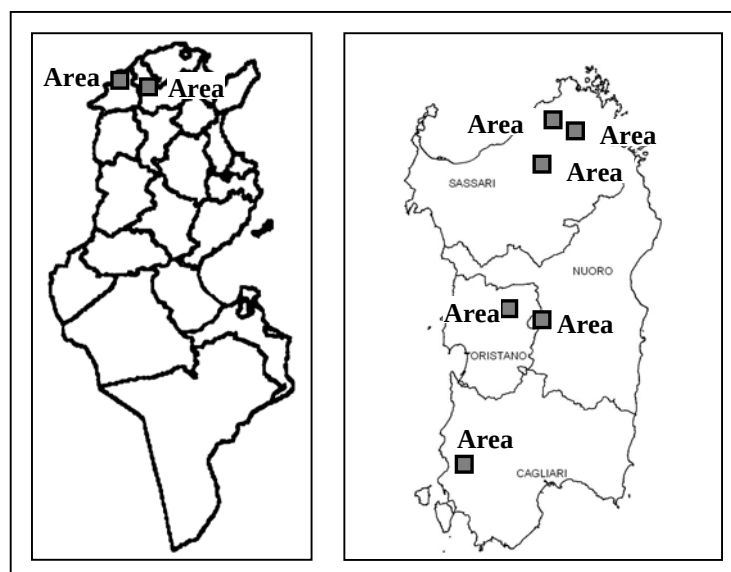


Figure 1. Location of study areas in Tunisia and Sardinia

Results

The cork oak stands characteristics of Tunisian and Sardinian sample sites are shortly described; soil characteristics are summarized in Tab. 3 (Tunisia) and Tab. 4 (Sardinia).

Study area n. 1: Mekna (Tabarka Delegation, Tunisia): *Q. suber* timber-forest (average height 14.5 m), same-aged (about 120 yr), owned by the Tunisia State and partially (54 ha) fenced in order to prevent grazing; a typical Tunisian littoral cork oak forest.

Study area n. 2: Bellif (Nefza Delegation, Tunisia): *Q. suber* timber-forest (average height 18 m) same-aged (about 150 yr), owned by the Tunisia State, overgrazed. This cork oak forest developed on "terra rossa". Forest structure and landscape are very representative of Tunisian cork oak formations and their land use. Soil and vegetation surveys were carried out in one site. A second soil profile was observed in one cork oak reforestation site (zone: Tebaba).

Study area n. 3: Planargia-Abbasanta (Oristano Province, Sardinia, Italy): Private agro-forest land with *Q. suber* trees (average height 9 m) irregular-aged, undergoing ploughing and grazing activities. Low shrubs layer is absent.

Study area n. 4 : Gallura (Sassari Province, Sardinia, Italy)

A - Tempio Pausania site: Cork oak forest with dominant *Q. suber* (average height 13 m) irregular-aged and holm oak (*Q. ilex* L.), undergoing grazing activities. The site is well representative of northern Sardinian cork oak formations and land use.

B - Calangianus site: Six survey areas were studied depending on cork oak forest conditions: four sample plots in *Q. suber* timber-forest (average height 14 m) irregular-aged, with subordinate *Q. ilex* trees, undergoing sparse grazing activities. Two sample plots in a fire devastated area previously submitted to overgrazing activities. In every place, cork oak grows on intrusive rocks (granites and leucogranites).

C - Oschiri site: *Q. suber* timber-forest (average height 12 m) irregular-aged with subordinate *Q. ilex* trees, undergoing grazing and fodder plants production activities.

Study area n. 5: Barigadu (Ortueri - Nuoro Province, Sardinia, Italy): Private agro-forest land with irregular-aged *Q. suber* trees (average height 10.5 m), undergoing grazing activities.

Variable maquis cover. Cork oak forest grows on metamorphic rocks (metaquarzites and arenaceous schists) and Pleistocene slope deposits.

Study area n. 6: Iglesias (Fluminimaggiore and Iglesias - Cagliari Province, Sardinia, Italy): Mixed *Q. suber* and *Q. ilex* wood (average height 13.5 m) irregular-aged, close to grazed and private agro-forest land with irregular-aged *Q. suber* trees (average height 11 m). Cork oak forest grows on metamorphic rocks (arenaceous schists). The site is well representative of southern Sardinia cork oak formations and land use.

Table 3. Geomorphology and soil description of the Tunisian sample sites

Site	Geomorphology	Soil classification and profile	Pedon
Mekna (Tabarka)	Quaternary detritus and sandstone colluviums ("grès"). Flat. Slope <1%. Alt.: 8m u.s.l.; exp. -	TYPIC DYSTROXEREPT (Ln/Lv-Fz-Hz-A ₁ -A ₂ -AB-BwC-C)	1
Mekna (Tabarka)	Quaternary detritus and weathered sandstone colluviums ("grès"). Foot of slope. Slope 10%. Alt.: 15m u.s.l.; exp. NW.	ULTIC HAPLOXEROLF (Ln-Fz-A-Bt ₁ -Bt ₂)	2
Mekna (Tabarka)	Quaternary aeolian sandy deposits. Flat. Slope <1%. Alt.: 6m u.s.l.; exp. -	DYSTRIC XEROPSAMMENT (Ln-Fz-A ₁ -A ₂ -C)	4
Bellif (Nefza)	Weathered sandstone colluviums (strongly oxidized "grès"). Midslope. Slope 15%. Alt.: 50m u.s.l.; exp. W.	TYPIC RHODOXEROLF (A-Bt ₁ -Bt ₂)	3
Tebaba (Nefza)	Quaternary detritus and sandstone colluviums ("grès"). Midslope. Slope 20%. Alt.: 150m u.s.l.; exp. E	DYSTRIC XERORTHENT (A-C)	5

The study of cork forests in different land use and management conditions, allowed to evidence some effects of direct human activities (grazing, ploughing) and indirect actions (forest wildfires). Soil surveys and mineral analysis confirm the relationships between land use and forest soil degradation, erosion processes, loss of fertility and organic matter: quality and amount of organic matter are very important factors of soil stability, renovation and regeneration of degraded cork oak forests. Tunisian forest soils showed a reduced organic matter content in A horizons, in comparison with other study areas. A great difference in renovation degree appeared between protected and free areas: survey in the Mekna forest, partially fenced against grazing (pedons 1, 2 and 4), had a resourceful cork oak renovation (about 22.000 to 30.000 sprout/ha), while in Bellif site (pedon 3), because of overgrazing, renovation is almost absent except few young seedlings (about 500 to 700 sprouts/ha) protected by the shrubs which kept more humidity and organic matter. Pedon 5 (cork oak reforestation site close to grazing place) had more organic matter because of its dense maquis around plantations. Only pedons 1, 2, 4 have a forest floor above the topsoil.

In Sardinia, on basaltic substrata, pedon 6 (ploughed), is less deprived from forest floor and organic matter than pedon 7 (6,76% vs 9,62%). Flat morphology has an important role in maintaining soil fertility. Pedons 8 to 14, on intrusive rocks, showed a typical moderate organic matter content in all A horizons. Humus forms were observed only in pedons 8 and 9, which are representative of cork oak forest soils. Pedons 13 and 14, were cork oak was

subjected to wildfire in the ninety's, are now shallows because of erosion processes and subsequent regression to entisols. Cork oak renovation is absent and recovering is difficult because of ecological disequilibrium and slow soil formation time. Similarly, pedons 15, 16 and 17, always on granites, are subjected to intense ploughing and grazing. Organic matter content is very low (< 2%) and loss of fertility is a clear consequence of long time irrational practices and unsustainable land use.

Table 4. Geomorphology and soil description of the Sardinian sample sites

Site	Geomorphology	Soil classification and profile	Pedon
Abbasanta (Planargia)	Basaltic plateau. Flat. Slope <1%. Alt. 310m u.s.l.; exp. -	DYSTRIC XERORTHENT (Ap ₁ -Ap ₂ -C)	6
Abbasanta (Planargia)	Basaltic plateau. Flat. Slope <1%. Alt. 300m u.s.l.; exp. -	TYPIC DYSTROXEREPT (Ln/Lv-Fz-Hz-A-BwC)	7
Tempio P. (Gallura)	Quaternary detritus on leucogranites. Midslope 15%. Alt.: 450m u.s.l.; exp. NW	TYPIC DYSTROXEREPT (Ln/Lv-Fz-Hz-A-Bw-C)	8
Calangianus (Gallura)	Intrusive rocks (granites). Midslope. Slope 5%. Alt.: 430m u.s.l.; exp. NW	TYPIC DYSTROXEREPT (Ln/Lv-Fz-Hz-A-Bw-C)	9
Calangianus (Gallura)	Weathered granites. Top of slope. Slope 12%. Alt.: 460m u.s.l.; exp. NW	TYPIC DYSTROXEREPT (A-Bw-BC-C)	10
Calangianus (Gallura)	Weathered granites. Midslope. Slope 15%. Alt.: 410m u.s.l.; exp. NW	TYPIC DYSTROXEREPT (A-Bw-BC-C)	11
Calangianus (Gallura)	Low weathered granites. Foot of slope. Slope 8%. Alt.: 400m u.s.l.; exp. NW	TYPIC DYSTROXEREPT (A-Bw-C)	12
Calangianus (Gallura)	Low weathered granites. Midslope. Slope 10%. Alt.: 500m u.s.l.; exp. W	DYSTRIC XERORTHENT (A-C)	13
Calangianus (Gallura)	Low weathered granites. Midslope. Slope 12%. Alt.: 480m u.s.l.; exp. W	DYSTRIC XERORTHENT (A-C)	14
Oschiri (Gallura)	Weathered granites. Top of slope. Slope 5%. Alt.: 250m u.s.l.; exp. SW	DYSTRIC XERORTHENT (A-C)	15
Oschiri (Gallura)	Weathered granites. Midslope. Slope 10%. Alt.: 220m u.s.l.; exp. SW	DYSTRIC XERORTHENT (A-C)	16
Oschiri (Gallura)	Weathered granites. Foot of slope. Slope 10%. Alt.: 190m u.s.l.; exp. SW	TYPIC DYSTROXEREPT (A-Bw-C)	17
Ortueri (Barigadu)	Metamorphic r. (metaquartzites). Midslope. Slope 15%. Alt.: 550m u.s.l.; exp. NE	TYPIC DYSTROXEREPT (Ln-Fz-A-Bw-C)	18
Ortueri (Barigadu)	Metamorphic r. (metaquartzites). Midslope. Slope 10%. Alt.: 525m u.s.l.; exp. NE	TYPIC DYSTROXEREPT (Ln-Fz-Hz-A-Bw ₁ -Bw ₂ -C)	19
Antas (Iglesiente)	Arenaceous and shales schists. Top of slope. Slope 25%. Alt.: 350m u.s.l.; exp. SE	TYPIC DYSTROXEREPT (A-Bw-C)	20
Antas (Iglesiente)	Arenaceous and shales schists. Midslope. Slope 35%. Alt.: 320m u.s.l.; exp. SE	TYPIC DYSTROXEREPT (Ln-Fz-Hz-A1-A2-Bw-C)	21
Antas (Iglesiente)	Arenaceous and shales schists. Foot of slope. Slope 20%. Alt.: 300m u.s.l.; exp. SE	TYPIC DYSTROXEREPT (Ln-Fz-Hz-A-Bw ₁ -Bw ₂)	22
Gureu (Iglesiente)	Arenaceous and shales schists. Midslope. Slope 5%. Alt.: 290m u.s.l.; exp. E	DYSTRIC XERORTHENT (A-C)	23
Gureu (Iglesiente)	Arenaceous and shales schists. Midslope. Slope 15%. Alt.: 260m u.s.l.; exp. E	DYSTRIC XERORTHENT (A-C)	24

A rational evaluation of the carrying capacity of the land was observed around pedons 18, 19 and 20, on metamorphic rocks, as confirmed by chemical analysis (organic matter >10% in A horizon) and humus forms incidence. Pedons 21, 22, 23 and 24, confirmed the relationships between land capability and land use: pedon 22 is representative of equilibrium state, while degradation occurred in the other sites and soil erosion was strongly conditioned by mechanization in agricultural practices.

Therefore, independently from substrata and pedogenesis processes, a sustainable land use may assure the natural resources conservation. It is also important to highlight the role of climate and geomorphology in the different land capability of the study areas.

Relationships between organic matter content and land use, taking in account the parent material, are summarized in Figure 2: a better amount of organic matter is in basaltic and metamorphic rocks and a lower content on granites and in Tunisian sites.

In all cases, a significant spatial variation of organic horizons was observed, with the presence of different phases of the same humus form. In burned or ploughed areas humus forms are absent because of erosion or mixing with mineral soil. In overgrazed areas, humus formation processes are slowed down or impeded locally. The large number of grazing livestock hindered cork oak regeneration; new path treading, inducing soil compaction, reduced the soil permeability and deteriorated the litter quality. Moreover, cork oak density and cover degree within varies considerably among the stands. These differences did not produce any significant variations in the vegetation composition but do lead to strong variability in sunlight penetration and microclimate, influencing the quality and thickness of organic horizons.

The analysis of relationships between chemical soil parameters revealed an important influence of organic matter towards cation exchange capacity (CEC) and base saturation (B.S.), as evidenced in Figure 3. In particular, the organic matter is more influential on CEC than the argillaceous fraction.

For all this reasons, reduction of organic matter by irrational land uses and wildfires caused a loss of general soil fertility and a degradation of physical characters (permeability, soil water content, soil temperature and moisture regimes).

Discussion

Field surveys aimed at determining similarities and differences associated with the degradation processes. It was observed that similar degradation problems were present in the Sardinian and Tunisian cork-growing areas; they are linked to the decay of existing cork oak forests, to the scarcity or absence of renovation and to soil erosion as well as to human activities. In particular, the major causes of degradation recognised in Sardinia are fire, ploughing and overgrazing, while in Tunisia they are fire, exploitation and overgrazing. Diseases and attack by leaf-eating insects only emphasized the problem.

