



HAL
open science

Expansion d'un ravageur forestier sous l'effet du réchauffement climatique : la processionnaire du pin affecte-t-elle la biodiversité entomologique dans les zones nouvellement colonisées ?

Charles-Edouard Imbert

► To cite this version:

Charles-Edouard Imbert. Expansion d'un ravageur forestier sous l'effet du réchauffement climatique : la processionnaire du pin affecte-t-elle la biodiversité entomologique dans les zones nouvellement colonisées ?. Sciences agricoles. Université d'Orléans, 2012. Français. NNT : 2012ORLE2010 . tel-00717391

HAL Id: tel-00717391

<https://theses.hal.science/tel-00717391>

Submitted on 12 Jul 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES ET TECHNOLOGIES

UR0633 Zoologie Forestière – INRA Orléans

THÈSE présentée par :
Charles-Edouard IMBERT

soutenue le : **24 Mai 2012**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université d'Orléans**

Discipline : Biologie forestière

**Expansion d'un ravageur forestier sous l'effet du
réchauffement climatique :
la processionnaire du pin affecte-t-elle la biodiversité
entomologique dans les zones nouvellement colonisées ?**

THÈSE dirigée par :

M. Alain ROQUES

Directeur de Recherche, INRA Orléans

Co-dirigée par :

M. Hervé JACTEL

Directeur de Recherche, INRA Pierroton

RAPPORTEURS :

M. Andrea BATTISTI

Professeur, Université de Padoue, Italie

Mme Brigitte FREROT

Ingénieur de Recherche, INRA Versailles

JURY :

M. Andrea BATTISTI

Professeur, Université de Padoue, Italie

Mme Brigitte FREROT

Ingénieur de Recherche, INRA Versailles

M. Hervé JACTEL

Directeur de Recherche, INRA Pierroton

M. François LIEUTIER

Professeur, Université d'Orléans

M. Andreas PRINZING

Professeur, Université de Rennes

M. Alain ROQUES

Directeur de Recherche, INRA Orléans

Remerciements

Ce travail n'aurait jamais pu être possible sans l'aide scientifique, matérielle et psychologique fournie par de nombreuses personnes.

En tout premier lieu, je tiens à remercier mon directeur de thèse, Alain Roques, pour m'avoir confié la réalisation de ce travail, pour sa confiance, sa disponibilité et sa patience. Bref, tu as été un chef comme beaucoup de thésards aimeraient avoir !

Je n'ai pas eu d'encadrant officiel durant ma thèse mais je souhaite remercier particulièrement Marie-Anne Auger-Rozenberg, Christelle Robinet et Jérôme Rousselet qui ont, à leur insu, rempli une grande partie de ce rôle. Merci pour toutes les réponses que vous avez pu m'apporter que ce soit en génétique des populations ou en mathématiques, pour vos conseils ou vos diverses contributions à ce travail.

On entend souvent dire que l'INRA est comme une grande famille, ceci est d'autant plus vrai à la Zool ! Je tiens donc à remercier mes "Mamans" de l'INRA. Tout d'abord Marie, merci pour tout, ton soutien au quotidien, ton écoute, ta gentillesse... je ne sais réellement pas si sans toi, je serais en train d'écrire ces lignes à l'heure actuelle. Merci aussi à toi, Annie, pour ton optimisme et ta bonne humeur quoi qu'il arrive et aussi pour les promenades en "Poney" auxquelles tu m'as convié ! Et merci Claudine pour les nombreuses discussions plus ou moins farfelues et pour avoir finalement compris mon sens de l'humour !

Ce travail n'aurait pas pu être réalisé sans Francis Goussard et Jacques Garcia. Merci à vous deux pour votre flair infailible pour détecter des pontes de processionnaires, même dans les endroits les plus incongrus. Merci Francis de m'avoir également fait découvrir le pays Briançonnais. Je ne me souviens pas de la moitié des noms de vallées, de pics et de glaciers que tu as pu me dire durant ces trois ans, malgré le fait que tu les répétais à chaque voyage... ! Mais je garderai un très bon souvenir de nos nombreuses expéditions.

Un grand merci à Olivier Denux, grâce à qui mes connaissances en Entomologie (et notamment en carabo-sexologie !) ont été démultipliées. Merci également pour les magnifiques cartes, dont tu détiens le secret de fabrication, qui ornent aujourd'hui ce

manuscrit et pour m'avoir fait découvrir quelques domaines viticoles dont je garderai précieusement les noms.

Merci à tous mes autres collègues de la Zoologie Forestière, avec qui je n'ai pas forcément travaillé, mais que je croise tous les jours. C'est grâce à vous tous que c'est aussi agréable de travailler dans cette unité.

Merci à Franck Rogeon, documentaliste capable de trouver une publication Azerbaïdjanaise des années 40 en moins de 24 heures directement auprès de son auteur ! Tu m'as fait gagner un temps précieux.

Merci également à tous les stagiaires et autres CDD que j'ai égoïstement exploité pendant ces trois années : Valère deWilde, Tanguy Pinard, Florie Miard, Aurélien Japaud (le meilleur !) et même Pierre-Emmanuel Imbert mon petit frère !

A la Zoologie, les thésards et autres non-titulaires sont tous "stockés" à l'étage dans le même bureau ! Je tiens donc à remercier les personnes avec qui j'ai partagé ce lieu magique rempli de mouches 3 mois par an. Je pense notamment à Maxime Dupin, Florie Miard, Aurélien Japaud, Jeremy Gauthier, Camille Peron, Magaly Torres, David de Feraudy et surtout Vincent Lesieur. Merci Vincent pour l'aide que tu as pu m'apporter, pour tes commentaires et remarques toujours pertinentes (ou pas !) mais aussi pour les bières, les jeux de plateau et tout le reste.

Je n'en serai pas arrivé là sans le soutien indéfectible de ma famille. Merci Maman pour avoir, durant ces 26 années, toujours cru en moi et pour toujours t'être intéressée à ce que je faisais. Merci Pierrot, mon petit frère, pour avoir toujours été à mes cotés et pour avoir sacrifié un de tes mois d'été pour travailler pour moi ! Merci aussi à Mamie et à Marco pour tout ce que vous avez fait pour moi. Merci également à Clarisse, pour avoir relu l'intégralité de ma thèse et corrigé les (très) nombreuses fautes.

En dernier lieu, je tiens à avoir une pensée pour les nombreux insectes qui sont morts de mes mains, que ce soit pour les besoins de la science, ou par accident (une boîte qui se referme trop vite ou un sécateur qui ne coupe pas qu'une branche... ça arrive !). Ils sont au cœur de ce travail et ne cesseront jamais de nous émerveiller.

Sommaire

Chapitre I. Introduction Générale.....	9
1. Contexte général de l'étude.....	11
2. Changement climatique et relation avec les insectes ravageurs.....	13
2.1. Contexte historique.....	13
2.2. Facilitation pour les espèces invasives.....	14
2.3. Modification de la phénologie.....	15
2.4. Déplacement des aires de répartition.....	16
2.5. Expansion des ravageurs.....	17
3. Le modèle d'étude : <i>Thaumetopoea pityocampa</i> – La processionnaire du pin....	18
3.1. La place de la processionnaire du pin parmi les Thaumetopoeinae.....	18
3.2. Biologie de la processionnaire du pin.....	18
- Répartition et expansion.....	18
- Cycle de développement.....	19
- Régulation des populations.....	20
3.3. Impact économique, environnemental et sanitaire.....	22
4. Problématique et objectifs de la thèse.....	23
Chapitre II. Interactions hôtes parasites avec le réchauffement climatique :	
Les parasitoïdes oophages arrivent-ils à suivre l'expansion de la processionnaire	
du pin ?.....	27
1. Introduction générale.....	29
2. Echappement de la processionnaire du pin à ses parasitoïdes oophages.....	33
2.1. Introduction.....	33
2.2. Matériel et méthodes.....	35
- Zone d'étude.....	35
- Echantillonnage 2008.....	36
- Echantillonnage 2009.....	38
- Etude des pontes et identification des parasitoïdes.....	40
- Phénologie des parasitoïdes.....	42
- Analyses statistiques.....	43
2.3. Résultats.....	43
- Echantillonnage 2008.....	43
- Echantillonnage 2009.....	51
- Phénologie des parasitoïdes.....	61
2.4. Discussion.....	62
- Structure et nombre d'œufs des pontes.....	64
- Taux d'éclosion des chenilles de processionnaire du pin et impact du parasitisme.....	66
- Richesse spécifique des parasitoïdes.....	69
- Impact de l'expansion sur la capacité de colonisation.....	71

3. Impact de l'expansion de l'aire de distribution de la processionnaire du pin sur la structure génétique de deux parasitoïdes associés.....	75
3.1. Introduction.....	75
3.2. Matériel et méthodes.....	76
- Matériel biologique.....	76
- Analyse génétique.....	78
- Analyse des données.....	79
3.3. Résultats.....	79
- Transect latitudinal.....	79
- Transect altitudinal.....	81
3.4. Discussion.....	82
4. Conclusion générale.....	86

Chapitre III. Une nouvelle interaction engendrée par le changement climatique : La processionnaire du pin et l'Isabelle de France.....89

1. Introduction générale.....	91
1.1. La processionnaire du pin dans la vallée de la haute-Durance.....	92
1.2. Le modèle <i>A. isabellae</i>	93
1.3. Hypothèses de travail.....	96
2. Impact de la présence de chenilles de processionnaire du pin sur la colonisation des arbres par <i>Actias isabellae</i>	98
2.1. Introduction.....	98
2.2. Matériel et méthodes.....	99
- Zone d'étude.....	99
- Sélection des arbres.....	99
- Greffage des nids de processionnaire du pin.....	100
- Suivi de la présence d' <i>A. isabellae</i>	100
- Analyses statistiques.....	102
2.3. Résultats.....	102
- Impact des conditions naturelles sur les chenilles de processionnaire du pin.....	102
- Présence d' <i>A. isabellae</i> dans les arbres.....	102
2.4. Discussion.....	105
3. Impact de la défoliation par la processionnaire du pin sur la survie et le développement des chenilles d' <i>Actias isabellae</i>	107
3.1. Introduction.....	107
3.2. Résultats et discussion.....	108
Article 1: Is the expansion of pine processionary moth with global warming susceptible to impact the endangered Spanish moon moth through an induced change in food quality?.....	111
4. Les parasitoïdes des oeufs de processionnaire du pin peuvent-ils parasiter <i>Actias isabellae</i> dans la zone de contact ?.....	135
4.1. Introduction.....	135
4.2. Matériel et méthodes.....	136

- Site d'étude.....	136
- Matériel biologique.....	137
4.3. Résultats.....	138
4.4 Discussion.....	139
5. Conclusion générale.....	141
Chapitre IV. Conclusion générale.....	145
1. Synthèse.....	147
1.1. Amélioration des capacités d'expansion.....	147
1.2. Impact sur les autres espèces en zone nouvellement colonisée.....	149
1.3. Autres apports scientifiques de l'étude.....	150
1.4. Conclusion.....	151
2. Perspectives.....	152
Références Bibliographiques.....	155
Annexes.....	173

Chapitre I

Introduction générale

I.1. Contexte général de l'étude

Le changement climatique est au cœur des préoccupations en écologie à l'heure actuelle du fait des profondes modifications qu'il induit dans le fonctionnement des écosystèmes et des risques qui en découlent pour la conservation des espèces. Son impact se retrouve à tous les niveaux d'organisation du vivant : modification des événements saisonniers, changements d'aire de répartition, modification de la composition en espèces des communautés et changements dans la structure et le fonctionnement des écosystèmes (McCarty, 2001; Parmesan, 2006; Walther et al., 2002).

En augmentation rapide depuis la fin du 19^{ème} siècle, le réchauffement climatique et son impact sur l'évolution des aires de répartition des espèces est un sujet de plus en plus étudiés tant chez les espèces animales que végétales. Chez les insectes, de telles études ont déjà été réalisées, notamment chez les lépidoptères (Hellmann et al., 2008; Parmesan et al., 1999; Poyry et al., 2009). Ces études ont démontrées la relation entre l'évolution du climat et la modification des aires de répartition chez les espèces étudiées. Cependant, une expansion de l'aire de répartition signifie aussi de nouvelles interactions avec des espèces déjà présentes dans les zones qui sont nouvellement colonisées.

Ce travail de thèse s'inscrit au sein du projet ANR Urticlim - Anticipation des effets du changement climatique sur l'impact écologique et sanitaire d'insectes forestiers urticants, coordonné par Alain Roques. Ce projet associe des chercheurs de trois nationalités et de toutes les disciplines concernées par l'expansion de la processionnaire : entomologie, écologie, génétique, modélisation mathématique, épidémiologie vétérinaire et médicale, immunologie et dermatologie.

L'objectif général de la thèse est d'enrichir nos connaissances sur les nouvelles interactions résultantes d'une modification de l'aire de répartition d'une espèce en prenant comme exemple un insecte en pleine expansion géographique sur notre territoire : *Thaumetopoea pityocampa* – La processionnaire du pin. Cette espèce a montré dans les dernières décennies une progression rapide en latitude et en altitude directement liée au changement climatique. Nous avons donc cherché à estimer la nature et l'intensité de l'impact de la processionnaire du pin dans les zones nouvellement colonisées sur des organismes

particuliers dépendants soit de la même ressource que la processionnaire soit de la processionnaire du pin elle-même. L'expansion de cette espèce pourrait lui permettre d'échapper à ses ennemis naturels lui procurant ainsi une compétitivité plus importante dans les zones nouvellement colonisées affectant les espèces autochtones.

Le manuscrit s'articulera en 4 chapitres, le premier correspondant à cette présentation du contexte général de l'étude, une rapide présentation de la relation entre changement climatique et insectes ravageurs, la présentation du modèle d'étude et l'exposition des problématiques et objectifs de la thèse. Le second chapitre sera axé sur l'étude de la réponse des parasitoïdes oophages à l'expansion de leur hôte dans le contexte du changement climatique. Le troisième chapitre sera centré sur l'étude d'une nouvelle interaction engendrée par le changement climatique entre la processionnaire du pin et un lépidoptère protégé, l'Isabelle de France, dans les Hautes Alpes. Enfin, le dernier chapitre présentera la discussion et les conclusions de ce travail suivies des perspectives possibles pour la suite.

I.2. Changement climatique et relation avec les insectes ravageurs

I.2.1. Contexte historique

La Terre est sujette à des cycles de réchauffements et refroidissements successifs à travers les âges. Durant ce dernier million d'années le climat a subi des cycles glaciaires et interglaciaires d'environ 100000 ans (Luethi et al., 2008). Depuis environ 10000 ans, nous sommes rentrés dans une phase interglaciaire, l'holocène. Jusqu'à il y a 150 ans, la température de cette phase était stable, à l'instar de la composition atmosphérique en gaz à effet de serre et aérosols et durant ces derniers 1300 ans, la température de la terre n'avait oscillé que de 0.5°C. Cependant depuis 150 ans, les activités humaines ont profondément modifié la composition atmosphérique, la température moyenne de la Terre a augmenté de 0,6°C en un siècle et cette augmentation s'est accentuée depuis 1975 avec une augmentation moyenne de la température de l'ordre de 0.15°C par décennie. Les années 90 semblent être les plus chaudes des 1000 dernières années pour l'ensemble de l'hémisphère nord (Jansen *et al.* 2007). Comme dit précédemment, ces anomalies dans les températures annuelles ont commencées à être observées au cours de l'âge industriel. Les forts rejets des gaz à effet de serre couplés à la détérioration des milieux qui constituent de vrais réservoirs pour le carbone ont joués en faveur d'une augmentation du carbone dans l'atmosphère et donc d'une augmentation de la température moyenne de la terre. Plusieurs scénarios ont été établis afin de prévoir et quantifier la poursuite de cette augmentation au cours du siècle à venir. Ces différents scénarios, des plus optimistes aux plus pessimistes prévoient une augmentation allant de 1,6°C à 6,2°C (IPCC, 2007).

L'augmentation de la température moyenne observée à la surface du globe est en réalité asymétrique entre été et hiver et entre les régions. En Europe, les températures hivernales ont montrées une augmentation plus importante dans le nord, alors que dans le sud, ce sont majoritairement les températures estivales qui ont augmenté. De plus, les températures minimales ont augmenté plus que les températures maximales (EEA, 2008). Selon la période de l'année, les insectes n'étant pas au même stade de développement, l'augmentation de la température ne va pas avoir les mêmes conséquences. Une température plus élevée en hiver peut être bénéfique et favoriser le développement, alors qu'une température trop élevée en été peut être défavorable et affecter la survie des individus.

Le changement climatique pourra avoir à la fois un impact direct sur une espèce donnée en influençant sa survie, sa fécondité, sa vitesse de développement et/ou sa distribution, mais aussi indirect en altérant les relations avec ses ennemis naturels, ses compétiteurs ou son hôte. Le changement climatique aura donc un impact profond sur les milieux et donc sur les espèces qui l'occupent. Il pourra non seulement favoriser l'installation d'espèces ayant des contraintes thermiques particulières et affectera le cycle biologique et la distribution géographique des espèces occupant ce milieu.

I.2.2. Facilitation pour les espèces invasives

Depuis l'explosion des échanges commerciaux internationaux, le taux d'arrivée d'insectes exotiques a augmenté de manière exponentielle. D'environ 2 espèces introduites par an entre 1850 et 1900, nous sommes passé à 8.1 espèces introduites par an entre 1950 et 1974 et 17.4 espèces par an entre 2000 et 2007 (Roques et al., 2009). On compterait aujourd'hui plus de 1300 espèces d'insectes exotiques en Europe. Parmi ces espèces, jusqu'à 37% proviendraient de régions tropicales ou sub-tropicales (Roques, 2010). On considère que les espèces exotiques ont plus de chances de survivre si elles sont introduites dans une région avec un climat similaire à leur aire d'origine. Le processus d'invasion commence par l'introduction de quelques individus qui ne peuvent survivre que pendant le court laps de temps où le climat leur est favorable, ou bien sont restreints à des micro-habitats se présentant comme des îlots chauds. Un réchauffement climatique va permettre de prolonger la présence de ces espèces et d'augmenter la taille de leur habitat favorable. Ainsi, le réchauffement climatique permet d'accroître la probabilité d'établissement des espèces introduites qui risquent alors de devenir invasives. Un réchauffement de plus en plus important ouvre également la porte à des espèces originaires de climats de plus en plus chauds (Walther et al., 2009).

Un réchauffement climatique va aussi avoir un impact sur les cycles biologiques des espèces invasives en facilitant leur installation dans de nouveaux milieux. Les espèces provenant de régions plus chaudes, outre leur sensibilité aux températures plus froides, ne bénéficient pas toujours d'une assez longue saison favorable pour compléter leur développement. Ainsi au Canada, les pullulations du lépidoptère invasif *Lymantria dispar* (L.) sont directement liées au climat. Lorsque les températures sont en dessous d'un certain seuil, la période de végétation de leur hôte est trop courte et ne leur permet pas de compléter leur développement (Regniere et al., 2009). Au Japon, l'Écaille fileuse (*Hyphantria cunea*

(Drury)), une espèce invasive d'origine nord Américaine, peut dans certaines régions passer de deux à trois générations par an en réponse au réchauffement climatique et ainsi provoquer des fortes défoliations sur les arbres (Gomi, 2007).

Le changement climatique ne favorise pas seulement l'installation d'espèces exotiques dans des régions plus froides que leurs aires d'origine, mais a également un impact sur les espèces natives de ces régions et peut profondément modifier le fonctionnement et la composition des écosystèmes.

I.2.3. Modification de la phénologie

L'un des impacts du réchauffement climatique sur les communautés qui a été bien étudié est la modification de la phénologie des espèces, principalement représentée par la précocité des événements printaniers. Ce facteur peut toucher aussi bien des espèces végétales qu'animales (Parmesan & Yohe, 2003; Root et al., 2003; Visser & Both, 2005). Des observations réalisées dans plusieurs pays d'Europe montrent une précocité du débourrement et de la floraison des arbres, entre 1959 et 1993, il a été estimé une avance de 0,20 jour par an en Europe, et ce phénomène est d'autant plus accentué en Europe du nord avec 0,31 jour d'avance par an (Menzel & Fabian, 1999). Dans une étude menée en Hongrie, la floraison du robinier (*Robinia pseudoacacia* L.) a été avancée de trois à huit jours entre 1851 et 1994, et cette prématurité est corrélée à la hausse des températures dans cette même région (Walkovszky, 1998). Ainsi, chez les plantes en Europe, il a été observé une tendance à la précocité des événements printaniers tels que le débourrement et la floraison depuis les années 1950 avec une avance de 1,4 à 3,1 jours par décennie (Walther et al., 2002).

Cette tendance touche aussi les espèces animales. Au Royaume-Uni, une étude sur 35 espèces de lépidoptères a montré une avance dans les premières observations d'individus de 2.8 à 3.2 jours par décennie entre 1976 et 1998 (Roy & Sparks, 2000). Dans le même laps de temps, la température moyenne au printemps a augmentée de 1.5°C dans cette région. Les auteurs estiment qu'une augmentation de 1°C provoquerait, selon les espèces, une apparition prématurée de deux à dix jours. La phénologie des oiseaux a également été étudiée. Des études menées sur plusieurs espèces en Europe et en Amérique du nord ont montrées une avance de 1,3 à 4,4 jours par décennie de la migration de printemps et une avance de 1.9 à 4.8 jours par décennie de la première couvée (Walther et al., 2002).