Beside natural processes and vegetation dynamics, cork oak decline can be attributed to four main factors:

1. Fire: from the pedological point of view, the fire cause a degradation of microbiological activity, a loss of vegetation cover, an increasing the erosion risk which induce reducing or elimination of the organic matter supply. Important erosion processes generally follow the fire, especially along the steepest slopes, causing the loss of large soil quantities.

2. Ploughing: the forest is transformed into grazing or agricultural land with few plants cover and the trend to a progressive disappearance of cork oak trees. The loss of organic matter (more than 90% of original amounts) and the removal of organic soil horizons negatively affect the surface runoff rate and, consequently, the soil erosion.

3. Grazing: the overgrazing causes a compaction of surface soil horizons and reduces the water infiltration capacity. The consequence of this is increased surface runoff and soil erosion.

4. Leaf eating insects: these pests, which frequently consume cork oak leaves, produce greater damage in stands that undergo regular ploughing and where the typical natural shrub cover is absent. A biodiversity decline slows down the multiplication of insect natural enemies that are able to check insect pest proliferation.

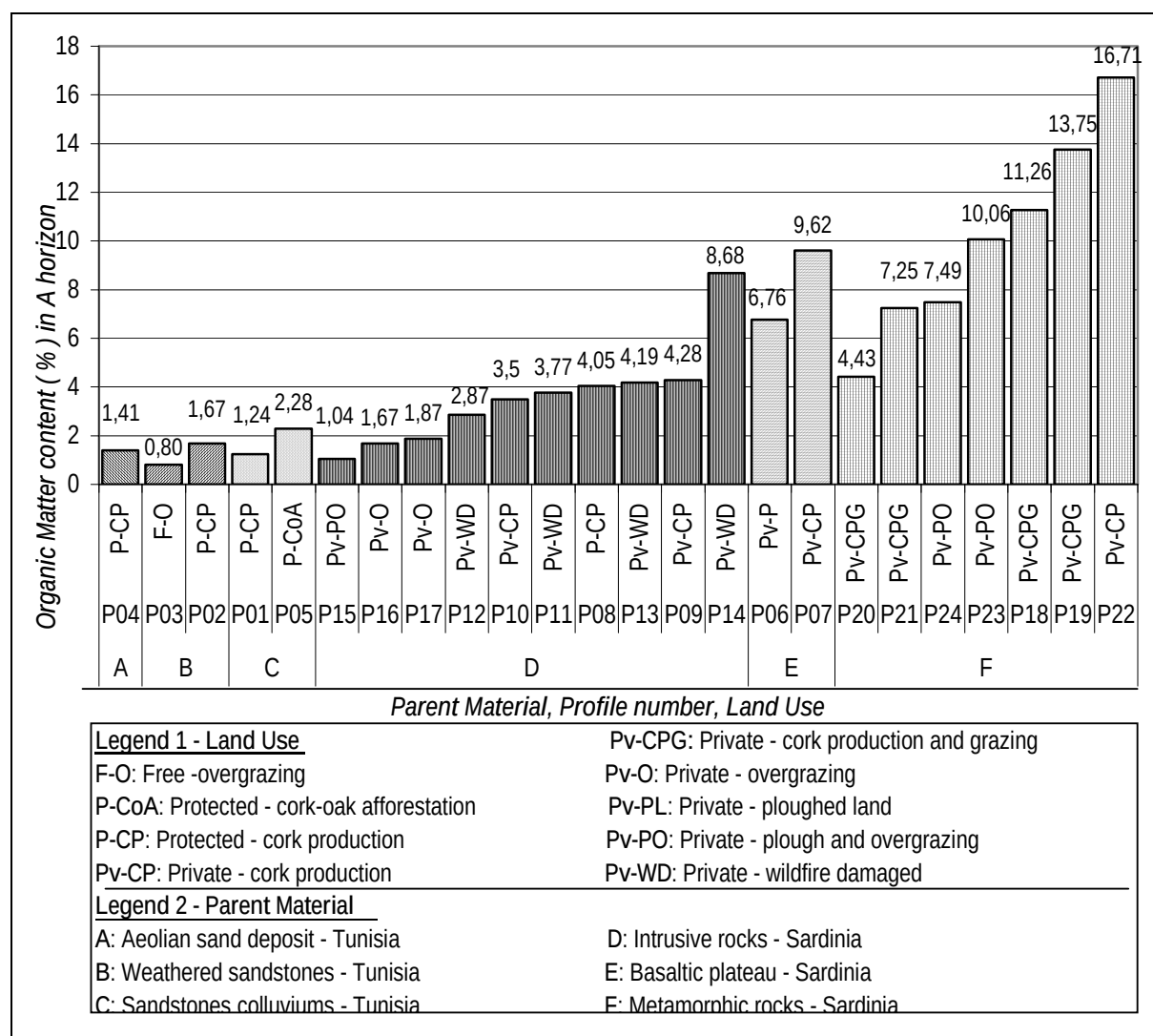


Figure 2. Organic matter content (%) in A horizon related with land use and parent material.

As cork largely contributes towards the economy of Sardinia and Tunisia, and exploitation of *Quercus suber* forests for cork production is compatible with environmental conservation, this type of land use should have priority over alternative uses. Irrational land uses, as fire setting to increase pasture areas, ploughing and overgrazing, cause vegetation and soil degradation that hinder renovation and may induce a complete loss of this resource. Therefore, cooperation between Mediterranean countries must be encouraged for planning strategies to preserve existing cork oak forests, to recover the degraded areas and to avoid an

increase of cork oak stand degradation. Finally, one must take into consideration which activities induced the degradation in order to forbid or regulate them.

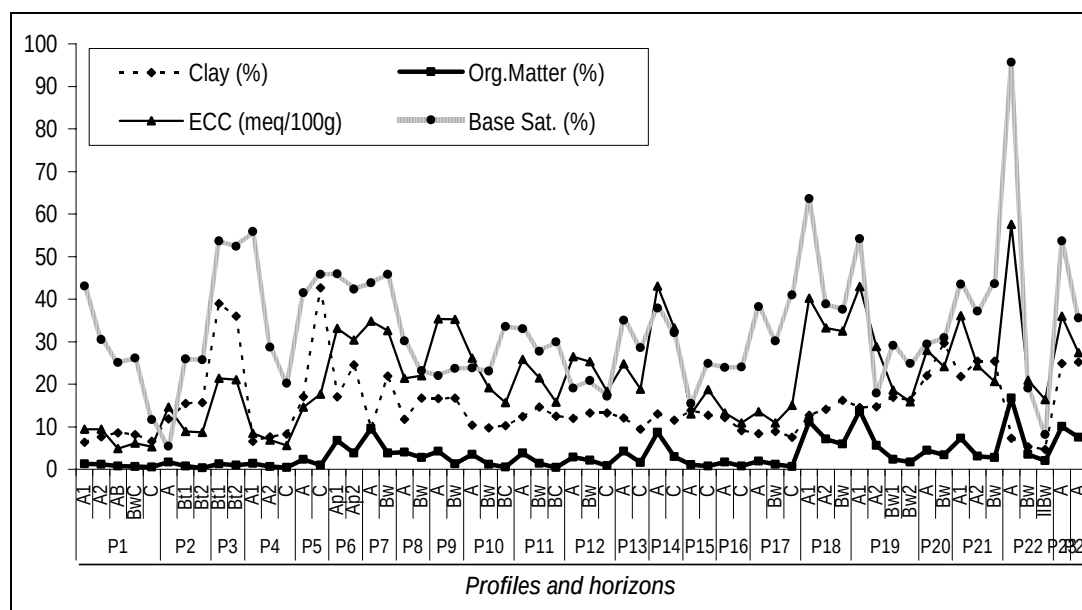


Figure 3. Relationships between different chemical parameters of the pedons.

Acknowledgements

These research projects have been financed in the years 1997-2003 by the L.R. 19/96, 43/90, and 26/96 of the Regione Autonoma della Sardegna, Scientific Responsible Prof. Angelo Aru.

References

- Aru, A., Baldaccini, P., Camarda, I., Trastu, S. & Usai, D. 1996: Prime considerazioni sulla degradazione delle aree sughericole in Sardegna. – *Agric. Ricerca*. 164-165-166: 93-112.
- Beccu, E. 1998: Il censimento delle superfici forestali dell'Isola e il ruolo del Corpo Forestale nella politica forestale regionale. In: *Atti della giornata preparatoria al Secondo Congresso Nazionale di Selvicoltura*. – *Not. For.* 10-11, suppl.: 17-27.
- Braun Blanquet, J. 1951: *Pflanzensoziologie. Grundzüge der Vegetationskunde*. – Springer-Verlag, Wien.
- Ministero delle Politiche Agricole e Forestali 2000: *Metodi di analisi chimica del suolo. Collana di metodi analitici per l'agricoltura*. – Franco Angeli Editore, Milano.
- Soil Survey Division Staff 1993: *Soil survey manual*. – USDA-SCS Agric. Handb. 18. U.S. Gov. Print. Office, Washington, D.C.
- Soil Survey Staff 1999: *Soil Taxonomy, second edition*. – USDA-NRCS. Agric. Handb. 436 U.S. Gov. Print. Office, Washington, D.C.

Impact des incendies et capacité de régénération d'une forêt de chêne-liège en Kroumirie (Tunisie)

Naoufel Souayah ¹, Rabeh Nsibi ¹, Mohamed Larbi Khouja ¹, Hichem Rejeb ²,
Sadok Bouzid ³

¹ Laboratoire d'écologie et d'amélioration sylvo-pastorale, INRGREF, BP 10-2080, Ariana-Tunisie, ² Ecole Supérieure d'Horticulture de Chott Meriem, ³ Faculté des Sciences de Tunis.
Naoufel.souayah@fsg.rnu.tn

Résumé : En Tunisie, le chêne liège est exposé à plusieurs fléaux, parmi lesquels, le feu demeure le plus redoutable. A l'instar des forêts méditerranéennes, c'est pendant la période estivale que les incendies sont les plus fréquents et les plus dévastateurs. Les dommages occasionnés pendant cette période sèche et chaude se trouvent fortement aggravés par la présence d'un sous-bois très inflammable et une pression humaine importante. La présente étude rend compte d'un incendie survenu en Kroumirie (Nord de la Tunisie) en août 2000, qui a ravagé plus de 3 000 ha de subéraie. Nous avons évalué son impact sur la capacité de régénération du chêne-liège après coupe. Le long de 20 transects comprenant une vingtaine d'arbres chacun, on a mesuré le taux et la vigueur des rejets afin d'évaluer la capacité de régénération du peuplement. Grâce aux propriétés isolantes du liège, le chêne-liège a bien résisté au feu et pu régénérer. Environ 50% des individus examinés ont produit des rejets. Ces rejets, à l'âge de 4 ans, se caractérisent par une morphologie juvénile et une croissance vigoureuse. Leur diamètre varie significativement selon la classe de diamètre de la souche. Des drageons et plants issus de semis ont été également observés. Les arbres non coupés présentent un développement végétatif à partir de bourgeons proventifs, mais les tiges correspondantes sont moins juvéniles.

Mots clés : *Quercus suber*, incendie, régénération, rejets de souche, morphogénèse

Introduction

Les incendies, avec l'action anthropique et celle des ravageurs, constituent la menace la plus grave pour la forêt, un écosystème d'une grande importance écologique et socio-économique pour la Tunisie comme pour toute la région méditerranéenne. En Tunisie, le domaine forestier s'étend sur 970 818 ha (DGF, 1995), soit 8,8% du territoire national ; il est constitué de 51,6% de forêts, 14% de maquis et garrigues arborées et 20,1% de maquis et garrigues non arborées. Les forêts naturelles sont composées essentiellement de pin d'Alep, de chêne-liège, de chêne zéen, de pin maritime, de chêne vert, de chêne kermès et de thuya, à l'état pur ou en mélange avec une ou plusieurs autres essences. Ces espèces majeures forment des futaies, mais aussi des matorrals arborés ou non dont la sensibilité au feu varie selon l'essence considérée. Quelles qu'en soient les causes, les surfaces incendiées en Tunisie représentent en moyenne 100 feux sur 1 600 ha chaque année (Alexandrian & Esnault, 1998).

Pour conserver ce patrimoine forestier, la science du feu s'est développée dans plusieurs pays (Europe, Amérique du nord, Australie, Afrique du sud, Brésil, Tunisie...) et à plusieurs niveaux tels que la prévention (formation, communication, prévision, sensibilisation, débroussaillage, législation forestière...), la gestion du feu (brûlage dirigé, tranchées pare-feu...) et la gestion post-incendie (analyse des causes, évaluation des dégâts, recépage des arbres incendiés, recommandations, politiques nationale et internationale pour maîtriser les

incendies...) (Seigue, 1985; Ferrandes, 1990; Vélez, 1990; Santelli, 1998; Schweithelm, 1998; Abdelmoula, 2001).

L'incendie du 31 Août 2000, dans la subéraie de Tabarka (Nord-ouest de la Tunisie), est survenu après plusieurs années de sécheresse. Bien que située dans l'étage humide, cette région accusait un déficit hydrique très élevé. Les chaumes de quelques graminées (*Poa bulbosa*...) ainsi que le maquis très inflammable ont permis le développement de l'incendie qui a ravagé plus de 3 000 hectares de subéraie.

Le recépage des arbres incendiés constitue une technique opportuniste (Schutz, 2004) pour stimuler le développement de rejets de souche et régénérer la forêt. Plusieurs études ont été menées pour analyser l'effet de la coupe après incendie sur la croissance des espèces végétales, la branchaison, la reproduction, la germination (Negro-Ortiz & Gorchoy, 2000 ; Reyes & Casal, 2001). On a remarqué que le nombre de feuilles et la vigueur des pousses augmentent après la coupe chez certains arbres incendiés (Hobbs & Atkins, 1999).