Cependant nous avons vu que la modification du climat n'impactait pas de la même manière toutes les espèces et des modifications dans la phénologie peuvent provoquer des

désynchronisations dans les interactions multitrophiques. Visser et Holleman (2001) ont montré que des printemps plus chauds provoquaient un décalage entre l'éclosion des chenilles de Cheimatobie (*Operophtera brumata* L.) et le débourrage de leur arbre hôte, le chêne (*Quercus robur* L.). Les chenilles ne pouvant survivre que deux à trois jours sans apport de nourriture, un décalage plus important avant que leur source de nourriture soit disponible provoque de fortes mortalités dans les populations et affecte la dynamique de l'espèce. Cependant, il existe une diversité génétique assez importante au niveau de l'éclosion des chenilles et du débourrement des arbres pour prédire une sélection qui restaurera la synchronie entre les deux espèces (van Asch & Visser, 2007). Chez les oiseaux, une étude a montré un décalage entre la première couvée des mésanges charbonnières (*Parus major*) et le pic d'abondance de nourriture pour les jeunes (Visser et al., 1998). Cette désynchronisation qui serait causée par une hausse des températures printanières pourrait à terme affecter les populations de mésanges. Ce phénomène de décalage à différents niveaux des interactions multitrophiques peut avoir de graves conséquences sur la dynamique des populations en provoquant de fortes mortalités dues à la famine chez de nombreuses espèces.

I.2.4. Déplacement des aires de répartition

Les contraintes thermiques de développement de certaines espèces les cantonnent à une certaine latitude ou altitude possédant les conditions optimales à leur développement. La hausse des températures moyennes provoque le déplacement de ces limites géographiques, permettant à des espèces d'étendre leur aire de répartition vers le nord ou en altitude et/ou provoquant des contractions dans les limites sud de leur aire de répartition.

Le décalage des populations vers de plus haute latitude en relation avec la hausse des températures est le plus souvent observé. Là encore, les lépidoptères sont une famille qui a été particulièrement étudiée et de nombreux exemples d'espèces dont l'aire de distribution s'est étendue vers le nord ont été mis en évidence (Parmesan et al., 1999). Une étude réalisée en Finlande a montré une expansion moyenne d'environ 60 kilomètres vers le nord de 48 espèces de papillons sur une période d'environ 15 ans avec une expansion maximum de 300 kilomètres pour trois espèces (Poyry et al., 2009). La punaise verte (*Nezara viridula* L.) était limitée dans les années 1960 par l'isotherme 5°C du mois de janvier au Japon, de nouvelles observations réalisées en 2005 ont montré une expansion de l'espèce de 70 kilomètres vers le nord (Musolin, 2007). Cette expansion serait due à la hausse des températures du mois le plus froid de un à deux degrés Celsius et permettrait donc une meilleure survie de l'espèce dans

des zones qui jusqu'alors ne lui étaient pas favorables (Tougou et al., 2009). D'une manière plus générale, Parmesan et Yohe (2003) ont mis en évidence chez plusieurs taxons et au niveau mondial une expansion moyenne vers le nord de 6.1 kilomètres par décennie. Une étude du même genre centrée sur la Grande-Bretagne et portant sur 16 taxons d'invertébrés et de vertébrés a quant à elle mis en évidence une expansion vers le nord de 12.5 à 19 kilomètres par décennie (Hickling et al., 2006).

Mais l'augmentation des températures ne se limite pas à une augmentation des températures minimales et augmente aussi les températures maximales. Ceci peut provoquer des rétractions au niveau de la zone sud de l'aire de répartition d'espèces qui seraient plus sensibles à des hautes températures. Ce phénomène a été moins mis en évidence que celui d'expansion vers le nord. Dans leur étude portant sur l'évolution des aires de répartition de 57 espèces de lépidoptères en Europe, Parmesan et al (1999) ont montré que pour 25% d'entre elles, il y avait eu une contraction de 35 à 50 kilomètres de leur limite sud sur une période de 30 à 70 ans. Pour l'une de ces espèces, *Boloria selene* (Denis & Schiffermuller) il n'y a pas eu d'expansion de sa limite nord, son aire de répartition est donc en train de se réduire sous l'influence du réchauffement climatique.

Cependant, le changement climatique n'est pas toujours directement relié à des rétractions d'aires, ainsi la limite sud du renard polaire (*Alopex lagopus* (L.)) est en rétraction vers le nord, mais cette rétraction n'est pas directement liée au changement climatique, mais à l'expansion d'une espèce compétitrice, le renard roux (*Vulpes vulpes* (L.)) (Hersteinsson & Macdonald, 1992). La limite nord de l'aire de répartition du renard roux serait reliée au climat qui favoriserait l'abondance de proies alors que la limite sud du renard polaire serait reliée à la compétition avec le renard roux.

I.2.5. Expansion des ravageurs

Le changement climatique a donc un effet sur de nombreuses espèces. Si pour certaines d'entre elles une modification de la phénologie ou de la distribution géographique n'aura que peu d'incidence sur les écosystèmes, chez d'autres, les conséquences pour le milieu pourront être particulièrement visibles. Les scolytes sont considérés comme les plus grands ravageurs des forêts de conifères dans le monde (Bertheau et al., 2009). Chez *Dendroctonus frontalis* (Zimmermann), un scolyte ravageur des forêts du sud-est américain, la température létale est de -16°C, l'expansion de l'espèce est donc limitée par cet isotherme. Depuis les années 2000, la hausse des température hivernales de cette région a déplacé cet

isotherme vers le nord et il a été observé des pullulations de scolytes dans des régions qui n'en avaient jamais connues jusque là (Khai Tran et al., 2007). *Dendroctonus rufipennis* (Kirby), un autre scolyte nord américain causant de forts dégâts sur différentes espèces d'épicéas, est favorisé directement et indirectement par le réchauffement climatique. Chez cette espèce, les pullulations seraient causées par de fortes températures estivales et hivernales permettant aux individus de réduire leur temps de développement et également par des conditions de sécheresse causant un stress chez les arbres qui sont alors plus facilement attaqués par le coléoptère (Berg et al., 2006; Hebertson & Jenkins, 2008).

Le changement climatique peut également avoir un effet délétère sur les populations de certains ravageurs. Chez la tordeuse grise du mélèze (*Zeiraphera diniana* Guénée) il existe une cyclicité extrêmement précise dans les pullulations de ses populations. Tous les 8 à 10 ans les populations de cette espèce explosent causant de très fortes défoliations sur les mélèzes (*Larix decidua* Miller) de l'arc Alpin et ceci depuis plusieurs siècles (Baltensweiler & Rubli, 1999). Cependant durant la pullulation de 1990, les populations se sont effondrées. Ceci serait à mettre sur le compte de la hausse des températures hivernales qui auraient provoqué une mauvaise synchronisation entre l'insecte et son hôte en levant la diapause des œufs de tordeuse du mélèze trop tôt (Baltensweiler, 1993).

On a donc vu que les insectes en général et les ravageurs en particulier pouvaient répondre à l'augmentation des températures en modifiant leur répartition ou leur phénologie. Ces impacts peuvent être préjudiciables pour les écosystèmes. En étendant leur aire de répartition dans de nouveaux milieux, ces ravageurs sont susceptibles de rencontrer de nouveaux hôtes potentiels ou de grandes populations de leur hôte dépourvus de compétiteurs, de plus ils peuvent s'affranchir de leurs ennemis naturels. Tout ceci pourra engendrer de fortes pullulations qui pourront entraîner à la fois de forts dégâts et mortalités sur les arbres et, indirectement, affecter les espèces dépendantes de ces arbres.

I.3. Le modèle d'étude : *Thaumetopoea pityocampa* – La processionnaire du pin

I.3.1. La place de la processionnaire du pin parmi les Thaumetopoeinae

Les Thaumetopoeinae est une sous famille des Notodontidae qui elle-même appartient à l'ordre des Lépidoptères. Le genre *Thaumetopoea* regroupe 9 espèces de chenilles processionnaires réparties en Europe, Afrique du Nord et Asie mineure. En France on

retrouve 3 espèces de processionnaires : La processionnaire d'été *Thaumetopoea pinivora* (Treitschke), la processionnaire du chêne *Thaumetopoea processionea* (L.) et la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermuller).

I.3.2. Biologie de la processionnaire du pin

La processionnaire du pin, *Thaumetopoea pityocampa*, est le principal insecte ravageur des pins en Europe et sur le pourtour méditerranéen (Robinet et al., 2011). Sa chenille se développe au profit de toutes les espèces de pin présentes en France, ainsi que d'autres conifères tels que le cèdre et provoque des défoliations qui peuvent aller jusqu'à plus de 90% des aiguilles sur un arbre (Démolin, 1969). Ces défoliations sévères ont une influence sur le développement des arbres en réduisant leur taux de croissance et en augmentant leur sensibilité aux attaques d'autres ravageurs. Ceci peut donc réduire la production des plantations artificielles de pins et menacer des populations naturelles de pins relictuels (Hodar et al., 2003; Hodar & Zamora, 2004). De plus, les chenilles de processionnaire du pin sont armées de poils urticants potentiellement dangereux pour l'homme et les animaux (Battisti et al., 2011). La processionnaire du pin pose donc de nombreux problèmes à la fois économiques, écologiques mais aussi sanitaires.

- **Répartition et expansion**

La processionnaire du pin est une espèce d'origine méditerranéenne. Son développement larvaire hivernal la rend particulièrement sensible et dépendante aux températures durant cette période de l'année. Les seuils de températures nécessaires à cette espèce ont été décrits (Battisti et al., 2005; Buffo et al., 2007; Huchon & Démolin, 1971). Selon la taille de la colonie et le stade des chenilles qui la composent, la température létale varie entre -10°C et -16°C (Hoch et al. 2009). De plus, deux autres seuils de température régissent l'alimentation des chenilles. Elle sortent du nid pour s'alimenter seulement les nuits où il fait une température supérieure à 0° et à condition que la température dans le nid durant la journée d'avant eut été supérieure à 9°C. La plante hôte de cette espèce étant aujourd'hui présente sur la majeure partie du territoire, ce sont véritablement ces seuils de températures qui délimitent son aire de répartition. En France, l'aire de répartition de la processionnaire du pin s'est véritablement étendue ces 20 à 30 dernières années. Au niveau de la limite nord de

répartition, elle s'est étendue de 21,7 kilomètres par décennie entre 1974 et 2004. Cette augmentation s'est accélérée ces 10 dernières années avec un décalage de la limite de répartition de 55,6 kilomètres par décennie (Robinet et al., 2007). L'expansion de l'espèce se fait également en altitude. Dans les Alpes italiennes, l'altitude maximale des populations de processionnaire du pin est passée de 1150 mètres en 1975 à 1380 mètres en 2004, soit une expansion de 70,1 mètres par décennie (Battisti et al., 2005). En plus de cette progression "naturelle" de l'espèce, il a été récemment découvert des colonies isolées en zone urbaine au-delà de la limite du front de la processionnaire du pin en région parisienne et dans l'est de la France. Ces introductions accidentelles sont dues à des transports par les humains d'individus sous forme de chenilles ou de chrysalides et l'établissement des colonies a été facilité par un microclimat plus doux caractéristique des zones urbaines (Robinet et al., 2011).

- **Cycle de développement**

La processionnaire du pin est une espèce univoltine. Son cycle peut cependant s'étaler sur plusieurs années en fonction des conditions du milieu. Cette espèce étant extrêmement dépendante des conditions climatiques, de fortes variations sont observées dans son cycle selon la latitude et l'altitude des populations. Les différents stades de développements ont été décrits par Démolin (1969).

Les adultes de processionnaires du pin émergent au cours de l'été entre la fin Juin et la fin Août avec un pic d'émergence aux alentours de la mi-Juillet. Les papillons sortent de terre où les nymphes étaient enterrées. Cette émergence se fait au coucher du soleil, les mâles sortent les premiers et sont suivis peu de temps après par les femelles. Les papillons rejoignent un emplacement surélevé à proximité pour y déployer leurs ailes. A la tombée de la nuit, la femelle va commencer à émettre une phéromone sexuelle afin d'attirer les mâles pour l'accouplement. Une fois celui-ci terminé, le mâle meurt quelques heures après, alors que la femelle va chercher un arbre par sa silhouette (Démolin, 1969) ou par ses composés volatiles (Paiva et al., 2011). Une fois son hôte trouvé la femelle va y déposer ses oeufs généralement en une seule et unique ponte disposée en manchon autour de deux aiguilles et composée d'environ 200 œufs recouverts d'écailles provenant de l'abdomen de la femelle. Elle mourra quelques heures après la ponte.

Le développement des œufs va durer entre 30 et 45 jours, les chenilles passent par cinq stades larvaires et resteront groupées jusqu'à la procession de nymphose. C'est justement ce comportement grégaire et la taille de la colonie qui permet la survie des chenilles durant

l'hiver (Halperin, 1990). Au cours de tout leur développement, les chenilles vont se nourrir durant la nuit sur l'arbre d'où elles ont émergé. Au 1^{er} stade larvaire les chenilles vont tisser un pré-nid autour de la ponte composé d'un réseau de soies très léger qui va les abriter durant les premiers stades larvaire. Quand la température commence à chuter, les chenilles vont tisser leur nid d'hiver à l'extrémité d'une branche, le plus souvent orienté du côté sud. Ce nid va leur permettre de survivre durant l'hiver en faisant office de radiateur solaire avec une température à l'intérieur du nid supérieure à la température extérieure durant la période d'insolation. Comme nous l'avons vu précédemment, pour leur alimentation les chenilles sont dépendant de deux seuils de température, une température supérieure à 0°C durant la nuit et une température à l'intérieur du nid supérieure à 9°C durant la journée d'avant (Battisti et al., 2005).

A la fin du développement larvaire, les chenilles vont entreprendre une procession de nymphose. Elles vont descendre le long de l'arbre et vont prospecter à la recherche d'une zone de sol à la fois éclairée et meuble pour s'y enfouir. Les chenilles s'enterrent à une profondeur située entre 5 et 20cm et vont tisser un cocon dans lequel elles vont se nymphoser. Le stade nymphal dure environ 4 mois, mais selon les conditions du milieu, les chrysalides peuvent entrer en phase de diapause prolongée et faire ainsi durer leur cycle sur plusieurs années.

- **Régulation des populations**

La processionnaire du pin subit à tous les stades de son cycle la pression de prédateurs, de parasitoïdes et de pathogènes. Ces ennemis naturels peuvent avoir un impact important sur les populations de processionnaires du pin. Biliotti (1958) a fait un inventaire des ennemis naturels s'attaquant à la processionnaire du pin.

Les parasitoïdes sont les premiers régulateurs des populations de *T. pityocampa*. Chez la processionnaire du pin il existe trois types de parasitoïdes, ceux qui s'attaquent aux œufs, ceux qui s'attaquent aux pupes et ceux qui s'attaquent aux chenilles. Les parasitoïdes des œufs de processionnaire du pin sont essentiellement des hyménoptères de la famille des chalcidiens. En France, quatre espèces de parasitoïdes des œufs sont reportées, deux sont majoritaires et représentent la quasi-totalité de la régulation de la processionnaire, et les deux autres sont plus anecdotiques. Les deux principaux parasitoïdes de la processionnaire du pin sont le spécialiste *Baryscapus servadeii* Domenichini (Chalcidien : Eulophidae) et le généraliste *Ooencyrtus pityocampae* Mercet (Chalcidien : Encyrtidae). Les deux autres

parasitoïdes qui touchent la processionnaire sont aussi des espèces généralistes, on retrouve *Anastatus bifasciatus* Geoffroy (Chalcidien : Eupelmidae) et *Trichogramma sp* (Chalcidien : Trichogrammatidae). Le principal parasitoïde des chenilles est le diptère *Phryxe caudata* Rondani (Diptère : Tachinidae). Chez cette espèce il y a deux générations dans l'année, la première va pondre sur des jeunes chenilles et les larves vont se développer jusqu'au quatrième stade larvaire de l'hôte et vont former leur pupes dans la soie du nid. Les adultes qui émergeront de ces pupes s'attaqueront au dernier stade larvaire de la processionnaire du pin avant leur enfouissement. Le parasitoïde finira son développement dans la chrysalide et formera sa pupes dans le sol (Biliotti, 1956). Les chrysalides sont aussi directement attaquées par un autre parasitoïde, le diptère *Villa brunnea* (Diptère : Bombyliidae). Les femelles déposent leurs œufs au sol et après l'éclosion, les jeunes larves vont s'enfoncer dans le sol à la recherche de cocons et finir leur développement à l'intérieur des chrysalides de processionnaire du pin.

Tous les stades de développement de la processionnaire du pin vont également subir la pression de prédateurs. Les imagos sont principalement prédatés par les oiseaux et les chiroptères. Les œufs peuvent être prédatés par une espèce d'orthoptère *Ephippiger ephippiger* (Démolin & Delmas, 1967). Les chrysalides sont attaquées par une espèce d'oiseau, la huppe fasciée *Upupa epops* dont la forme du bec est adaptée à déterrer les nymphes enfouies (Barbaro et al., 2008). Enfin les chenilles de tous les stades larvaires peuvent être prédatés dans leur nid par des oiseaux, en particulier des mésanges (Pimentel & Nilsson, 2007). Le coucou gris *Cuculus canorus* est aussi connu comme prédateur des chenilles de processionnaire du pin (Biliotti, 1958).

I.3.3. Impact économique, environnemental et sanitaire

La processionnaire du pin est à l'origine une espèce forestière, mais la plantation de son hôte à des fins de culture ou d'ornementation l'a fait sortir de ce cadre. Au niveau économique, les répercussions de sa présence sont de deux ordres. D'abord la défoliation d'un pin par la processionnaire du pin provoque une perte de croissance, tant en circonférence qu'en hauteur. Chez le pin maritime (*Pinus pinaster* Aiton) il a été montré un déficit de biomasse de près de 50% chez des arbres modérément défoliés et de plus de 70% chez des arbres très défoliés (Arnaldo et al., 2010). Cette perte de croissance est particulièrement dérangeante pour les exploitants forestiers qui cherchent à avoir des arbres matures le plus rapidement possible. Le second impact économique imputable à la processionnaire du pin est

dans le coût des traitements qui sont mis en œuvre contre elle. Une enquête réalisée en France par Leblond *et al.* (2010) a montré que parmi les communes touchées par la processionnaire du pin qui avaient répondu à l'enquête, le budget moyen de lutte contre ce ravageur s'élève à 3450€ et le budget maximal alloué était de 50000€. Depuis que les pins sont utilisés comme essence ornementale dans les parcs et jardins, la processionnaire du pin a un impact sanitaire important. Les poils urticants sont particulièrement nocifs pour l'être humain et les animaux et une exposition se traduit souvent par une réaction allergique de type urtication mais pouvant parfois conduire à un choc anaphylactique (Battisti et al., 2011). Dans les zones nouvellement colonisées, la population ne connaît pas les dangers liés à cet insecte et le risque d'exposition à des urtications, surtout lors des périodes de processions, est particulièrement élevé. Chez les animaux, l'ingestion de poils urticants lors des processions de nymphoses est le risque principal notamment chez le bétail. Ceci peut provoquer des nécroses de la langue et des atteintes du système respiratoire (Bruchim et al., 2005). La ressemblance des symptômes avec des maladies contagieuses du type fièvre aphteuse peut être extrêmement grave pour les éleveurs. Enfin, la processionnaire du pin va aussi avoir un impact écologique. Les fortes défoliations provoquées par les chenilles vont affecter la régénération naturelle des forêts de pins. Hodar *et al.* (2003) ont montré que des pins défoliés par des chenilles de processionnaires du pin produisaient moins de cônes et moins de graines. De plus, Hodar & Zamora (2004) ont montré que l'expansion de ce papillon en réponse au réchauffement climatique menaçait des populations de pins relictuels en Espagne. Les fortes défoliations vont aussi modifier les caractéristiques physico-chimiques des pins pouvant être nocifs pour les autres espèces inféodées à cette essence (Hodar et al., 2004; Honkanen et al., 1999).

I.4. Problématiques et objectifs de la thèse

Le principal objectif de ce travail a été d'étudier l'impact de l'expansion d'un insecte ravageur sur son interaction à la fois avec les espèces autochtones dans les zones nouvellement colonisées et avec ses ennemis naturels. Le modèle d'étude que nous avons utilisé a été la processionnaire du pin. Cet insecte est connu depuis maintenant longtemps, tant pour les défoliations qu'il provoque sur les pins que pour le caractère urticant de ces chenilles. Mais ces dernières années, les nombreuses études à son sujet ont permis d'accroître considérablement nos connaissances sur son implication dans les processus écologiques et sur sa sensibilité au changement climatique actuel et futur. Le suivi de l'expansion de cette espèce

effectué tous les ans dans le laboratoire permet de connaître précisément l'étendue de sa répartition. La vitesse de son expansion en altitude et en latitude a été calculée et des modèles ont estimés son expansion dans les années à venir. Nous connaissons donc l'histoire de l'expansion de ce ravageur.