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à la régénération du chêne-liège après incendie, en essayant d'analyser les potentialités et les particularités morphogénétiques de cette essence après une coupe post-incendie.

Matériel et méthodes

Matériel végétal et site d'étude

Le chêne-liège est l'espèce feuillue autochtone la plus représentée en Kroumirie. Il couvre une superficie de 70 000 ha (Nsibi et al, 2004), soit 3% de la surface subéricole du bassin méditerranéen occidental et 14% de l'étendue forestière de la Tunisie.

Le site d'étude se trouve à Rouaissia, dans la région côtière de Tabarka, à une altitude de 200 mètres, sur un replat avec une pente de 12%. Cette station présente des sols bruns forestiers en aval et des sols érodés en amont.

D'après les données climatiques de l'Institut National de Météorologie, le gradient pluviométrique croît d'Est en Ouest et du niveau de la mer à 1000 m d'altitude. Les précipitations de la région sont caractérisées par des fluctuations fréquentes et des périodes sèches allant de 3 à 4 mois. Le vent dominant, de direction Nord-Est, a une vitesse moyenne de 11,5 m/s. Le maquis présent dans le site se compose essentiellement des espèces suivantes: *Erica arborea*, *Erica scoparia*, *Myrtus communis*, *Phillyria media*, *Halimium halimifolium*, *Daphne gnidium*, *Rubus ulmifolius*, *Cistus villosus*, *Cistus monspeliensis*, *Arbutus unedo*, *Smilax aspera*, *Asparagus acutifolius*, *Pistacia lentiscus*, *Genista* sp., *Urginia maritima*, *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas*, *Olea europea* ...

La dernière récolte de liège remonte à 1991 et l'âge du liège, au moment de l'incendie était de 11 ans environ.

Recépage

Après un recépage, effectué début novembre 2000, à 25-30 cm du sol, des chênes-lièges incendiés ont été échantillonnés et marqués suivant des transects en ligne de 100 m de long. Vingt transects, de 19 à 25 souches chacun, ont été sélectionnés. Le recépage a concerné également le maquis dont l'influence sur la régénération du chêne-liège est très importante.

Caractéristiques des arbres recépés

Des mesures ont été effectuées 18 mois après la coupe puis deux ans après, en septembre 2004. Les paramètres mesurés sur chaque pied sont : le diamètre de la souche, le nombre de rejets par souche, les hauteurs maximale et minimale des rejets, les diamètres maximal et minimal des rejets ainsi que la hauteur du maquis après coupe.

Les souches étudiées, au nombre de 486, ont été regroupées en classes de diamètre (Tab. 1). Des observations ont été effectuées également au niveau d'une parcelle voisine dont les arbres et le maquis n'avaient pas été coupés.

Tableau 1 : Classes de diamètre et nombre de chênes-lièges recépés et ayant rejeté après incendie.

Dia	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	Tot
NT	6	24	37	31	60	45	55	30	23	27	45	26	51	9	17	486
NR	0	0	9	18	53	43	49	25	11	8	5	1	2	1	0	225

Dia : Classe de diamètre ; NT : Nombre d'arbres recépés étudiés ; NR : Nombre d'arbres ayant rejeté

Résultats et discussion

Peuplements recépés

Quatre semaines après la coupe, les souches de chêne-liège incendiées et recépées commençaient à développer des tiges à partir de leur base. Ceci montre l'aptitude du chêne-liège à régénérer par rejets de souche. La couche de liège, âgée de 11 ans environ, a protégé les arbres. Cependant, les mesures prises après 18 mois (Tab. 1), montrent que plus de 50% des individus n'ont pas pu rejeter et ont succombé. Selon Seigue (1985), la mortalité après incendie des chênes pourvus d'un liège de 11 ans est inférieure à 5%. Nos résultats donnent une idée de l'intensité de l'incendie et des mauvaises capacités de résistance des arbres, probablement dues aux années de sécheresse successives et à la forte densité et inflammabilité du maquis (Gomila, 1993 ; Landman, 2000).

La figure 1 montre que les individus des classes de diamètre 10 et 15 n'ont pas rejeté. Ceci est peut être dû à la juvénilité de leurs tissus, à leur état affaibli et à la densité du maquis entourant le pied. Les individus de la classe 80 se sont montrés également incapables de produire des rejets. Ceux des classes 75, 70, 65 et 60 ont faiblement rejeté avec des taux inférieurs à 12%. Ceci est peut être dû à la présence de crevasses profondes dans l'écorce et de trous au cœur de la tige. Ces derniers, se trouvant à la même hauteur que le maquis, constituent une ouverture et un passage pour le feu à la base de l'arbre. Par ailleurs, le système racinaire mis à nu sous l'effet de l'érosion a été directement exposé au feu.

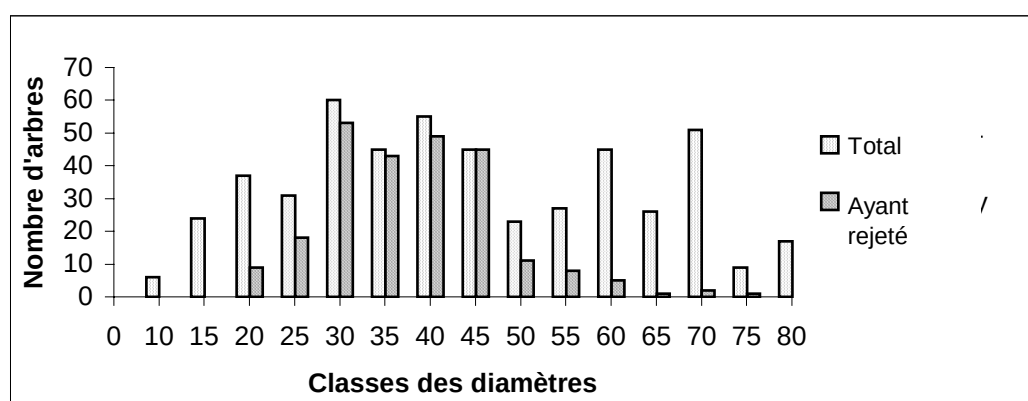


Figure 1. Capacité à rejeter des chênes-lièges incendiés et recépés selon la classe de diamètre

Les individus des classes de diamètre 20 et 55 ont rejeté avec des taux de l'ordre de 20%. Ce taux atteint 50% chez les individus des classes 25 et 50. La plus forte capacité à rejeter a été observée chez les individus des classes de diamètre 30 à 45, avec des taux supérieurs à 82%.

Si l'on considère seulement les arbres coupés (Fig. 2), ce sont aussi ceux des classes de diamètre 30 à 45 qui présentent les capacités à rejeter les plus élevées. Ces individus appartiennent à la tranche d'âge correspondant à la « vigueur optimale » du chêne-liège.

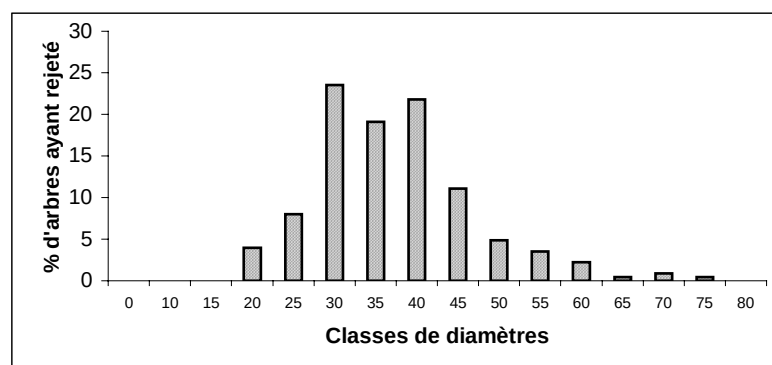


Figure 2. Nombre chênes-lièges incendiés et recépés ayant rejeté, selon la classe de diamètre.

Les rejets observés montrent une croissance continue et intense. Les unités de croissance mises en place sont régulières et présentent une rythmicité spatiale. Les tiges ont une pigmentation anthocyanique. Le limbe des feuilles a un contour fortement denté, semblable aux feuilles de germination. Ces aspects concordent avec le caractère juvénile et vigoureux de ces rejets. En effet, les bourgeons qui donnent naissance à ces rejets sont des bourgeons dormants situés à la base de l'arbre. En étant proche du système racinaire, ils expriment une juvénilité et une vigueur intenses. Ces comportements morphogénétiques ont été observés chez le chêne rouge (Guérard et al, 2001) et le chêne kermès (Legrand, 1996). Par contre, le nombre de rejets émis par l'arbre ne varie pas de façon notable entre les individus des différentes classes de diamètre. Lorsque la souche rejette, le nombre moyen de rejet est compris entre 15 et 20. Les figures 3 et 4 montrent une certaine homogénéité au niveau des diamètres moyens (maximal et minimal) comme des hauteurs (maximale et minimale) des rejets.

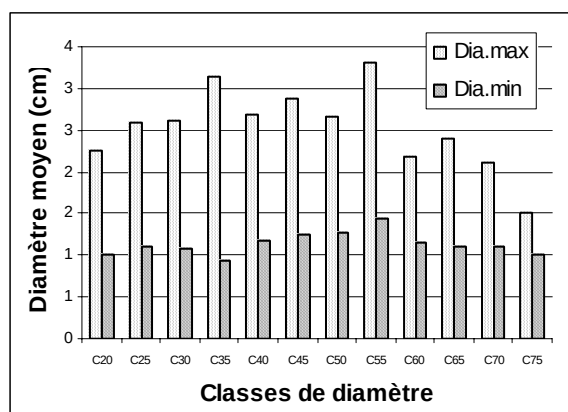


Figure 3. Diamètres moyens des rejets par classe de diamètre

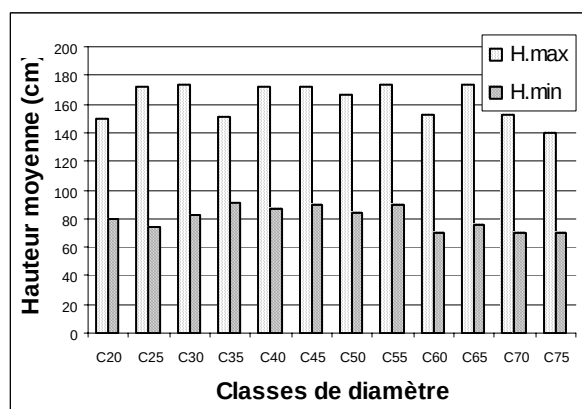


Figure 4. Hauteurs moyennes des rejets par classe de diamètre

L'analyse de la variance (Tab . 2) n'a pas décelé de différences significatives entre classes de diamètres pour l'ensemble des paramètres mesurés, à l'exception du diamètre maximum des rejets, qui est plus élevé pour les diamètres de souches compris entre 35 et 55 cm. La souche mère a tendance à favoriser la croissance en épaisseur de l'un des rejets aux dépens des autres. Le diamètre des rejets est le résultat de l'activité cambiale et l'activité phellodermique. Ces tissus de méristèmes secondaires sont en effet responsables de la croissance en épaisseur chez les dicotylédones. Le phelloderme du chêne-liège possède une activité remarquable, produisant le phellogène du côté interne et du liège du côté externe. Les arbres incendiés montrent une forte activité cambiale (Legrand, 1996), alors que les bourgeons dormants des arbres non incendiés demeurent en phase de repos.

Tableau 2. Analyse de la variance des différents paramètres mesurés sur les rejets de chênes-lièges recépés, en relation avec les classes de diamètre des arbres

ANOVA	Paramètres mesurés				
	Nombre de rejets	Hauteur max. (cm)	Hauteur min. (cm)	Diamètre max. (cm)	Diamètre min. (cm)
Moyenne	17,3	167,8	85,1	3,3	1,1
DL	117	117	117	117	117
CM	43,11	903,89	448,68	205,94	0,21
F	1,35	0,79	1,01	360,78	1,20
p>F	0,056 NS	0,889NS	0,476NS	<0,0001	0,171NS

Par ailleurs, les observations sur le maquis ont montré que plusieurs espèces se sont régénérées par rejet de souche ou par drageons (*Pistacia lentiscus*, *Erica arborea*, *Erica scoparia*, *Myrtus communis*, *Genista* sp., *Olea europea*...), ce qui est une des caractéristiques des espèces arbustives méditerranéennes (Gomila, 1993). D'autres se sont régénérées par semis (Poaées, Lamiacées..). Suite à l'incendie et à la coupe des chênes-lièges et du maquis, des espèces de milieu ouvert se développent et modifient ainsi la dynamique de la végétation (Bradstock & Myerscough, 1981; Negro-Ortiz & Gorchoy, 2000). En Mai 2002, la hauteur maximale moyenne des différentes espèces du maquis ne dépasse pas 70 cm. Les mesures effectuées en 2004, au niveau du même maquis, révèlent que la hauteur moyenne maximale a atteint 1,30 m. Les rejets de souche du chêne-liège ont alors atteint une hauteur moyenne de l'ordre de 3,3 m. N'ayant pas subi de forte compétition avec le maquis, ces rejets se sont bien développés et ont donné des tiges vigoureuses cent pour cent végétatives, synthétisant une couche de liège homogène.

Peuplements non recépés

Le diagnostic porté sur le peuplement incendié n'ayant subi aucune intervention de récupération montre que l'aptitude naturelle du chêne-liège à survivre aux incendies est évidente. La reprise d'activité de l'arbre se manifeste dans la strate haute à partir des bourgeons proventifs de la cime. Cette reprise reste aléatoire et ne couvre pas toute la partie aérienne du végétal. Plusieurs tissus, essentiellement des tissus méristématiques rhizo-caulinaires sont affectés à différents niveaux. Les nouvelles tiges possèdent des feuilles d'aspect adulte (contour du limbe arrondi, pigmentation verte..) et sont différentes de celles observées sur les rejets de souches. Certains individus sont déjà fructifères 4 ans après l'incendie. Au niveau des racines, l'association symbiotique racine-mycorhize, contribuant entre autres à la protection de l'arbre (Machada & Santos, 2002), est probablement détruite

(Lavender & Newton, (1985), de sorte que peuplement incendié et non recépi conserve un état physiologique général perturbé. Les individus dont la partie sommitale est complètement calcinée développent quelquefois des rejets, suite à l'élimination de la dominance apicale. Cependant, ces rejets sont peu vigoureux et complètement dominés par le maquis très dense.