Le succès des espèces invasives est souvent relié à l'absence d'ennemis naturels dans leur nouveau milieu, c'est la théorie de "l'Enemy release hypothesis". Ce phénomène ne se retrouve pas seulement chez les espèces invasives, il a été aussi montré chez les populations d'espèces en expansion au niveau des milieux nouvellement colonisés. L'hypothèse d'un fait similaire chez la processionnaire du pin a constitué notre premier axe de recherche : l'expansion de la processionnaire du pin et son succès invasif aux limites de son aire de répartition peuvent-ils être dus à un échappement de l'espèce à ses ennemis naturels ?

Ainsi, nous avons réalisé deux études complémentaires pour tenter d'identifier un échappement de la processionnaire à ses ennemis naturels et d'en comprendre les raisons. La première étude vise à identifier l'échappement de la processionnaire du pin à ses parasitoïdes oophages grâce à un suivi du parasitisme le long de plusieurs zones d'expansion et à identifier l'impact du climat, indépendamment de l'expansion de l'hôte, sur ces parasitoïdes. La seconde expérimentation cherche, au travers d'une étude préliminaire de la génétique des populations des deux espèces de parasitoïdes majoritaires, à comprendre par quelles voies les parasitoïdes oophages suivent leur hôte durant son expansion.

Les espèces invasives peuvent être plus compétitives que les espèces autochtones et provoquer leur déplacement ou, dans des cas extrêmes, leur extinction. Ceci peut être d'autant plus préoccupant lorsque ces espèces se trouvent être très localisées ou protégées. L'expansion de la processionnaire du pin dans les Hautes Alpes l'a amené dans le territoire d'un autre lépidoptère inféodé aux pins, l'Isabelle de France. Cette espèce protégée semble être en déclin dans les zones colonisées par la processionnaire du pin. Cette constatation nous a mené à notre second axe de recherche : La processionnaire du pin pénètre dans des milieux où jusqu'alors elle était absente. L'arrivée de ce nouveau compétiteur va-t-elle affecter les espèces partageant la même ressource alimentaire ?

Pour identifier l'impact de la processionnaire du pin sur cette espèce, nous avons réalisé trois expérimentations. La première étude a pour but d'étudier l'effet des indices de présence des chenilles de processionnaires du pin sur un arbre sur la colonisation future de cet arbre par l'Isabelle de France. La seconde étude vise à identifier l'impact d'une défoliation

d'un pin par la processionnaire du pin sur la survie et le développement des chenilles d'Isabelle de France s'y développant par la suite. La réponse induite de l'arbre face à la défoliation de la processionnaire du pin pourrait avoir un impact sur les chenilles d'Isabelle de France. Cette étude a été acceptée pour une publication dans le journal *Integrative Zoology*. La troisième étude vise à identifier la possibilité d'un déplacement des ennemis naturels de la processionnaire du pin sur le nouvel hôte potentiel qu'est l'Isabelle de France.

Ces deux axes de recherche sont présentés dans deux chapitres distincts chacun divisés en quatre parties. Les trois premières sont dédiées à chacune des études, la quatrième partie quant à elle, vise à regrouper les résultats de chacune des études et offrir une vue d'ensemble de la problématique étudiée.

Le manuscrit se termine par un chapitre de conclusion et discussion replaçant les résultats obtenus dans le cadre de l'expansion des insectes ravageurs avec le réchauffement climatique et l'impact pour les écosystèmes.

Chapitre II

Interactions hôte parasite avec le réchauffement climatique :

Les parasitoïdes oophages arrivent-ils à suivre l'expansion de la processionnaire du pin ?

II.1. Introduction générale

La théorie de ‘l’Enemy Release Hypothesis’ relie le succès des espèces invasives à l’absence de leurs ennemis naturels dans leur nouveau milieu (Keane & Crawley, 2002; Liu & Stiling, 2006). Chez les espèces invasives, l’introduction dans un nouveau milieu est le résultat d’un transport par l’homme sur une longue distance (Kolar & Lodge, 2001; Richardson et al., 2000). Seule une fraction de la population d’origine, à un stade de développement donné est transportée. La probabilité d’un transport simultané d’ennemis naturels est donc très faible (Colautti et al., 2004). Une fois introduits dans ce nouveau milieu, ces individus sont libérés de la pression de régulation de leur population par des ennemis naturels spécialistes, qu’ils soient prédateurs, parasites ou pathogènes ceci aidant à améliorer leur capacité d’expansion (Keane & Crawley, 2002; Mitchell & Power, 2003). Dans le milieu nouvellement colonisé, des parasites et/ou prédateurs locaux sont susceptibles d’ajouter ce nouvel arrivant à leur spectre d’hôtes potentiels. Cependant l’éloignement taxonomique de cette nouvelle espèce par rapport aux espèces locales peut empêcher ce changement d’hôte au travers d’incompatibilités comportementales ou physiologiques nécessitant une adaptation de la part des prédateurs potentiels (Geervliet et al., 2000; Vos & Vet, 2004). Au travers d’une étude de synthèse sur les insectes phytophages et leurs parasitoïdes dans les régions natives et envahies, Cornell & Hawkins (1993) ont montré que les populations en milieux envahis avaient une diversité de parasites et un taux de parasitisme réduits.

Ces théories ont été principalement étudiées sur des espèces invasives qui avaient été transportées par l’homme sur de grandes distances en laissant la totalité de leurs ennemis naturels dans leur aire d’origine.

Dans le cas des espèces dont l’aire de répartition est en expansion, il n’est pas question de translocation sur de longues distances mais de dispersion naturelle de la population. Ainsi, une fois les facteurs limitants l’expansion levés, celle-ci ne sera dépendante que de la capacité et de la vitesse de dispersion de l’espèce (Menendez et al., 2008). Si l’aire de répartition des ennemis naturels est uniquement limitée par celle de leur hôte et s’ils ont une capacité de dispersion équivalente, ils vont être capables de suivre sa progression. Au sein de l’aire de répartition naturelle d’une espèce, il apparaît des variations dans l’abondance et la diversité biologique de ses ennemis naturels (Holt, 2003). La pression des ennemis naturels est moins forte aux limites de l’aire de répartition de leur hôte.

La hausse des températures en Europe est responsable de l'expansion de l'aire de répartition vers le nord de plus d'une vingtaine d'espèces de lépidoptères de l'ordre de 35 à 240 kilomètres (Parmesan et al., 1999). Quelles sont les conséquences de cette expansion sur les espèces qui leur sont inféodées ? Vont-elles suivre leurs hôtes ou bien, comme chez les espèces invasives, l'hôte échappera ainsi à la pression des ces ennemis naturels ? Parmi les espèces en expansion géographique en Europe, l'exemple de *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić (Lepidoptera: Gracillariidae) est particulièrement impressionnant. Cette espèce, vraisemblablement native des Balkans, s'est en 20 ans propagée dans la quasi totalité de l'aire de répartition de son hôte principal, le marronnier d'inde (*Aesculus hippocastanum* L.), à la vitesse de 60 kilomètres par an (Augustin et al., 2009a; Augustin et al., 2009b). Le succès et la vitesse d'expansion de cette espèce peuvent être expliqués par son multivoltinisme avec deux à quatre générations par an qui permet à la population d'avoir un caractère éruptif et par son taux de prédation et de parasitisme relativement bas (Augustin et al., 2009a) et diminuant encore dans les zones récemment colonisées (Hernández-López et al., 2011). Une étude réalisée sur les parasitoïdes de cette espèce a montré que le taux de parasitisme était fonction du temps depuis lequel l'espèce était présente dans une région. Il faudrait un minimum de deux décennies pour que les parasitoïdes natifs de cette région commencent à montrer les premiers signes d'adaptation à ce nouvel hôte (Grabenweger et al., 2010). De plus Hernández-López et al. (2011) ont établi, par une étude phylogéographique d'un parasitoïdes des pupes de *C. ohridella* que l'expansion de cette espèce n'était pas forcément suivie par ses parasitoïdes et que le parasitisme observé dans les zones colonisées récemment était dû à des parasitoïdes natifs de ces zones. Chez le lépidoptère *Phyllonorycter leucographella* en expansion au Royaume-Uni, Grobler & Lewis (2008) ont montré une diminution de la richesse spécifique des parasites et du taux de parasitisme dans les zones les plus récemment colonisées. De la même manière Menendez et al. (2008) ont relevé chez *Aricia agestis* également en expansion au Royaume-Uni une diminution du taux de parasitisme corrélé à l'âge des populations de l'hôte. Cependant chez cette espèce, la richesse spécifique des parasitoïdes ne diminue pas, les espèces qui n'ont pas réussi à suivre l'expansion de leur hôte sont remplacées par d'autres espèces qui étaient déjà présentes dans les zones nouvellement colonisées.

Nous avons la capacité, sur le territoire français, de suivre en temps réel l'expansion de la processionnaire du pin. Donc, à ce même titre, nous pouvons connaître la réponse de ses ennemis naturels. Chez la processionnaire du pin, tous les stades de développement connaissent des ennemis naturels qui leur sont propres. Les adultes sont attaqués principalement par des oiseaux (Biliotti, 1958), les chenilles et les chrysalides subissent la

pression de parasitoïdes (Biliotti, 1956, 1958) et des oiseaux (Barbaro et al., 2008; Battisti et al., 2000; Biliotti, 1958) et les œufs sont prédatés ponctuellement par les ephipigères (Démolin & Delmas, 1967) mais sont surtout parasités par plusieurs espèces d'Hyménoptères appartenant à la famille des chalcidiens. De nombreuses études ont été réalisées sur les parasitoïdes dans de nombreux pays à travers l'Europe et l'Afrique du Nord (Mirchev et al., 1998; Mirchev et al., 2004; Mirchev & Tsankov, 2000; Schmidt et al., 1999; Tsankov et al., 2006; Tsankov et al., 1995, 1998) ce qui nous permet d'avoir une bonne connaissance des espèces de parasitoïdes oophages associés à la processionnaire du pin. Sur l'ensemble des études, plusieurs espèces ont été identifiées dans tout le bassin méditerranéen. Deux espèces sont systématiquement majoritaires, *Baryscapus servadeii* qui est considéré comme un spécialiste de cette espèce et *Ooencyrtus pityocampae* considéré comme un généraliste et observé chez d'autres espèces de lépidoptères et d'hémiptères (Battisti, 1989; Géri, 1980; Lopez-Sebastian et al., 2004). Aux côtés de ces deux espèces, d'autres ont une influence beaucoup moins importante sur les populations, on retrouve ainsi dans presque toutes les études *Anastatus bifasciatus* et *Trichogramma sp* (parfois identifié en *Trichogramma embryophagum*). Ces deux espèces sont retrouvées dans tous les pays étudiés. D'autres espèces sont ponctuellement identifiées dans certains pays. On retrouve ainsi *Baryscapus transversalis* Graham dans les Balkans (Mirchev et al., 1998; Mirchev et al., 1999; Tsankov et al., 1999); *Eupelmus vesicularis* (Retzius) en Bulgarie (Tsankov et al., 1996b); *Pediobius bruchicida* (Ron.) en Macédoine (Tsankov et al., 2006) et d'autres *Pediobius sp.* en Bulgarie (Mirchev et al., 1998) et en Grèce (Tsankov et al., 1999).

En France, on retrouve quatre espèces de parasitoïdes s'attaquant aux œufs de la processionnaire du pin (Biliotti, 1958; Géri, 1980). *Ooencyrtus pityocampae* et *Baryscapus servadeii* représentent les deux plus importants parasitoïdes de la processionnaire du pin. Les deux autres espèces, dont l'action est très faible, sont *Anastatus bifasciatus* et *Trichogramma sp* (Géri, 1980). Au moins trois de ces quatre espèces, *B. servadeii*, *O. pityocampae* et *Trichogramma sp*, ont deux générations par an (Géri, 1980; Masutti, 1964). Les adultes émergent au printemps et parasiteront les œufs des pontes récemment déposées. La première génération émergera avant que les chenilles ne soient écloses et parasiteront à nouveau les œufs mais à un stade de développement plus avancé. Les larves passeront l'hiver sous cette forme et émergeront au printemps suivant.

Le relâchement de la pression due aux ennemis naturels et, plus particulièrement, aux parasitoïdes lié au réchauffement climatique pourrait favoriser le maintien et l'expansion des populations au niveau du front.

Ce chapitre vise à comprendre l'évolution de la relation entre la processionnaire du pin et ses parasitoïdes oophages dans le contexte de l'expansion de l'aire de répartition de l'hôte en relation avec le changement climatique. Nous avons mesuré l'impact du parasitisme sur les populations de processionnaire de pin le long de trois transects situés dans trois zones d'expansion de la processionnaire du pin. Des collectes de pontes de processionnaires du pin ont été réalisées à différentes distances du front de colonisation de cette dernière et s'étalent de la zone cœur de l'insecte jusqu'aux limites de son aire de répartition. Cet échantillonnage nous a permis au travers, des deux études qui seront présentées dans la suite de ce chapitre d'étudier les parasitoïdes de la processionnaire du pin et de comprendre comment l'évolution de l'aire de répartition de leur hôte et le changement climatique influent sur leur propre distribution géographique et génétique.

La première étude vise à tester "l'Enemy release hypothesis" (ERH) chez la processionnaire du pin. En effet, l'ERH pourrait expliquer le succès invasif de la processionnaire du pin aux limites de son aire d'expansion et l'absence de cyclicité dans ces populations.

La seconde étude vise à identifier chez les deux principales espèces de parasitoïdes de la processionnaire du pin les processus de suivi de leur hôte par une étude moléculaire d'un fragment d'ADN mitochondrial codant pour le Cytochrome Oxydase I. L'étude génétique nous permettra de savoir si les populations de parasitoïdes retrouvées au niveau des populations de processionnaire du pin les plus récentes ont suivi leurs hôtes depuis leur zone d'origine, ou étaient présents avant son arrivée.

Pour conclure ce chapitre, une discussion générale regroupera les résultats de ces trois études et tentera d'identifier l'évolution de la relation entre les parasitoïdes et leur hôte dans le contexte du changement climatique.

II.2. Echappement de la processionnaire du pin à ses parasites oophages.

II.2.1. Introduction

Les ennemis naturels sont moins présents aux limites de l'aire de répartition de leur hôte (Colautti et al., 2004). Dès les premières études à propos des parasitoïdes de la processionnaire du pin en France, ce phénomène a été observé. Ainsi, Biliotti (1958) observait en limite d'aire de répartition latitudinale de la processionnaire du pin un taux de parasitisme très faible uniquement dû au parasitoïde *Trichogramma sp.*. De même, dans un col Corse à 1300 mètres d'altitude les *Trichogramma sp.* étaient seuls responsables du parasitisme et quelques individus d'*O. pityocampae* avaient également été observés. Ce phénomène pourrait causer une mortalité moins importante au niveau du front et augmenter la taille des colonies améliorant ainsi la capacité de colonisation de l'espèce.

Les différences climatiques en latitude ou en altitude affectent le cycle de développement de la processionnaire du pin (Démolin, 1969). Plus on se déplace vers le Nord ou plus on monte en altitude, et plus la température moyenne diminue. Ceci provoque l'augmentation de la durée de développement larvaire et le décalage de la période de vol. Cela est vrai partout, sauf dans les régions à climat océanique où l'évolution larvaire sera plus rapide (Démolin 1969). Cette modification va affecter la période de ponte des adultes et donc le moment où les œufs seront disponibles pour les parasitoïdes. Bien que les parasitoïdes soient capables de survivre plusieurs semaines (Dulaurent et al., 2011), une émergence trop prématurée pourrait réduire la probabilité de trouver des œufs à parasiter. Pour un parasitoïde généraliste comme *O. pityocampae*, on peut supposer qu'il sera capable de trouver un hôte alternatif en cas d'absence d'œufs de processionnaire du pin, mais pour le parasitoïde spécialiste *B. servadeii* cette désynchronisation pourrait provoquer une chute de ses populations. De plus, les parasitoïdes pourraient avoir une tolérance aux températures différente de leur hôte et les conditions climatiques plus rudes des zones nouvellement colonisées pourraient provoquer une mortalité hivernale plus importante. La processionnaire du pin pourrait se soustraire à ses parasitoïdes oophages grâce à sa vitesse d'expansion, mais le climat pourrait indépendamment jouer un rôle sur leur capacité à suivre leur hôte.

Cette étude a pour but d'analyser l'impact de l'expansion de l'aire de répartition de la processionnaire du pin vers le nord et en altitude sur sa relation avec ses parasitoïdes

oophages. Nous avons étudié, le long de trois transects s'étendant chacun dans une zone d'expansion de la processionnaire du pin, plusieurs paramètres liés aux pontes et aux parasites les attaquant afin de tester l'hypothèse d'une évasion de l'espèce à ses ennemis naturels pendant l'expansion de son aire de répartition. Des études précédentes sur d'autres lépidoptères en expansion ont montré la forte relation entre le taux de parasitisme, la richesse spécifique des parasitoïdes et la date de colonisation du milieu par leur hôte (Grabeweger et al., 2010; Grobler & Lewis, 2008). En calquant nos prélèvements sur les zones d'expansion de la processionnaire du pin, nous pouvons ainsi étudier des populations de plus en plus récentes jusqu'au front de colonisation.

Grâce à ces prélèvements nous avons cherché à répondre aux questions suivantes :

- L'expansion en latitude et en altitude affecte-t-elle la morphologie des pontes de processionnaire du pin ?
- L'expansion de la processionnaire du pin avec le réchauffement climatique affecte-t-elle le taux de parasitisme, la richesse spécifique et l'abondance de ses parasitoïdes ?
- Toutes les espèces de parasitoïdes oophages associées à la processionnaire du pin sont-elles affectées de la même manière ?
- Le même effet est-il observable entre l'expansion latitudinale et l'expansion altitudinale ?

De plus, nous avons réalisé une expérimentation complémentaire afin d'apprécier l'impact propre du climat sur la phénologie des parasitoïdes. Nous avons collecté, le long d'une zone d'expansion des pontes de processionnaire du pin depuis la zone cœur vers la zone de front. Les pontes ont été ensuite soumises à des conditions qui différaient de leur zone d'origine. Des capteurs climatiques ont été posés dans chaque zone afin de contrôler les différences de températures, et des pièges à phéromones pour la processionnaire du pin ont été installés pour mettre en relation la phénologie du lépidoptère avec celle de ses ennemis naturels dans le contexte du changement climatique et de l'expansion d'aire de répartition de l'hôte.

L'étude de ces différents paramètres nous permettra d'apprécier l'impact de l'expansion de l'aire de répartition de la processionnaire du pin sur son évasion à ses ennemis naturels dans les zones nouvellement colonisées.

Les données obtenues lors de cette étude ont été partiellement utilisées pour la rédaction de deux articles scientifiques, l'un paru dans le journal *Forêt Wallone* (Annexe 1) et le second paru dans le journal *Biological Invasions* (Annexe 2).

II.2.2. Matériel et méthodes

- **Zone d'étude**

Pour étudier la manière dont les parasitoïdes suivent la progression de la processionnaire du pin en latitude et en altitude, des pontes ont été collectées le long de trois transects situés chacun dans des zones de forte progression de la processionnaire du pin. Chez le lépidoptère *P. leucographella*, les diminutions du taux de parasitisme et de la richesse spécifique des parasitoïdes durant son expansion vers le nord ont été reliées à la latitude (Grobler & Lewis, 2008). En effet, il a été démontré un effet de la latitude sur la biodiversité, celle-ci diminue avec le rapprochement aux pôles (Noyes 1989). Ce même effet de la latitude sur le complexe parasitaire n'est pas montré chez une autre espèce en expansion dans la même région (Menendez et al., 2008). Nous avons donc échantillonné à la fois sur des transects latitudinaux et altitudinaux pour pouvoir faire une distinction entre les effets de la latitude et les effets de l'âge des populations de l'hôte sur le parasitisme. Le premier transect étudié, appelé transect Bassin Parisien par la suite, se situe à l'Ouest de la France et s'étend du Sud vers le Nord en suivant l'expansion latitudinale de la processionnaire du pin vers la région parisienne. Le second, appelé transect Alpes, se situe à l'Est de la France et suit l'expansion altitudinale de la processionnaire du pin dans la vallée de la Durance. Le dernier transect, appelé transect Massif Central, se situe au Sud-Ouest du Massif Central et suit l'expansion altitudinale de la processionnaire du pin dans l'Aveyron.

Les transects sont divisés en 3 zones (5 pour le transect Bassin Parisien). La première appelée zone Cœur correspond à une présence ancestrale de la processionnaire du pin. La zone Néo-colonisée correspond aux territoires envahis par la processionnaire du pin des années 1950 à la fin des années 1990 et la zone Front correspond à la colonisation la plus récente (<15 ans). Pour le transect Bassin Parisien nous avons échantillonné dans deux zones supplémentaires. La zone Refuge Glaciaire correspond au milieu où la processionnaire du pin aurait pu subsister lors du dernier maximum glaciaire et la zone Colonies isolées correspond à des populations introduites artificiellement par l'homme au-delà du front de colonisation de la processionnaire du pin (Robinet et al., 2011).