Les individus affaiblis par l'incendie sont plus sensibles aux différentes agressions ; en favorisant le développement de certains agents biotiques, comme les platypes ou les champignons, ils peuvent constituer des foyers de pullulation de ces antagonistes, qui contribuent alors au déclin accéléré du peuplement (Hartmann, 1992) et au dépérissement de la subéraie tunisienne (Ben Jemâa et al, 2002).

Conclusion

Pour assurer une reprise potentielle homogène de la subéraie incendiée, on a eu recours au recépage. Après la coupe systématique de la végétation arborescente et arbustive dans une parcelle de chêne-liège incendiée, près de 50% des souches ont été capables de rejeter. Grâce aux propriétés isolantes du liège, le chêne-liège a bien résisté au feu. Les souches, qui ont le mieux rejeté ont un diamètre compris entre 30 et 45 cm. En dehors de cet intervalle, les potentialités de régénération des souches diminuent significativement. Les rejets de souche, après quatre ans de développement, ont montré une croissance exclusivement végétative. Il s'agit vraisemblablement d'un retour à la juvénilité. Par ailleurs, les souches qui ne régénèrent pas permettent un plus grand développement du maquis.

Les capacités de reprise des souches varient cependant selon la nature du sol (sol riche en matière organique ou non) et le type de sous-bois (inflammabilité et combustibilité variable selon la composition et la densité du maquis) (Gomila, 1993). La régénération dépend aussi du stade ontogénétique des différents individus et de la conduite du peuplement (Legrand, 1996).

Le chêne-liège est très résistant au feu et régénère rapidement après un incendie, mais la production de liège commercialisable et celle des glands est fortement compromise. Au niveau des pieds incendiés et non coupés, des bourgeons se développent à différents niveaux (base ou cime) et un système physiologique perturbé s'installe, freinant l'activité normale de l'arbre. En revanche, le recépage permet d'obtenir des rejets de souche plus rapidement, puisque le démarrage des bourgeons se fait à la base. En conservant le rejet dont le diamètre est maximal et en éliminant les autres, on pourrait valoriser la subéraie incendiée et accélérer son rétablissement et sa productivité.

Quant aux individus irrécupérables, ils peuvent être remplacés par de jeunes plants de chêne-liège issus de semis, en respectant une densité convenable du peuplement, de façon à favoriser le rajeunissement de la subéraie vieillissante et augmenter sa diversité génétique. L'introduction d'autres espèces à faible inflammabilité et combustibilité, telles que le cèdre de l'Atlas (Ferrandes, 1990), dans les sites les plus appropriés peut contribuer à la diversification de la forêt, élément crucial pour sa durabilité et sa résistance aux incendies et aux autres fléaux.

Références

- Abdelmoula, K. 2001 : Caractérisation fine du combustible, dynamique d'embroussaillage et impact écologiques du débroussaillage sur les coupures de combustible du massif de Dj. Mansour (Tunisie). – 42 pages.

- Alexandrian, D. & Esnault, F. 1998 : Politiques nationales ayant une incidence sur les incendies de forêt dans le bassin méditerranéen. – Réunion de la FAO sur les politiques nationales ayant une incidence sur les incendies de forêt. Ed. FAO forêts 138 : 45-66.
- Ben Jemâa, M.L., Mnara, S., Villemant, C. & Khaldi, A. 2002 : *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera, Lymantriidae) en Tunisie : état actuel des connaissances et perspectives de recherche. – IOBC/Wprs Bull. 25 (5) : 101-108.
- Bradstock, R.A. & Myerscough, P.J. 1981 : Fire effects on seed release and the emergence and establishment of seedlings in *Banksia ericifolia* L.f. – Aust. J. Bot., 29 : 521-31.
- DGF 1995 : Résultat du premier inventaire national forestier en Tunisie. – Direction Générale des Forêts, Ministère de l'Agriculture, Tunis, 88 p.
- Ferrandes, P. 1990: Quelques essences exotiques pour la constitution de peuplements méditerranéens à couvert dense. – Rev. For. Fr. 17, numéro spécial : 195-201.
- Gomila, H. 1993: Incidences du débroussaillage sur la flore, la végétation et le sol, dans le sud-est de la France. – Doctorat en Sciences, Aix-Marseille III, 195 pages + annexes.
- Guérard, N., Barthélémy, D., Cabanettes, A., Courdier, F., Trichet, P. & Willm, J. 2001. Influence de la compétition herbacée sur la croissance et l'architecture de jeunes chênes rouges d'Amérique (*Quercus rubra* L.) en plantation. – Ann. For. Sci. 58 : 395-410.
- Hartmann, C., 1992: La sénescence des végétaux. – Hermann, Paris: 13-24.
- Hobbs, R.J. & Atkins, L. 1990: Fire-related Dynamics of a *Banksia* Woodland in southwestern Australia. – Aust. J. Bot. 38 : 97-110.
- Landmann, G. 2000 : La santé des forêts françaises : bilan de l'année 1998 et nouveaux acquis. – Rev. For. Fr. 52(1) : 9-22.
- Lavender, D.P. & Newton, M. 1985: Forest regeneration and forest health. Impact de l'homme sur la forêt. – Symposium IUFRO, Colloques INRA : 215-236.
- Legrand, C. 1996: Régénération d'espèces arbustives méditerranéennes par rejets ou semis, après brûlage dirigé et pâturé. Conséquences sur la dynamique d'embroussaillage. – Thèse de Doctorat en Ecologie. Aix-Marseille. 92 pages.
- Machada, H. & Santos, M.N. 2002: La symbiose ectomycorhizienne du chêne-liège dans les plantations portugaises : synthèse des connaissances et perspectives. – IOBC/Wprs Bull. 25(5) : 61-66.
- Negron-Ortiz, V. & Gorchov, D.L. 2000: Effects of fire season and post fire herbivory on the cycad *Zamia pumila* (Zamiacées) in slash pine savana, Everglades national park, Florida. – Int. J. Plant. Sci. 161 (4) : 659-669.
- Nsibi, R., Souayah N., Khouja, M.L., Khaldi, A., Skhiri, A., Rejeb, M.N. & Bouzid, S. 2005 : Caractérisation de l'état de sénescence de la subéraie tunisienne. – IOBC/Wprs Bull. 28 (6): 33-39.
- Reyes, O. & Casal, M. 2001: The influence of seed age on germinative response to the effects of fire in *Pinus pinaster*, *Pinus radiata* and *Eucalyptus globulus*. – Ann. For. Sci. 58 : 439-447.
- Santelli, J. 1998: Communication de l'Office National des Forêts sur la régénération des forêts de chêne-liège varoises. – Annales de l'INRGREF, Numéro spécial, séminaire méditerranéen sur la régénération du chêne-liège : 48-62.
- Schutz, J.Ph. 2004: Opportunistic methods of controlling vegetation, inspired by natural plant succession dynamics with special reference to natural outmixing tendencies in a gap regeneration. – Ann. For. Sci. 61:149-156.
- Schweithelm, J. 1998 : Politiques nationales ayant une incidence sur les incendies de forêts dans la région Asie-Pacifique. Réunion de la FAO sur les politiques nationales ayant une incidence sur les incendies de forêt. – Etude FAO, forêts 138 : 13-38.

- Seigue, A. 1985: La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. Techniques agricoles et productions méditerranéennes. – Maisonneuve & Larose et Agence de coopération culturelle et technique, Paris, 502 p.
- Vélez, R. 1990 : La sylviculture préventive des incendies en Espagne. – Rev. For. Fr. 42, N.S.: 320-331.

Fire impact on cork oak regeneration capacity in Kroumirie (Tunisia)

Abstract: In Tunisia, the cork oak (*Quercus suber* L.) forest is exposed to several plagues, among which fire is the most alarming. Like other Mediterranean forests, it is during the summery period that the fires are the most frequent and most devastating. The damages caused during this dry and hot period are strongly aggravated by the presence of a very flammable undergrowth and people's interference. In the Kroumirie area (North of Tunisia), 3000 ha of cork oak forest were burned in August 2000. The objective of this study is to evaluate the effects of fire on the cork oak regeneration, after cutting back. We considered 20 transects of about twenty trees each. The trees were distributed into diameter classes. The rate and the vigor of sprouting were considered to evaluate the regeneration capacity. The observations and measures were done, in the first and second post fire years. Uncut burned trees were also followed. Because of the isolating cork properties, the trees survived and regenerated after fire ravage. About 50% of the trees regenerated. The sprouts were characterized by their vigour and morphological youthfulness. Their diameter significantly varies in relation to the diameter class of the trees. Suckers and seedlings were also observed. The burned uncut trees developed sprouts from dormant buds. These shoots were less vigorous.

Key words: *Quercus suber*, forest fire, regeneration, morphogenesis

L'aménagement intégré des forêts de chêne liège en Tunisie : cas des bassins versants de Sidi Barrak et Barbara

Habib Abid

Direction Générale des Forêts, 30 rue Alain Savary, 1002, Tunis, Tunisie.

Résumé : La subéraie en Tunisie occupe une place particulière en tant que première ressource monétaire du secteur forestier et second type d'occupation des sols forestiers du pays. Le présent article présente l'approche et les méthodes d'intervention du projet de gestion intégrée des forêts notamment dans les bassins versant de Barbara en Khroumérie et de Sidi Barrak à Nefza-Bellif. Les objectifs d'intervention visent la gestion durable des forêts, l'application de nouvelles approches d'aménagement intégré et la vulgarisation des pratiques forestières en vue d'un développement durable et communautaire. Les fonctions multiples de la forêt sont considérées dans une optique d'aménagement intégré et le projet a un caractère participatif et multidisciplinaire impliquant tous les acteurs locaux concernés par l'espace forestier et ses environs.

Mots clés : Chêne liège, aménagement intégré, forêt méditerranéenne, Tunisie

Introduction

Les peuplements de chêne-liège en Tunisie, s'étendent dans le nord-ouest du pays, sur trois zones forestières : Khroumérie (87 000 ha de superficie potentielle), Nefza-Bellif (26 000 ha) et Mogods (36 500 ha), qui peuvent être divisés en deux ensembles. La subéraie orientale (Mogods et une partie de Nefza) a un faciès généralement pauvre et dégradé sous l'effet combiné des incendies, de l'exploitation et du pâturage ; réduite le plus souvent à un maquis de faible valeur économique, elle couvre de nos jours 27 500 hectares (DGF, 1995). Cette forêt dégradée a fait l'objet de projets de reboisement à base d'espèces introduites telles que pin pignon, pin maritime, eucalyptus et acacia, mais actuellement, le chêne-liège est introduit en mélange dans une perspective de revalorisation des espèces autochtones et pour une meilleure exploitation du liège sur le marché international. La subéraie occidentale (Khroumérie et partie ouest de Nefza), en relativement en bon état, couvre 45 500 hectares (DGF, 1995). Cette forêt, qui produit encore 80 000 à 100 000 quintaux du liège par an; demeure constamment menacée par la dégradation liée au feu, au surpâturage et aux défrichements provoqués par les riverains. Sur 150 000 ha de subéraie à l'origine, il n'en reste aujourd'hui que 73 000, dont 45 500 sont productifs et 27 500 ha dégradés (DGF, 1995).

Les peuplements de chêne-liège de Tunisie

La subéraie tunisienne a fait l'objet de deux inventaires forestiers et pastoraux nationaux (DGF 1995 et DGF 2000). Une cartographie d'occupation des sols à partir des photos aériennes digitalisées sur un système d'information géographique a été réalisée sur la quasi totalité de la zone.

La région de Kroumirie-Mogods est une bande étroite occupant presque toute la partie septentrionale de la Tunisie ; elle est limitée au Nord par la Méditerranée et au Sud par le principal cours d'eau du pays, la Medjerda. Elle couvre une superficie d'environ 300 000 ha,

correspondant aux gouvernorats de Jendouba, Béja et Bizerte. C'est la région forestière par excellence de la Tunisie. Le relief est souvent accidenté, atteignant des altitudes de 1 203 m à 400 m selon les secteurs. Les pluies abondantes, atteignent en moyenne 800 mm par an avec un maximum de 1 500 mm à Aïn Draham. La période estivale est souvent longue et sèche. La région s'insère dans les étages bioclimatiques humide et sub-humide et renferme la quasi-totalité des forêts de chêne-liège et de chêne zeen de Tunisie.

Les peuplements de chênes-lièges purs couvrent 69 348 ha et les peuplements mixtes de 16 423 ha ; ils sont localisés en majeure partie au gouvernorat de Jendouba (Tab. 1 et 2).

Tableau 1 : Superficies et distribution des subéraies pures en Tunisie (DGF, 2000)

Gouvernorat	Subéraie (ha)	%
Jendouba	49 142,397	71
Béja	14 066,821	20
Bizerte	6 139,221	9
Total	69 348,439	100

Tableau 2 : Superficies (ha) et distribution des peuplements mixtes de chênes-lièges (DGF, 2000)

Gouvernorat	chêne-liège, chêne zeen	chêne-liège, pin maritime	chêne-liège pin	chêne-liège, eucalyptus	Total (ha)
Jendouba	13 904,150	1 957,766	339,491	31,339	16 232,746
Béja	2,917	15,798	–	–	18,715
Bizerte	12,643	49,236	60,685	49,431	171,995
Total (ha)	13 919,717	2 022,800	400,176	80,770	16 423,456

L'espace méditerranéen : convergence et disparité

Les forêts de chêne liège couvrent la partie occidentale du bassin méditerranéen : Portugal, Espagne, France, Italie au Nord de la Méditerranée, Maroc, Algérie et Tunisie au Sud. Ces deux ensembles ont des caractéristiques différentes (M'hirit, 2004) :

Au Nord, un arrière pays dépeuplé, une colonisation par la forêt des terres de cultures abandonnées, une forte pression touristique, une dominance des forêts privées souvent mal exploitées et à faible rentabilité.