L'échantillonnage a été réalisé après l'émergence des chenilles entre les mois de septembre et de novembre. Pour chaque transect, les pontes proviennent d'arbres d'une seule essence pour éviter d'observer des différences entre populations qui seraient dues à un effet de l'hôte végétal (Arnaldo & Torres, 2006), et chaque ponte a été collectée sur un arbre différent. L'échantillonnage a été réalisé deux années de suite pour tenter d'apprécier l'évolution interannuelle du taux de parasitisme et de compléter le nombre d'échantillons à notre disposition en vue d'une étude génétique.

- **Echantillonnage de 2008**

En 2008, les pontes de processionnaire du pin ont été collectées le long des 3 transects présentés précédemment. Les détails de l'échantillonnage sont reportés dans le tableau II.1 et la figure II.1.

Dans le transect Bassin Parisien, les pontes ont été collectées en Octobre 2008 sur des pins noirs dans des zones peri-urbaines. Au total 157 pontes ont été prélevées dans six localités : Poitiers et Tours pour la zone Cœur, Orléans pour la zone néo-colonisée, Chartres pour la zone Front et Eragny et Flins pour la zone Colonies isolées. Nous avons moins de pontes pour les populations au-delà du front d'expansion car les populations de processionnaires du pin sont moins importantes et beaucoup plus localisées que dans des zones de présences naturelles, les pontes sont donc moins faciles à trouver.

Dans le transect Alpes, un total de 45 pontes a été collecté sur quatre sites en Septembre 2008 sur des pins sylvestres : Serre-ponçon pour la zone Cœur, Pallon et St Crepin pour la zone Néo-colonisée et Prelles pour la zone Front.

Dans le transect Massif Central, les pontes ont été collectées en Octobre 2008 sur pin sylvestre. Un total de 102 pontes a été prélevé sur six localités : Alseroques, Marcillac et Bozouls pour la zone Cœur, Le Cayrol et Espalion pour la zone Néo-colonisée et St Symphorien de Thénières dans la zone Front.

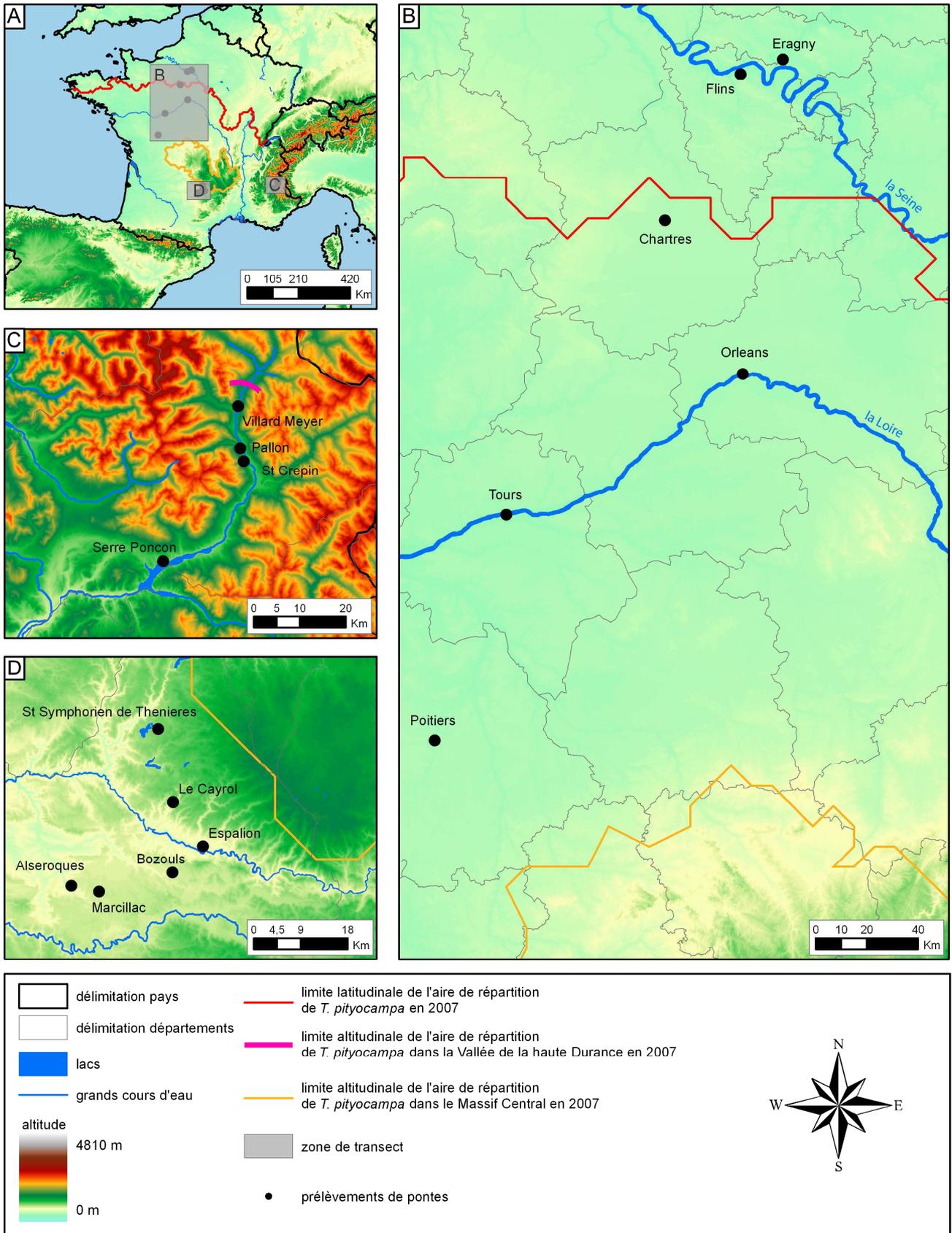


Figure II.1 : Détails des sites d'échantillonnages des pontes de processionnaire du pin sur les trois transects étudiés en 2008

- **Echantillonnage de 2009**

En 2009, les pontes de processionnaire du pin ont été collectées sur les mêmes transects que l'année précédente. Nous avons rajouté des points de collectes supplémentaires et augmenté l'effort d'échantillonnage. Les détails de l'échantillonnage sont reportés dans le tableau II.1 et la figure II.2.

Dans le transect Bassin Parisien, un total de 428 pontes a été collecté en Octobre et Novembre 2009 sur 14 sites le long de la voie d'expansion de la processionnaire du pin sur pin noir en zone peri-urbaine. Les collectes ont été réalisées à Cuenca et Mora de Rubilos en Espagne dans la zone Refuge Glaciaire, Bayonne, Bordeaux, Poitiers et Tours pour la zone Cœur, Vendôme, Orléans et Châteaudun pour la zone Néo-colonisée. Dans la zone Front, nous avons collecté des pontes à Chartres, ainsi que dans deux zones situées respectivement à 16 et 8 kilomètres du front. Enfin, nous avons collecté dans quatre colonies isolées au-delà du front : St Maur des Fossés, Nanterre, Flins et Eragny.

Dans le transect Alpes, un total de 150 pontes ont été collectées en Septembre 2009 sur pin sylvestre (à l'exception du site de Grambois échantillonné sur pin d'Alep). Les collectes ont été réalisées à Grambois et Serre-ponçon pour la zone cœur, Mont Dauphin et St Crépin pour la zone néo-colonisée et Villar Meyer pour la zone front.

Dans le transect Massif Central, 149 pontes ont été collectées en Octobre 2009 sur pin sylvestre dans les 8 sites suivants : Albi, Millau et Marcillac pour la zone Cœur, Le Cayrol, Espalion et Séverac dans la zone Néo-colonisée et St Geniez et Laguiole pour la zone Front.

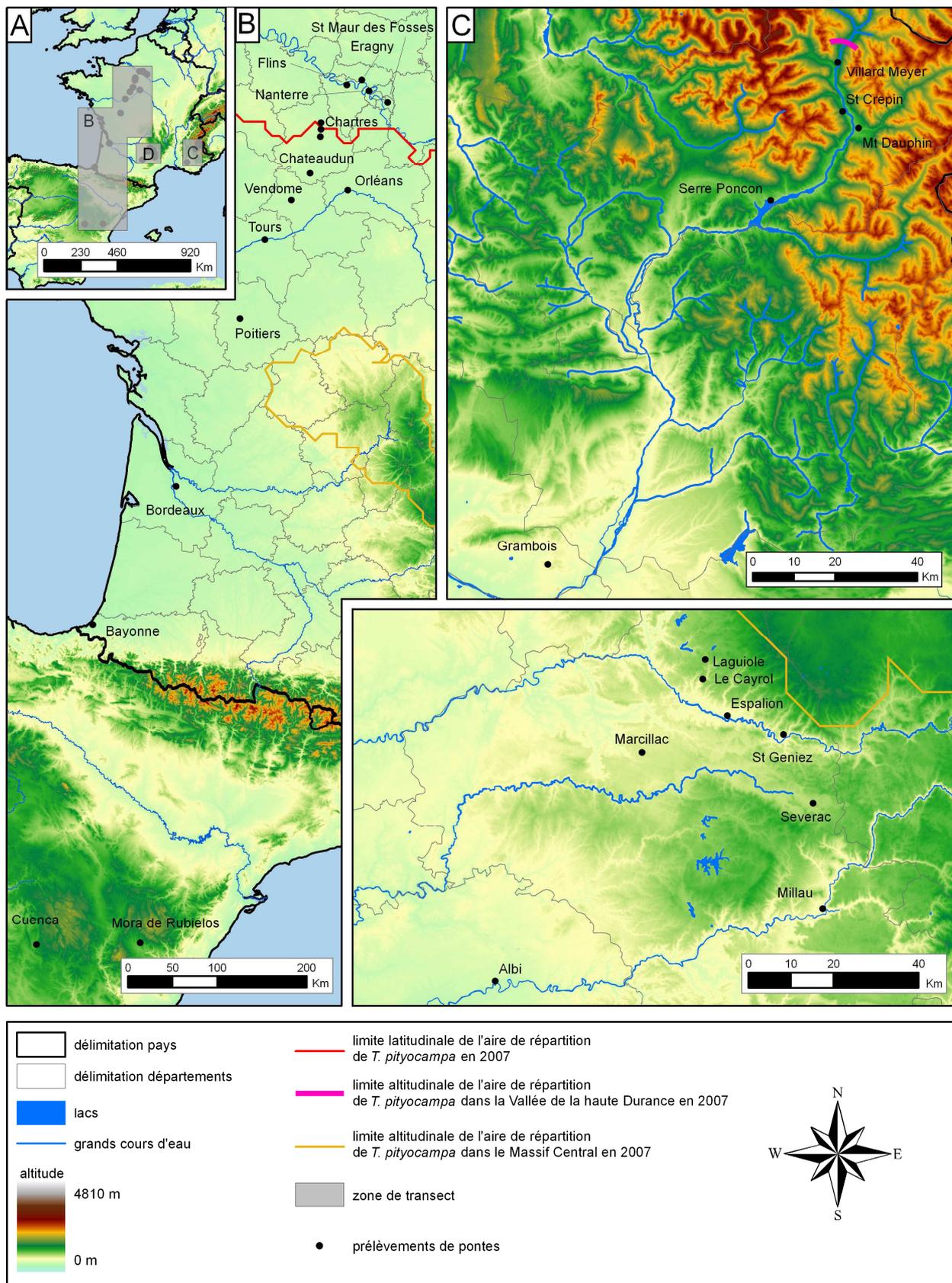


Figure II.2 : Détails des sites d'échantillonnages des pontes de processionnaire du pin sur les trois transects étudiés en 2009