Au Sud, une croissance démographique élevée, une densité des populations rurales et forestières élevées, un niveau de vie et de revenu faibles, une forêt essentiellement publique, une activité sylvo-pastorale dominante et une surexploitation des ressources naturelles.

Sont considérées comme des populations forestières celles qui vivent à l'intérieur ou à proximité des forêts. En Tunisie, les populations forestières sont estimées à environ 1 000 000 de personnes¹, soit 150 000 ménages, ce qui représente 10% de la population totale du pays et 30% de la population rurale (DGF, 2001). Elles sont pour l'essentiel localisées dans le nord-ouest et le centre-ouest. Même si toutes ne sont pas légalement usagères des forêts domaniales, elles ont besoin de la forêt. Leurs caractéristiques sont les suivantes :

¹ Les estimations sont variables. Le chiffre fourni actuellement (800 à 900 000 personnes) date de 1975. Il a été confirmé en 1987. En appliquant un taux d'accroissement annuel de 1,5% seulement, la population forestière actuelle serait de 1 160 000 personnes

- forte densité, souvent supérieure à 90-120 personnes au km² dans les Mogods et en Kroumirie ;
- habitat relativement dispersé : les douars comportent souvent entre 10 et 30 ménages, rares étant ceux qui dépassent 60 ménages ;
- existence d'une émigration saisonnière importante des jeunes hommes vers les centres urbains côtiers ;
- taux de chômage et de sous-emploi élevé, notamment chez les jeunes ;
- taux d'analphabétisme parmi les plus élevés des zones rurales, notamment chez les femmes ;
- forte dépendance des ménages vis à vis des revenus provenant des activités forestières (chantiers forestiers, collecte de PFNL, fabrication de charbon de bois) ;
- faiblesse des revenus agricoles ;
- importance économique et valeur sociale élevée de l'élevage ;
- ressources en eau et sol réduites, insuffisantes pour assurer la subsistance du ménage ;
- grande vulnérabilité (réserves très réduites, forte dépendance à l'assistance de l'Etat), marginalisation importante des femmes et des jeunes ;
- rapports souvent conflictuels avec l'administration des forêts à cause de la répression des délits, des conflits fonciers et des mises en défens de longue durée.

L'aménagement de la subéraie

La subéraie méditerranéenne fait face aux enjeux d'une gestion multifonctionnelle. Son développement durable nécessite de considérer ces espaces du point de vue écologique, mais aussi en tant que richesse économique et bien social. Quatre enjeux majeurs sont à distinguer :

- écologique (environnemental) : préserver les écosystèmes et leur biodiversité ce qui implique une connaissance de leur structure et de leur fonctionnement ;
- foncier : conserver la forêt, stabiliser voire augmenter les surfaces et valoriser toutes les ressources, ce qui implique tout un développement local ;
- social : gérer les conflits d'intérêt face à la pluralité des usages, ce qui implique un processus participatif et de partenariat ;
- économique : exploiter rationnellement sans détruire, ce qui implique un processus de négociation et une co-viabilité de l'ensemble écosystème-usagers.

Approche pour l'aménagement intégré de la subéraie

Principe général : une forêt multifonctionnelle gérée selon une approche intégrée et participative.

Les fonctions d'intérêt général (environnemental, social, économique), les fonctions de production et de protection doivent être considérées simultanément, ce qui implique une action intégrée faisant participer tous les acteurs locaux, dans un contexte :

- spatial : l'unité d'aménagement à considérer est la/ou les séries forestières ou encore un bassin versant avec tous les écosystèmes forestiers, agricoles et ruraux présents.
- multisectoriel et simultané: aménagement intégré du territoire par des actions forestières, de conservation des eaux et du sol, des ressources en eau, des infrastructures, un développement agricole, ...
- social: développement, animation et transfert des activités aux populations locales.
- économique, social et environnemental: palier aux impacts négatifs des barrages, contribuer à la sécurité alimentaire et à la mobilisation des eaux.

Un modèle de mise en œuvre des composantes de la stratégie forestière nationale

Ces éléments ont été traduits en activités et sous activités dans le cadre du projet de gestion intégrée des bassins versant de Sidi Barrak (Béja) et Barbara (Jendouba) (Abid et al., 2002).

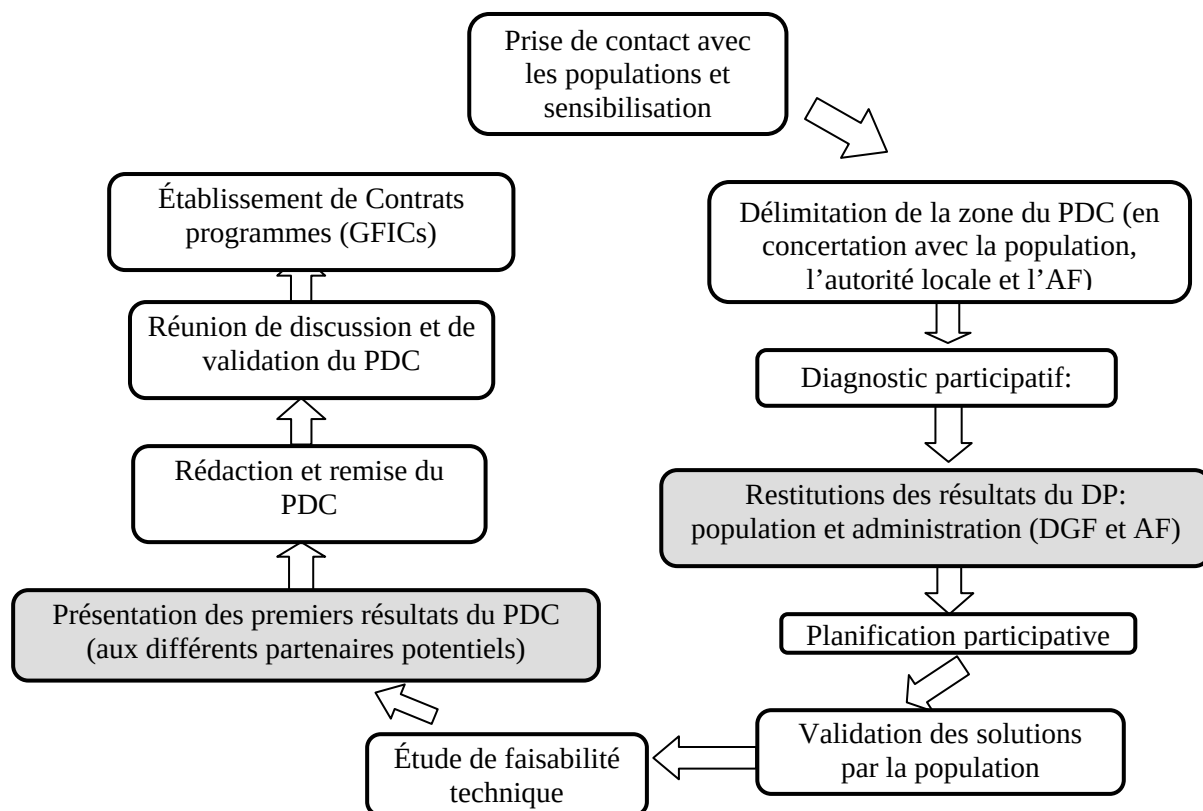


Figure 1. Etapes d'élaboration du Plan de Développement Communautaire (DGF, 2005)

Régénération de la subéraie :

- plantations
- coupes de rajeunissement (rejets de souches)

Interventions sylvicoles :

- coupes sanitaires
- éclaircie des peuplements denses
- dégagement du maquis
- favorisation de la régénération naturelle là où elle s'installe

Infrastructure de protection contre les incendies :

- ouverture et réhabilitation des pistes
- parcellaire, tranchées pare feux,
- poste vigie, points d'eau, ...

Extension de la subéraie :

- plantation
- semis directs sur sol préparé mécaniquement
- cloisonnement des anciens peuplements artificiels (résineux et feuillus) situés dans l'aire du chêne liège après constatation du développement remarquable du chêne-liège. Cette dernière opération permet la récupération des terrains forestiers ayant les potentialités d'une subéraie de production.

Production de plants de chêne liège :

- aménagement des peuplements semenciers.
- conservation des glands
- modernisation et extension des pépinières en vue d'une production suffisante de plants de chêne liège hors sol.

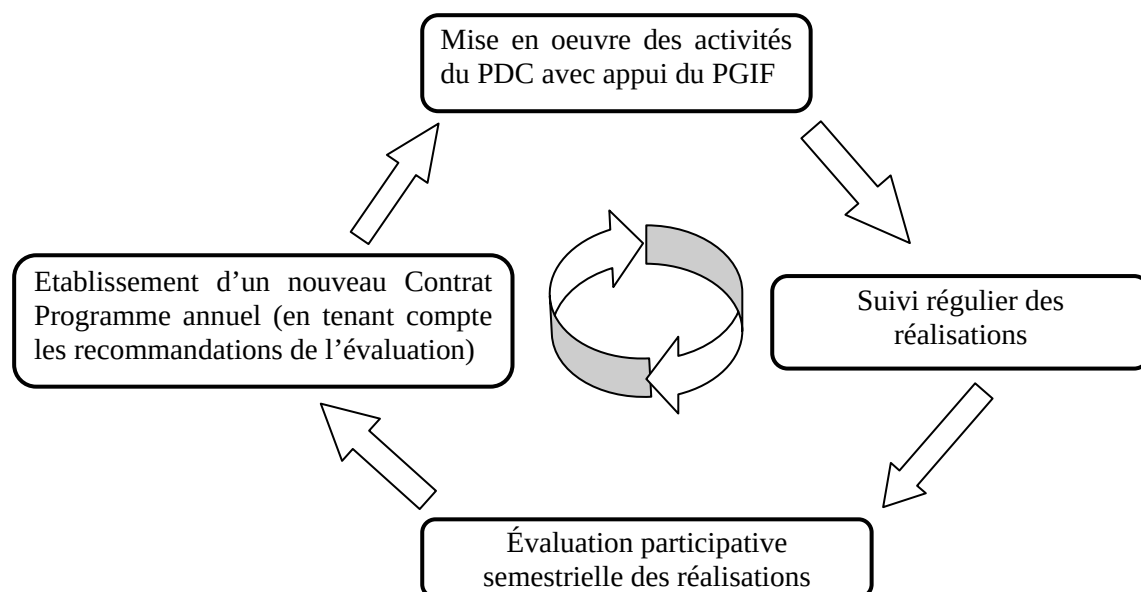


Figure 2. Etapes de mise en œuvre, suivi et évaluation du Plan de Développement Communautaire (DGF, 2005)

Population forestière :

- élaboration et application de PDC (plans de développement communautaires) selon les étapes de la figure 1. Elles s'intègrent dans la spirale du développement et doivent être suivies par d'autres, illustrées dans la figure 2.

Mesures d'accompagnement :

- formation de techniciens spécialisés en subériculture
- formation d'ouvriers collecteurs de liège
- assistance technique dans l'identification et l'exécution des opérations sylvicoles, des reboisements, de la régénération, de la collecte des glands, ...
- financement et exécution de thèmes de recherche-Développement adaptés aux besoins et aux réalités du terrain
- valorisation des produits de la subéraie (liège, bois, produits secondaires)
- réalisation d'un schéma directeur et orientations pour la gestion durable de la subéraie (en cours)
- étude d'aménagement intégré de 32 000 ha de forêts de chêne-liège (en cours)
- stockage et traitement des glands de chêne-liège
- protection phytosanitaire de la subéraie.

Conclusion

Les impacts de ce projet sont attendus à différents niveaux, notamment :

Environnemental

- maintien de la pérennité des forêts ;
- diminution de l'érosion, accroissement de la biodiversité ;
- stabilisation et amélioration de la fertilité des sols agricoles.

Technique

- amélioration des connaissances techniques ;
- mise au point et application de la gestion participative ;
- adaptation des axes de recherches aux réalités du terrain.

Social

- sensibilisation de la population forestière ;
- amélioration du niveau de vie ;
- établissement de la vie communautaire.

Economique

- rentabilité des barrages assurée ;
- augmentation des productions forestières et agricoles ;
- promotion du secteur privé.

Institutionnel

- amélioration de la gestion forestière ;
- formation de techniciens forestiers ;
- association de la population, des ONG et du secteur privé.

Références

- Abid, H., Ben Jamaa, M.L. & Mongi, B.M., 2002: La subéraie tunisienne, biodiversité et paysage. – Colloque Vivexpo 2002. Vivès, France.
- DGF, 1994 : Stratégie nationale de développement du secteur liège en Tunisie. – Direction générale des Forêts, Tunisie.
- DGF, 1995. Inventaire Forestier et Pastoral National, IFPN. – Direction générale des Forêts, Tunisie.
- DGF, 2000 : INFOTEL. Projet inventaire des forêts par télédétection. – Direction générale des Forêts, Tunisie.
- DGF, 2001. Stratégie nationale de développement forestier et pastoral. – Direction générale des Forêts, Tunisie.
- DGF, 2005. Projet de Gestion Intégrée des Forêts, composante de développement socio-économique, Rapport annuel. – Direction générale des Forêts, Tunisie.
- M'hirit O., 2004. Critères pour la gestion multifonctionnelle de la forêt méditerranéenne. – CIHEAM, Salsona (Lleida).

**Integrated management of cork oak forests in Tunisa:
the case of the Sidi Barrak and Barbara hillside bassins**

Abstract: Cork-oak forest in Tunisia has a particular position because it represents the main forestry financial resources and the second forest floor occupation modality of the country. This paper presented the approach and intervention methods of the cork-oak stand integrated management project, notably on the hillside basins of Barbara in Khroumérie and Sidi Barrak in the Nefza-Bellif region. The general principle is that forest management can no longer be performed by only taking into account the forestry technical criteria but also by performing global management enabling forest populations to feel concerned and find their benefits.

Key words: cork oak, integrated management, Mediterranean forest, Tunisia

Les subéraies de l'ouest algérien : réhabilitation et plan d'action pour une contribution au développement intégré

Sabéha Bouchaour-Djabeur

*Département de foresterie, Faculté des sciences, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen,
BP 119, 13000 Tlemcen, Algérie, sabeha08@yahoo.fr*

Résumé : Dans l'ouest algérien, le dépérissement de la subéraie met en péril sa productivité et les conditions socio-économiques des populations riveraines. Proposer un plan d'action simple et souple, complémentaire du plan national de réhabilitation est apparu urgent et nécessaire. Notre démarche vise à une gestion partenariale de l'espace subéricole. Cette stratégie, sans être une panacée, permettrait d'assurer la pérennité de la subéraie tout en contribuant au développement intégré de la région.

Mots clés : chêne liège, ouest algérien, réhabilitation, agroforesterie, développement intégré

Introduction

A Tlemcen, les forêts Zarifet et Hafir, qui forment le plus grand massif de chêne-liège de l'ouest algérien, sont soumises à plusieurs facteurs de dépérissement (Bouchaour-Djabeur, 2001). Ces forêts n'étant ni entretenues ni correctement gérées, la récolte du liège diminue d'année en année. La région, très pauvre, a une économie de subsistance basée sur l'agriculture de montagne et l'élevage traditionnel. La cohabitation des gestionnaires forestiers et de la population riveraine y est basée sur des rapports de force. L'agroforesterie semble la meilleure solution pour assurer une participation effective de la population au développement intégré de la subéraie. Ceci implique une dynamique de développement des zones rurales. A côté du programme de réhabilitation forestier mis en oeuvre en 2001, nous proposons un plan d'action simple et souple, qui repose sur une bonne intégration de la population afin de réduire sa pression sur la forêt et sur une gestion technique rationnelle assurant la pérennité du patrimoine subéricole, sachant que le retour au terroir agricole est favorisé par les programmes de mise en valeur financés par l'Etat. L'assainissement et l'entretien des cépées ont permis de définir une norme technico-économique régionale (20 h/j/ha). Des brins d'avenir ont été sélectionnés pour obtenir plusieurs catégories de cépées et déterminer la norme d'éclaircie de la cépée modèle. La confection de cuvettes et le crochetage ont montré que cette technique, peu usitée en Algérie, favorise la productivité et la croissance des rejets. Nous présentons ici les réflexions tirées de premières réalisations entreprises.

Plan d'action multi-usages, simple et souple, pour les subéraies de Zarifet-Hafir

Notre plan de d'action reposera sur deux types d'opérations simultanées, une gestion technique adéquate et l'introduction de systèmes agroforestiers dans les zones les plus exposées à l'action anthropique. La subéraie sera divisée en trois unités de gestion.

Unité de gestion à production de liège

Elle comprendra les peuplements de chêne liège purs ou mélangés, en bon état ou jugés récupérables. Trois types d'interventions s'imposent : assainissement forestier, régénération naturelle et repeuplement par des glands pré-germés, placés à différentes profondeurs. La mise en défens stricte et l'assistance technique compétente soutenue sont nécessaires.

Unité de gestion à production de bois

Exceptés les peuplements à chêne vert et zeen, le reste du terrain sera constitué de reboisements de substitution à la subéraie très dégradée, avec maintien de quelques chênes-lièges éparses jugés récupérables. Les essences choisies seront à croissance rapide. Ces deux unités de gestion joueront un rôle essentiel dans la création d'emplois et la mise à disposition des espaces forestiers pour un pâturage organisé et concerté. Les produits dégagés lors des assainissements seront cédés gratuitement. Ces activités étant insuffisantes pour affermir la participation de la population, d'autres activités durables telles que l'utilisation des plantes du sous-bois (plantes médicinales, champignons) et l'artisanat seront envisagées.

Unité de gestion à systèmes agroforestiers

Des études britanniques ont montré qu'en conditions de fertilité moyenne, un projet agroforestier était plus rentable que les productions agricoles ou forestières pures (Guitton, 1994). La répartition et la taille des zones agroforestières se basent surtout sur la proximité et l'importance des villages. Le contrat pluriannuel résultant d'une concertation mutuelle induit un principe d'échange du droit d'usage contre l'entretien et la sauvegarde de l'espace environnant. Deux systèmes pourraient être développés :

- le type agro-sylvo-pastoral, qui fait l'objet d'une rotation dans le temps, repose sur les cultures extensives entre des plantations linéaires d'arbres forestiers et fourragers à croissance rapide et enracinement profond (frêne). Les cultures maraîchères et céréalières permettraient d'assurer un apport fourrager pour les troupeaux. Le tributaire assurera en contrepartie l'entretien régulier de l'espace forestier mitoyen ou des plantations intercalaires.
- le type sylvo-pastoral fait intervenir des parcours rotatifs à l'intérieur de la subéraie. Il se base sur une meilleure valorisation des potentialités fourragères. Les circonstances économiques actuelles obligent l'éleveur à choisir des techniques permettant de maintenir un élevage performant tout en sauvegardant et entretenant la végétation ligneuse.

Le développement durable de la forêt et l'amélioration des conditions de vie des populations riveraines implique une prise de conscience des pouvoirs publics et de la collectivité toute entière. Une aide financière et un amendement préalable du cadre juridique sont nécessaires pour atteindre ces objectifs dans le contexte socio-économique de la région.

Bibliographie

- Bouchaour-Djabeur, S. 2001: Diagnostic sanitaire de quelques subéraies de l'ouest Algérien. – Thèse Magister. Dépt. Foresterie. Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, 60 p.
- Guitton, J.-L. 1994 : Culture d'arbres à bois précieux. – Actes du colloque : Agriculteurs, agricultures et forêts. Cemagref, INRA, 147 p.

West Algerian cork oak forests: an action plan contributing to integrated development

Abstract: In West Algeria, oak cork decline endanger the forest production and the socio-economic conditions of the bordering populations. Beside the national rehabilitation plan, it appeared urgent and necessary to propose a complementary action plan. We aimed at introducing the agro-forestry system into a partnership management of cork-growing space. This strategy would ensure the everlastingness of the cork oak forest and contribute to the integrated development of the country.

Key words: oak cork, rehabilitation, action plan, protection, integrated development

Sustainable pasture improvement in a Sardinian *Quercus suber* L. forest *

Federico Sanna ¹, Sara Maltoni ², Salvatore Caredda ²

¹ Dpt. Scienze Agronomiche, Università degli Studi, Via De Nicola 1, 07100 Sassari, Italy

² CNR ISPAAM sez. Pascoli Mediterranei, Via De Nicola 1, 07100 Sassari, Italy

Abstract: Mechanical shrub clearance was carried out as an alternative to the use of blade dozers in a dense *Quercus suber* forest in a granitic area of central Sardinia, followed by fertilisation and/or oversowing of annual self-reseeding forage species. Preliminary results showed that fertilisation can increase DMY by up to 165% (90 Kg ha⁻¹ P₂O₅) and 214% (90 Kg ha⁻¹ P₂O₅ and 35 Kg ha⁻¹ N) with respect to the control (0.63 t ha⁻¹ DMY). Sown mixtures of *Medicago polymorpha* and *Trifolium subterraneum* achieved good establishment and contributed considerably to total yield (82%). The addition of *Lolium rigidum* to the mixture led to similar production levels (2.3 t ha⁻¹) but to a lower contribution of the sown species to total biomass (50%).

Key words: *Quercus suber*, oak forest, mechanical shrub clearing, pasture fertilisation, oversowing.

Introduction

Grazing pressure in forest areas often leads to intensive cultivation and to the use of inappropriate machinery which, besides damaging tree species, initiates soil degradation processes especially in moderate to high sloping areas. The use of blade dozers for forest shrub clearance followed by ploughing and sowing of annual forage species is a common practice, often leading to scarce and short-term productive results due to consequent erosion. The use of environmentally sound agricultural techniques (shrub clearing, fertilisation) in the most sensitive areas may lead to higher and more stable yields and to economically viable low impact production levels (Rivoira et al., 1997; Caredda, 1997).

Materials and methods

A dense *Quercus suber* L. forest area of 3500 m² in central Sardinia (740m a.s.l.; 40°22' N - 9°16' E) was mechanically cleared of shrubs (mostly *Cistus monspeliensis* L.). The soil, formed on granitic substrate, is loamy sand with good organic matter and nitrogen content, low P₂O₅ availability and pH 4.6.

Four treatments were compared with a cleared-only test (T₀) in a randomised block design with two replicates: 90 Kg ha⁻¹ P₂O₅ (T₁); 90 Kg ha⁻¹ P₂O₅ and 35 Kg ha⁻¹ N (T₂) and two mixtures of *Medicago polymorpha* L. cv "Anglona", *Trifolium subterraneum* L. cv "Campeda" and *Lolium rigidum* Gaudin cv "Nurra", at two sowing rates: 10-15-0 Kg ha⁻¹ with 90 Kg ha⁻¹ P₂O₅ (T₃) and 6-8-9 Kg ha⁻¹ with 90 Kg ha⁻¹ P₂O₅ + 35 Kg ha⁻¹ N (T₄). Seed and fertiliser were broadcasted and covered by trailing a wire net over the soil surface at the end of November 2003. Dry matter yield (DMY) and botanical composition of the sward were recorded in late spring (26/05/04) on four 1m² sampling areas per plot.

* Work supported by PIC Interreg III A France-Italy "Islands" Sardinia, Corsica, Tuscany

Results and discussion

The year was characterised by high rainfall from autumn (322 mm) to spring (216 mm in April and May) and by low winter temperatures.

P and NP fertilisation (T_1 and T_2) allowed a yield increase of 165% and 214% respectively compared to the control (0.63 t ha^{-1}). Moreover, the contribution of legumes to total biomass considerably increased in the P fertilised plots (Tab. 1).

Table 1. Dry matter yield and botanical composition of the swards in spring.

Treatment	DMY t ha^{-1}	Botanical composition %		
		grass	legumes	other
T0 - Control (mechanical clearance only)	0.63 d	39	5	56
T1 - P fertilisation	1.66 c	31	38	31
T2 - NP fertilisation	1.97 b	49	8	43
T3 - <i>T. subterraneum</i> and <i>M. polymorpha</i>	2.35 a	-	81*	19
T4 - <i>T. subterraneum</i> , <i>M. polymorpha</i> , and <i>L. rigidum</i>	2.34 a	30*	19*	51

* sown species

These preliminary results confirm that P and NP fertilisation is the simplest agronomic tool for the quantitative and qualitative improvement of natural pastures.

The production level achieved in the mixtures (T_3 and T_4) can be considered satisfactory in terms of yield (2.3 t ha^{-1}) and, for the legumes-only mixture (T_3), in terms of sown species contribution to total yield (82%).

These results must not be considered as favouring a generalised increase of the human impact on the forest environment. However, adequate grazing management to reduce total biomass should be considered a useful tool for wild fire prevention (Franca et al., 2003).

Acknowledgements

We thank the technical staff of the CNR ISPAAM section of Sassari: Salvatore Nieddu, Daniele Dettori and Piero Saba.

References

- Rivoira, G., Porqueddu, C. & Caredda, S. 1997: I rischi erosivi in condizioni di clima mediterraneo: la situazione in Sardegna. – *L'Informatore Agrario* 47: 69-72.
- Caredda, S. 1997: I pascoli, una risorsa agricola in Sardegna: evoluzione e prospettive. – Seminario: Aspetti produttivi e riproduttivi innovativi per l'ovinicoltura italiana: contributi del P.F RAISA, Macomer (Nu), 9 maggio 1997. Grafica Tiburtina, Setteville di Guidonia (Roma).
- Franca, A., Seddaiu, G. & Caredda, S. 2003: Two sylvopastoral approaches for the wildfire prevention in Sardinia. – *Il futuro del Mediterraneo verde (The future of the green Mediterranean)*. Proceedings of the final conference 1-2 June 2001: 108-117.

La subéraie en région de Ben Slimane (Maroc) : apport faunistique du pâturage

Fatima Agtay

¹ *Ecole Normale Supérieure de Casablanca, Département de Biologie, BP 9172 Mers Sultan-Casablanca, Maroc*

Résumé : Au Maroc, la subéraie souffre de plus en plus du surpâturage qui y cause d'amples dégâts notamment dans les régions semi-arides et en période de sécheresse. Cependant, les excréments déposés lors du parcours des troupeaux constituent une importante source de matière organique et hébergent des populations d'arthropodes abondantes et diversifiées dont la présence atténue considérablement l'impact négatif du bétail. Cette étude analyse l'apport faunistique de ces biochores dans la subéraie de Ben Slimane.

Mots clés : subéraie, pâturage, coprophages, Ben Slimane, Maroc.

Introduction

Le sud-ouest de la subéraie marocaine, dans les plaines semi-arides en particulier, est parsemée de dayas. Ces mares temporaires, la forêt limitrophe et les microbiotopes associés (fentes de retrait, dendrotelmes, bouses,...) s'influencent mutuellement, que ce soit au niveau de divers facteurs du milieu ou de leurs peuplements respectifs (Agtay, 2002, 2003). Cet écosystème complexe souffre de sa situation à la limite de son aire bioclimatique, de la succession des années sèches et surtout de la pression anthropique, qui s'est accentuée durant les deux dernières décennies, notamment dans la région de Ben Slimane, par une urbanisation et un pâturage accru (Agtay, 2004). L'envahissement de la subéraie par les constructions et les déchets ménagers a un effet néfaste évident (Agtay, 1986, 1999). Le pâturage, par contre, lorsqu'il est limité et pratiqué dans les dayas forestières, comporte de nombreux avantages. Deux microbiotopes résultent du passage des troupeaux, les empreintes de sabots et les excréments, qui sont des abris très recherchés des arthropodes. Cette étude met l'accent sur la contribution du pâturage à la richesse faunistique de la subéraie.

Matériel et méthodes

Les dayas forestières en pays Zaërs sont fréquentées par le bétail des premières pluies jusqu'en juin-juillet. La daya de Sekhret Ennemra, au nord-est de Ben Slimane, reçoit ainsi environ dix troupeaux par jour, comptant chacun 10 à 70 ovins (et des caprins de façon clandestine), 20 bovins et quelques équidés. Ces chiffres peuvent doubler au moment du souk de bétail. Les usagés sont des éleveurs de la périphérie de la ville et des douars voisins. Les années sèches, des habitants des régions du sud sont employés comme bergers (Rabbâa) par les riverains.

Les bouses de vaches (excréments les plus riches en faune), le sol sous-jacent et la faune associée ont été prélevés séparément dans des sacs en plastique. Les bouses récoltées sur les rives des dayas étaient d'âge moyen (2-3 j), en contact avec un sol pas trop humide, fermes, et en "monceau" ; cette forme étant la plus accueillante pour la faune coprophage (Théron et Bigot,

1971). Au laboratoire, les bouses sont émiettées et le sol déversé par petites quantités dans un récipient blanc et bien éclairé. Les animaux sont capturés à vue ou à la loupe binoculaire (Rougon et Rougon, 1978). Dans certains cas, la faune a été extraite par la méthode de Berlèse.

Résultats et discussion

La faune coprophile des bouses et des sols sous-jacents comprend 80 espèces d'Arthropodes réparties inégalement dans 9 groupes, dont les plus importants sont les Coléoptères (58 espèces), et les Hyménoptères Formicidae (8). Les détritivores comptent 30 espèces dont 19 coprophages. Il faut remarquer que, pour les mêmes stations et au cours de la même période, ces derniers sont mieux représentés sur les rives des dayas (36 espèces) que dans les bouses (Tab. 1). Les autres espèces sont des carnassiers (26), Staphylinidae et Histéridae surtout, attirés par les larves de Diptères et d'Aphodiidae, des phytophages (11) ou des omnivores (8). Ces deux dernières catégories sont représentées surtout par des Curculionidae et des fourmis, attirés par des éléments végétaux de la bouse (graines,...), ou venant y chercher un abri. Les peuplements coprophiles diffèrent qualitativement et quantitativement selon l'âge de la bouse, la succession des espèces évoluant en fonction de leur teneur en eau (Aouinty, 1986).

Tableau 3. Espèces coprophages prélevées au niveau des dayas forestières en pays Zaïers

Espèces	Lieu de prélèvement		Espèces	Lieu de prélèvement	
	Rive de daya	Bouse		Rive de daya	Bouse
GEOTRUPIDAE			SCARABAEIDAE		
<i>Thoretus distinctus</i> Marseul	+		<i>Scarabaeus laticollis</i> L.	+	
<i>T. trituberculatus</i> Reitter	+		<i>S. semipunctatus</i> F.	+	+
			<i>Gymnopleurus flagellatus</i> F.	+	
			<i>G. sturmi</i> Mac Leay	+	+
APHODIIDAE			<i>Copris hispanus</i> L.	+	+
<i>Aphodius erraticus</i> L.	+	+	<i>Chironitis furcifer</i> Rossi	+	
<i>A. hydrochaeris</i> F.	+		<i>Bubas bison</i> L.	+	
<i>A. satellitius</i> Herbst	+	+	<i>B. bubaloides</i> Janssens	+	+
<i>A. diecki</i> Harold	+	+	<i>Onitis numida</i> Castelnau	+	
<i>A. tersus</i> Erichson	+	+	<i>O. ion</i> Olivier	+	+
<i>A. lineolatus</i> Illiger	+	+	<i>Euoniticellus pallens</i> Olivier	+	
<i>A. ibericus</i> Harold	+	+	<i>Histeridium schreberi</i> L.	+	
<i>A. fimetarius</i> L.	+	+	<i>Onthophagus taurus</i> Schreber	+	+
<i>A. foetidus</i> Herbst	+	+	<i>O. hirtus</i> Illiger	+	
<i>A. sturmi</i> Harold	+		<i>O. maki</i> Illiger	+	
<i>A. granarius</i> L.	+	+	<i>O. vacca</i> L.	+	+
<i>A. maghribinus</i> Petrovitz	+		<i>O. nebulosus</i> Reiche	+	
<i>Platytomus tibialis</i> F.	+	+	<i>O. similis</i> Scriba	+	+
<i>Pleurophorus pannonicus</i> Petr.	+		<i>O. melitaeus</i> F.	+	
			<i>Euonthophagus crocatus</i> Mul.	+	+

Conclusion

Le pâturage n'a pas toujours un effet dégradant sur la subéraie. La concentration des troupeaux au niveau des dayas met la forêt à l'abri du damage et du surpâturage. De plus, les microbiotopes associés, empreintes de sabots et excréments de bétail, sont pour beaucoup d'Arthropodes d'excellents refuges contre les variations de température, le dessèchement et la prédation.

Les bouses sont une source de matière organique qui favorise la multiplication des coprophages, espèces utiles puisqu'elles jouent un rôle important dans l'aération du sol et son enrichissement en eau et en matière organique. (Agtay, 2002). En contribuant à la richesse faunistique et au réseau trophique de l'écosystème, les bouses compensent en partie l'impact négatif qu'exerce le bétail, notamment en piétinant le sol.

Dans la région de Ben Slimane, où plusieurs années sèches se sont succédées au cours des deux dernières décennies, le pâturage a diminué fortement au profit de l'élevage en étable, qui est le plus souvent subventionné par de riches citoyens.

Peu à peu les riverains risquent de se détourner progressivement de la pratique du pâturage, ce qui pourrait conduire à une raréfaction d'une partie de la faune utile. Il s'avère donc indispensable de faire connaître aux populations riveraines le rôle important du pâturage dans le fonctionnement de l'écosystème subéraie. Un programme tente aujourd'hui d'informer les populations des environs de Ben Slimane de l'importance de la subéraie et de tous les biotopes et microbiotopes qui en font partie. Il les sensibilise sur la fragilité de cet écosystème et sur tous les problèmes qui le menacent.

Deux moyens sont déployés pour mettre oeuvre ce programme : la formation continue des professeurs du secondaire des Sciences de la Vie et de la Terre et diverses activités assurées par un club scientifique d'environnement pour enfants : « Club la Semence Verte ». Ce club, qui comprend plusieurs antennes, a été créé en 1997 dans le cadre de l'Association des Oeuvres Sociales des Enseignants de l'E.N.S. de Casablanca.

Remerciements

Nous remercions Messieurs AlGoumi Mohamed et Nour Dris pour leur aide généreuse et efficace sur le terrain, et Monsieur Nour Dris pour les renseignements fournis sur le pâturage au niveau de la daya de Sekhret Ennemra (nord-est de Ben Slimane).

Références

- Agtay, F. 1986 : Interfaces: milieu aquatique / milieu terrestre, milieu naturel / milieu urbain. – Colloque d'écologie, E.N.S de Casablanca, Mars 1986, Actes E.N.S. de Casablanca, 16 p.
- Agtay, F. 1991 : Les dendrotelmes du chêne-liège, refuges estivaux de la faune ripicole des dayas. – In : La faune du chêne-liège, eds Villemant and Fraval, Rabat, Actes Editions : 276-277.
- Agtay, F. 1999 : Impacts des déchets ménagers sur la subéraie à Ben Slimane (Maroc). – IOBC/Wprs Bull. 22(3) : 163-166.
- Agtay, F. 2002 : Importance des milieux aquatiques temporaires associés à la subéraie des Zaërs (Maroc). – IOBC/Wprs Bull. 25(5): 169-174.
- Agtay, F. 2004 : La subéraie de Ben Slimane, un écosystème complexe menacé. – In : La Semaine Nationale des Sciences : Environnement et Développement durable, E.N.S. de Tétouan. Actes de l' E.N.S. de Tétouan, 10 p.

- Aouity, B. 1986 : Eude de la communauté coprophile de la région de Casablanca. – Colloque d'écologie, E.N.S de Casablanca, Mars 1986, Actes E.N.S. de Casablanca
- Rougon, C. & Rougon, D. 1978 : Contribution à l'étude des insectes coléoptères coprophages en République du Niger. – Comm. LL. Conf. Bien. ASOA Wass. 7 p.
- Théron, J. & Bigot, L. 1971 : Sur les modifications de la communauté des Coléoptères Scarabaeides coprophages en Camargue. – Bull. Soc. Sci. Nat. Nîmes 51: 62-78.

**Cork-oak forest in the Ben Slimane region (Maroc) :
contribution of grazing in fauna diversity**

Abstract: In Morocco, cork oak forest endures increasing overgrazing, which induces great damages notably in semi-arid regions and during drought periods. However, excrements laid during the livestock trip furnish an important source of organic matter and shelter abundant and diversified Arthropod populations, thus considerably lessening the negative livestock impact. This study analyses the biochores contribution to the fauna biodiversity of the Ben Slimane forest.

Key words: cork oak forest, grazing, coprophagous insects, Ben Slimane, Morocco

Effet de la remontée biologique post-incendie sur le peuplement de Rhopalocères des subéraies d'El-Kala (Algérie)

Khalida Frathia, Slim Benyacoub

Laboratoire d'écologie animale, Département de Biologie, B.P. 12, Faculté des Sciences, Université Badji-Mokhtar, Annaba- 23000, Algérie

Résumé : L'effet de la remontée biologique post-incendie sur le peuplement de Rhopalocères a été étudié dans les subéraies de l'Est algérien. 34 espèces et six familles ont été répertoriées. Dans la zone prospectée, les Lycaenidés sont abondants et les Papilionidés rares. Les milieux récemment incendiés ont un peuplement de Rhopalocères plus diversifié que les subéraies mieux préservées.

Mots clés : Rhopalocères, subéraie, incendie, remontée biologique, diversité, El-Kala Algérie.

Introduction

Depuis l'incendie de 1983, l'équilibre naturel des subéraies de l'extrême est algérien s'est altéré (Oulmouhoub, 2002). En provoquant la disparition de certains habitats ou la raréfaction des plantes nourricières, les incendies ont fortement influencé la biodiversité de ces milieux. Les Rhopalocères sont de bons bioindicateurs de la diversité floristique d'un milieu. L'objectif de l'étude était d'analyser l'effet de la remontée biologique post-incendie sur le peuplement de Rhopalocères des subéraies d'El-Kala, à l'extrême nord-est de l'Algérie.

Matériel et méthodes

La région d'El-Kala comprend l'un des plus grands parcs nationaux de Méditerranée occidentale : le Parc National d'El-Kala, devenu en 1990 réserve de la biosphère de l'UNESCO. Dans le parc, trois stations ont été sélectionnées dans trois subéraies dont les caractéristiques sont présentées dans le tableau 1.

Station 1 (Massif forestier de Brabtia) : incendiée en 1983, 1993 et 2000. La strate arborée est composée de chênes-lièges petits et peu abondants.

Station 2 (Djebel Koursi) : incendiée en 1993, elle a une structure complexe due au développement impressionnant de la strate buissonnante.

Station 3 (Subéraie Jarwassa) : Cette station n'a été incendiée qu'une fois en 1983. C'est une futaie pure de chêne-liège.

Tableau 1. Caractéristiques moyennes des habitats incendiés.

	Station 1	Station 2	Station 3
Durée de cicatrisation post-incendie (ans)	2	9	19
Recouvrement général (%)	80%	75%	85%
Recouvrement et hauteur des arbres	20%-7,5 m	50%-9 m	53%-7 m
Recouvrement et hauteur des arbustes (%)	22%-0,5 m	78%-2,25 m	75%-2 m
Recouvrement et hauteur des herbacées (%)	68%-0,25 m	24%-0,50 m	13%-0,20 m

Les relevés ont été effectués dans chaque site deux fois par mois, de juin 2001 à mai 2002. Les papillons passant à moins de 5 mètres de l'observateur ont été identifiés et comptés sur un

transect de 2 km, effectué à pas lents. Les spécimens non identifiables à vue ont été capturés pour être identifiés au laboratoire.

Résultats et discussion

Le peuplement de Rhopalocères comprend 35 espèces de 6 familles ; les Lycaenidae, Satyridae et Pieridae sont mieux représentés que les Nymphalidae, Hesperidae et surtout Papilionidae. Quatre espèces dominent : *Pieris rapae*, *Polyommatus icarus*, *Cynthia cardui* tandis que *Antiocharis belia*, *Gegenes pumilio*, *Coenonympha pamphilus* et *Leptotes pirithous* sont parmi les plus rares. Le massif forestier de Brabtia (station 1) présente la plus forte diversité, qui correspond à un peuplement riche en espèces dont la distribution d'abondance est relativement équilibrée (Tab. 2). La subéraie Jarwassa a la diversité la plus faible.

Tableau 2 : Caractéristiques des peuplements de Rhopalocères des stations incendiées

	Station 1	Station 2	Station 3
Richesse spécifique globale	33	21	10
Diversité globale (indice de Shannon)	3,632	2,910	2,282

L'écosystème forestier présente un équilibre d'une extrême complexité et sa destruction par le feu engendre une cascade de dégradations, qui s'étalent sur de nombreuses années et s'avèrent parfois irréversibles. Cependant, l'éclaircissement des peuplements à la suite d'un incendie favorise le développement de plantes herbacées qui nourrissent de nombreuses espèces de Rhopalocères. La subéraie Jarwassa, qui montre la plus faible diversité en Rhopalocères, est un milieu plus stable ayant recouvrement plus important en arbres et arbustes et beaucoup plus faible en herbacées que les deux autres milieux étudiés, dont la richesse en Rhopalocères est plus élevée. Malgré ses effets destructeurs, le passage du feu s'avère ainsi un formidable moteur de réorganisation de la biodiversité. Les milieux incendiés sont toutefois beaucoup plus instables du fait de l'évolution rapide de la biocénose végétale après le passage du feu.

Références

Oulmouhoub, S. 2002 : Contribution à l'étude des subéraies de la région d'El-Kala : Dynamique post-incendie des successions végétales et leurs biodiversités. – Mémoire Magister, INA, Alger, 88 p.

Effect of the biologic post-fire ascent on the Rhopalocera population in cork oak forests of the El-Kala region (Algeria)

Abstract: The effect of the biological post-fire ascent on the Rhopalocera population was studied in far-east Algerian cork oak forests. 35 species and 6 families were collected. In the sampled area Lycaenids were abundant and Papilionids scarce. The most recently burnt stands showed more diversified Rhopalocera populations than more preserved forests.

Key words: Algeria, El Kala, Rhopalocera, wildfire, cork oak, biologic ascent, specific wealth

Contribution à l'étude du régime alimentaire de *Calliptamus barbarus* dans les monts de Tlemcen (Algérie)

Lotfi Mesli, Salah Eddine Doumandji, Mohamed Anouar Khelil

Université de Tlemcen, Faculté des Sciences, Département de Biologie, BP 119 Tlemcen
13000, Algérie

Résumé : *Calliptamus barbarus* est l'espèce d'Orthoptère la plus abondante de trois stations (garrigue, maquis et yeuseraie) des monts de Tlemcen. Ce phytophage polyphage consomme 7 végétaux, depuis une graminée (*Avena sterilis*) jusqu'à divers arbres dont le chêne vert et le lentisque, avec un taux de consommation variable selon les espèces en présence dans chaque station.

Mots-clés : Orthoptères, *Calliptamus barbarus*, régime alimentaire, *Quercus ilex*, *Avena sterilis*

Introduction

Calliptamus barbarus et *C. wattenwylanus*, sont les seuls Acrididae Calliptaminae rencontrés dans les monts de Tlemcen, où 29 espèces d'Orthoptères ont été recensées. *C. barbarus* est l'espèce la plus abondante. Nous nous sommes intéressés ici à la place qu'occupe le chêne vert au sein du cortège de plantes intervenant dans son régime alimentaire.

Matériels et méthodes

Des prélèvements ont été fait chaque mois de janvier 1998 à janvier 2004 dans trois stations : une garrigue où dominant *Acacia retinoides* et *Thynus ciliatus*, un maquis à *Cupressus sempervirens* et *Pinus halepensis* et une yeuseraie (*Quercus ilex*). L'étude des Orthoptères a été réalisée sur une surface de 100 m² par station. Le recouvrement global de chaque espèce végétale a été calculé selon Duranton et al (1982) : $RG = \frac{\sum Ss}{S} * 100/s$, où S est la surface du transfert végétal, Ss la surface projetée orthogonalement sur le sol d'une espèce donnée, avec $Ss = \pi r^2 n$ (r rayon moyen de la touffe et n nombre de touffes de l'espèce sur la surface S).

La fréquence de consommation de chaque espèce végétale a été calculée selon la formule : $Fi = \frac{Ni}{N} * 100$, avec Ni nombre de fois où les fragments du végétal (i) sont présents dans les fèces et N total des fèces examinés, suivant la méthode des fenêtres (Doumandji et al., 1993). Une épidermothèque de référence a été réalisée. L'épiderme de chaque plante est détaché à l'aide d'une pince fine, éclairci 1 mn dans l'eau de Javel, deshydraté dans des bains d'alcool de concentration croissante, puis étalé entre lame et lamelle dans une goutte de liquide de Faure. La préparation est placée sur une plaque chauffante pour éliminer les bulles d'air. Dans chaque station, on a été étudié les fèces de 80 femelles de *C. barbarus*, qui sont plus volumineuses et plus abondantes que celles des mâles. Récupérées une à deux heures après le repas de l'acridien, elles sont placées à ramollir pendant une nuit dans l'eau. Elles sont ensuite dissociées précautionneusement, puis rincées plusieurs fois à l'eau. Les fragments végétaux qu'elles contiennent sont traités à l'eau javellisée avant d'être deshydratés et montés comme précédemment. Leurs caractéristiques (forme, taille et agencement des cellules, aspect des membranes cellulaires, localisation et structure des stomates) sont étudiées au microscope et comparées aux préparations de l'épidermothèque de référence.

Résultats et discussion

C. barbarus consomme 7 des 32 espèces végétales recensées dans les trois stations : *Avena sterilis* (Graminaceae) est la plus consommée avec une fréquence de 81,7% dans les fèces, puis *Lavandula dentata* (Labiaceae) (67,3%), *Cupressus sempervirens* (Cupressaceae) (41,6%), *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) (27%), *Inula viscosa* (Compositae) (18,5%), *Quercus ilex* (Fagaceae) (15,3%) et *Acacia retinodes* (Leguminosae) (11,23%). La fréquence de chaque espèce dans les fèces n'apparaît pas directement liée à son recouvrement global (Fig. 1).

Le choix de l'aliment n'est pas dû seulement à sa valeur nutritive ou à son abondance. Dans la station forestière, *Quercus ilex*, dont le recouvrement global est élevé est moins fréquent dans les fèces du criquet que le lentisque dont le recouvrement global est beaucoup plus faible. La plante la plus consommée par *C. barbarus* dans les trois stations est la lavande *lavandula dentata*, qui se retrouve dans plus de 50% des fèces des criquets de la garrigue et du maquis, alors que sa fréquence n'atteint que 32,4% dans celles des criquets de la forêt. Ces derniers trouvent en effet dans ce milieu une plus grande diversité de végétaux à consommer (5 espèces contre deux seulement dans les autres stations).

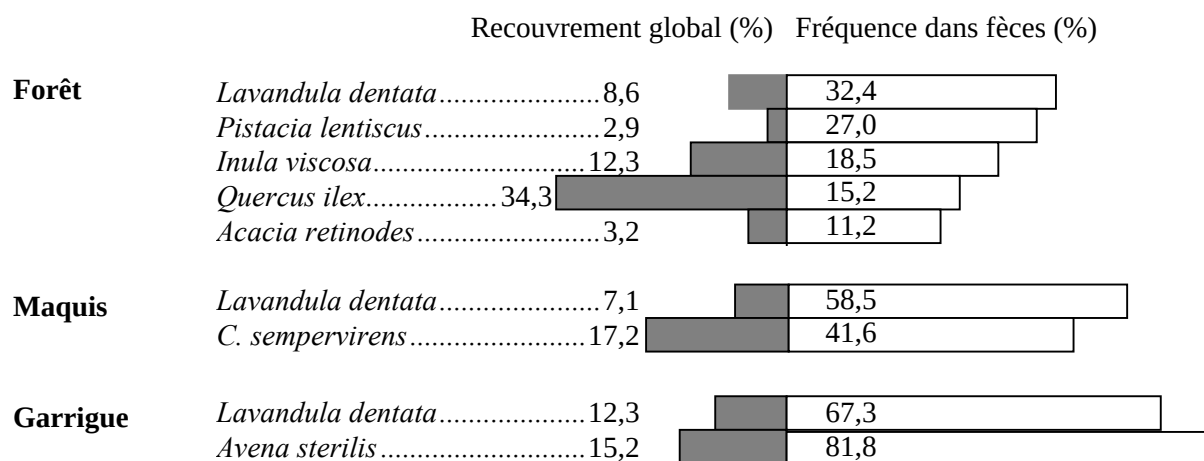


Figure 1. Fréquence des espèces végétales dans les fèces de *Calliptamus barbarus* selon leur recouvrement global dans trois stations (forêt, maquis et garrigue) des monts de Tlemcen.

Références

- Doumandji-Mitiche, B., Doumandji, S. & Benfekih, L. 1993 : Régime alimentaire du criquet marocain *Dociostaurus maroccanus* (Orthoptera-Acrididae) dans la région de Ain-Boucif (Médéa-Algérie). – Med. Fac. Landbouw. Univ. Gent, 58/22a : 347-353.
- Duranton, J.F., Launois, M., Launois-Luong, M., & Lecoq, M. 1982 : Manuel de prospection acridienne en zone tropicale sèche. – G.E.R.D.A.T, T.I, Paris : 695 p.

Calliptamus barbarus diet in Tlemcen mountains (Algeria)

Résumé: *Calliptamus barbarus* is the most abounding Orthoptera species in three stations (garrigue, maquis, holm oak stand) in the Tlemcen mountains. This polyphagous species consumes 7 plant species, among which *Avena sterilis* and several trees as *Quercus ilex* and *Pistacia lentiscus*. *C. barbarus* plant consumption rates vary in relation to plant species availability in each station.

Keys words: Orthoptères, *Calliptamus barbarus*, food diet, *Quercus ilex*, *Avena sterilis*

Conclusions and recommendations

Results obtained by the working group members during the last years showed the importance of multidisciplinary studies to better understand of the oak decline phenomena. During the preceding meeting, the participants insisted on the necessity to create databases compiling knowledge on all the decay factors already identified in Europe and North Africa. The compilation of a CD grouping all information provided by working group members and other people involved in oak forest research and management is now in progress. It is supervised by Edmundo Sousa, from the Oeiras National Forestry Station (Portugal), who was unanimously elected, during this meeting, as the new convenor of the working group. Two deputy convenors were alsodod: Pr. Franceschini from the Sassary University (Italy) and M. Ben Jamaa from INRGREF (Tunisia).

Although several strategies already succeeded in controlling a number of insect pests and pathogenous fungi or reinvigorating the oak stands by favouring an increase of the tree vitality, research must be pursued to better understand the decline phenomena evolution and characterize all the implied biotic and abiotic factors. It appeared notably crucial to find how controlling the increasing impact of xylophagous pests as *Platypus cylindrus* or *Cerambyx cerdo* which are potential vectors of oak pathogenous fungi.

It also appeared necessary to find more reliable collaborations to assess the economical impact of oak forest decline and make every effort to improve the explanation given concerning research targets and results to the public and the forest firms. As for agricultural research, forest research must be better supported and forest stands improved by ecotourism and micro enterprise projects.

In order to coordinate their research programs and homogenize the evaluation methods of oak phytosanitary status and pest damage, the participants of the fourth meeting suggested the division of the working group into three subgroups which could meet independently, in the general meeting interval:

- oak pathogenous fungi;
- oak insect pests;
- forest management.

Regular subgroup meetings seem to be necessary to establish reliable field comparison and to homogenise the evaluation methods of oak decline and pest impact in the view of the preparation of IOBC guidelines in Oak Forest Integrated Protection.

The fifth meeting of the group is scheduled for October 2007 in Tlemcen (Algeria).

Conclusions et recommandations

Les résultats des recherches entreprises au cours de ces dernières années par les membres du groupe de travail montrent l'importance des études multidisciplinaires pour mieux comprendre le phénomène de déclin des forêts de chênes. Lors du précédent meeting, les participants avaient insisté sur la nécessité de créer une base de données rassemblant les connaissances sur les chênaies et les facteurs de déclin déjà identifiés en Europe et en Afrique du Nord. Un CD compilant les données obtenues par les membres du groupe ou par d'autres personnes impliquées dans la recherche ou l'aménagement des forêts est en cours de réalisation sous la direction d'Edmundo Sousa, chercheur à la Station Forestière Nationale d'Oeiras (Portugal), qui a été élu nouveau responsable du groupe lors de ce dernier meeting. Deux responsables adjoints, Pr. Franceschini de l'Université de Sassari (Italie) et M. Ben Jamaa de l'INRGREF (Tunisie), ont été élus responsables adjoints.

Bien que l'on dispose déjà de stratégies plus ou moins spécifiques pour contrôler certaines populations d'insectes ravageurs et certains champignons pathogènes, comme pour améliorer l'état sanitaire des peuplements en augmentant la vitalité globale des arbres, les recherches doivent se poursuivre pour acquérir de meilleures connaissances sur l'évolution du dépérissement et sur l'ensemble des facteurs biotiques et abiotiques impliqués dans ce phénomène. Il faut notamment porter une attention particulière au contrôle des populations d'insectes xylophages comme *Platypus cylindrus* ou *Cerambyx cerdo* qui sont des vecteurs potentiels de champignons pathogènes.

Il s'avère aussi nécessaire de mettre en place d'autres collaborations permettant de mieux évaluer l'impact économique du dépérissement des chênaies et de mieux faire connaître au public, aux autorités locales et aux entreprises liées à la forêt, les objectifs et les résultats des recherches entreprises dans ce domaine. Comme pour la recherche agricole, la recherche forestière doit être mieux subventionnée et les chênaies mises en valeur par l'écotourisme et la réalisation de micro-entreprises liées à la forêt.

Pour mieux coordonner leurs programmes de recherche et homogénéiser leurs méthodes d'évaluation de l'état sanitaire des peuplements et des dégâts dus aux divers antagonistes des chênes, les participants du 4^{ème} meeting ont proposé que le groupe de travail soit divisé en trois sous-groupes pouvant se réunir indépendamment, dans l'intervalle entre deux meetings. Ces sous-groupes seraient centrés sur :

- les insectes ravageurs ;
- les champignons pathogènes ;
- l'aménagement forestier.

Des réunions régulières de ces trois sous-groupes permettront aux chercheurs de comparer leurs observations sur le terrain et d'homogénéiser leurs méthodes d'évaluation du dépérissement et de l'impact des ravageurs et des champignons pathogènes. La confrontation des différentes expériences est indispensable pour mener à bien la rédaction de directives de l'OILB pour la protection intégrée des forêts de chênes.

Le prochain meeting du groupe est prévu en octobre 2007 à Tlemcen (Algérie).