	Année	Zone	Localité	Nombre de pontes	Essence
Transect latitudinal "Bassin Parisien"	2008	Colonies isolées	Eragny	16	Pin noir
			Flins	18	Pin noir
		Front	Chartres	48	Pin noir
		Néo-Colonisée	Orléans	25	Pin noir
		Cœur	Tours	25	Pin noir
	Poitiers		25	Pin noir	
	2009	Colonies isolées	Eragny	30	Pin noir
			Flins	30	Pin noir
			Nanterre	30	Pin noir
			St Maur des Fosses	18	Pin noir
		Front	Front 547-2400	13	Pin noir
			Front 531-2392	27	Pin noir
			Chartes	30	Pin noir
		Néo-Colonisée	Châteaudun	30	Pin noir
			Orléans	30	Pin noir
			Vendôme	30	Pin noir
Cœur		Tours	30	Pin noir	
	Poitiers	30	Pin noir		
	Bordeaux	30	Pin noir		
	Bayonne	30	Pin noir		
Refuge Glaciaire	Mora de Rubielos	30	Pin noir		
	Cuenca	20	Pin noir		
Transect altitudinal "Alpes"	2008	Front	Villard Meyer	10	Pin sylvestre
		Néo-Colonisée	Pallon	10	Pin sylvestre
			St Crepin	10	Pin sylvestre
		Cœur	Serre Ponçon	15	Pin sylvestre
	2009	Front	Villard Meyer	30	Pin sylvestre
		Néo-Colonisée	St Crepin	30	Pin sylvestre
			Mont Dauphin	30	Pin sylvestre
		Cœur	Serre Ponçon	30	Pin sylvestre
Grambois	30		Pin d'Alep		
Transect altitudinal "Massif Central"	2008	Front	St Symphorien	13	Pin sylvestre
		Néo-Colonisée	Le Cayrol	20	Pin sylvestre
			Espalion	10	Pin sylvestre
		Cœur	Marcillac	30	Pin sylvestre
			Bozouls	10	Pin sylvestre
	Alseroques	19	Pin sylvestre		
	2009	Front	Front	13	Pin sylvestre
			St Geniez	20	Pin sylvestre
		Néo-Colonisée	Sévérac	20	Pin sylvestre
			Le Cayrol	22	Pin sylvestre
			Espalion	20	Pin sylvestre
Cœur		Marcillac	20	Pin sylvestre	
	Millau	20	Pin sylvestre		
Core	14	Pin sylvestre			

Tableau II.1 : Détail des pontes collectées sur les différents sites des trois transects étudiés en 2008 et 2009

- **Etude des pontes et identification des parasitoïdes**

Pour les deux années d'échantillonnage, le traitement des pontes et la méthode d'identification des parasitoïdes ont été identiques. Les pontes ont été stockées individuellement dans des tubes en verre bouchés par du coton. Elles ont été conservées en conditions extérieures sous un abri au centre INRA d'Orléans durant un an en attendant que

les parasitoïdes aient émergé des pontes. Les parasitoïdes ont été collectés chaque semaine puis identifiés et conservés en alcool pour de futures études génétiques. Après l'émergence des parasitoïdes, les écailles de chaque ponte ont été retirées, les pontes ont été mesurées et chaque œuf a été analysé. Pour ce faire, après avoir retiré les écailles des pontes, les lignes d'œufs sont marquées aux feutres de différentes couleurs afin de constituer un repère visuel pour le comptage des œufs. Nous avons établi six statuts possibles des œufs après l'émergence des chenilles :

1 – Œufs normalement éclos : Ces œufs présentent le trou d'émergence circulaire caractéristique des chenilles de processionnaire du pin. Il s'agit donc de chenilles qui ont réussi leur développement larvaire.

2 – Chenilles mortes dans l'œuf : Ces œufs ne présentent aucun trou d'émergence, lors de l'ouverture on retrouve à l'intérieur un embryon de chenille à un stade plus ou moins avancé de développement. Ces œufs sont comptés comme de la mortalité naturelle des chenilles.

3 – Œufs vides : Ces œufs ne présentent aucun trou d'émergence, et une fois ouvert, sont totalement vides ou présentent des filaments blanchâtres très peu denses. Ces œufs ont été comptés à part étant donné qu'il ne s'agit pas d'un cas de mortalité des chenilles.

4 – Œufs parasités : Dans ce cas l'œuf présente un trou d'émergence caractéristique plus petit que celui de la chenille. A l'intérieur de l'œuf, on retrouve des restes de l'embryon de la chenille, surtout si le parasitisme a eu lieu à un stade avancé du développement, ainsi que le méconium laissé par le parasitoïde juste avant l'émergence. C'est ce méconium qui servira à l'identification de l'espèce de parasitoïde d'après la méthode décrite par Tanzen et Schmidt (1995).

5 – Parasitoïdes morts dans l'œuf : Ces œufs n'ont pas de trou d'émergence. A l'ouverture, on peut retrouver un adulte mort, dans ce cas l'identification sera aisée, ou une larve morte et dans ce cas l'identification de l'espèce est quasiment impossible tant les larves des différentes espèces sont semblables et bien souvent l'état de la larve morte depuis un moment ne permet pas l'identification.

6 – Parasitoïdes diapausants : Ces œufs n'ont pas de trou d'émergence. A l'ouverture, on retrouve une larve vivante d'hyménoptère, dont l'identification sera impossible. Ces individus allaient passer un second hiver sous forme larvaire. Ils ont été comptabilisés en tant que parasitoïdes non identifiés.

Ainsi pour chaque ponte de chaque localité nous connaissons le nombre total d'œufs, le taux d'éclosion des chenilles, le taux de mortalité naturel des chenilles au stade embryonnaire, le taux de parasitisme total et le taux de parasitisme par espèce.

- **Phénologie des parasitoïdes**

Pour quantifier l'impact propre du climat sur la phénologie et la survie des parasitoïdes, en Septembre 2010 nous avons collecté des pontes de processionnaire du pin sur deux sites du transect Alpes : Serre Ponçon dans la zone Cœur de l'aire de répartition de la processionnaire du pin et Villar Meyer dans la zone Front. Un total de 40 pontes ont été collectées à Serre ponçon et 30 pontes à Villar Meyer. Compte tenu de la proximité de ce site avec le front d'expansion de la processionnaire du pin, la densité de populations y est moins importante et donc les pontes plus difficiles à trouver ce qui explique que nous en ayons moins. Les pontes ont toutes été prélevées sur pin sylvestre. Les lots de pontes ont été divisés en deux dont l'un était entreposé dans son site d'origine et l'autre était transporté dans l'autre site. Ainsi, nous avons au final 35 pontes dans chaque site dont 15 ou 20 pontes natives et 15 ou 20 pontes transloquée. Dans chaque site nous avons également placé des pièges à phéromone de processionnaire du pin pour connaître précisément sa période de vol.

Après constitution des lots, les pontes ont été regroupées dans des petites cages grillagées et placées dans un piège delta accroché à un arbre pour passer l'hiver en condition climatique naturelle. Dans chaque site, nous avons placé un capteur climatique pour comparer les valeurs de températures. Au printemps, les pontes ont été individualisées dans des tubes en verre bouchés par un morceau de coton afin de contrôler l'émergence des parasitoïdes. Le contrôle d'émergence a été effectué une fois par semaine et s'est étalé de la semaine 18 à la semaine 35 de l'année 2011. Tous les parasitoïdes émergés ont été placés dans l'alcool et identifiés. Le relevé et le comptage des mâles adultes de processionnaire du pin capturés dans les pièges à phéromones ont été réalisés dans le même temps.

- **Analyses statistiques**

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (R Development Core Team, 2010). Pour chaque transect, nous avons comparé les différents paramètres mesurés entre les différentes zones étudiées à savoir les zones Cœur, Néo-colonisées et Front pour les trois transects et en plus les zones Refuge glaciaire et Colonies isolées pour le transect Bassin Parisien. Les données des localités appartenant à une même zone ont été regroupées afin de mettre en évidence les variations générales entre les différentes zones étudiées et non les variations locales. La relation entre chaque paramètre et la distance de la population par rapport au front a été testée par une régression linéaire simple. Si une relation était mise en évidence, nous avons comparé les moyennes de chaque zone entre elles à l'aide de multiples tests de comparaisons de moyennes. Pour les valeurs qui suivaient une distribution normale (Test de Kolmogorov-Smirnov) nous avons utilisé le test T de Student entre les différentes zones. Pour les valeurs ne suivant pas une distribution normale, nous avons utilisé le test de Mann-Whitney entre les différentes zones. La valeur de significativité α a été ajustée par la correction de Bonferroni ($\alpha_B=0.05/N$) pour le nombre de tests multiples (N) réalisés dans chaque cas.

II.2.3. Résultats

- **Echantillonnage 2008**

1 - Transect Bassin Parisien

a - Morphologie des pontes

Les 157 pontes prélevées sur les six sites ont permis d'analyser au total 38356 œufs. Toutes les pontes étaient enroulées autour de deux aiguilles de pin noir. La longueur des pontes varie en moyenne de 24,61 mm à 29,73 mm. La distance au front des populations n'a pas d'impact sur la longueur des pontes ($R^2 = 0,00739$; $F_{1, 155} = 1,154$, p-value: 0.2844) (Fig. II.3.a). Le diamètre moyen des pontes varie entre 2,92 mm et 3,25 mm. La distance des populations par rapport au front a une influence sur le diamètre des pontes ($R^2 = 0,04716$; $F_{1, 155} = 7.672$, p-value: 0.006294) (Fig. II.3.b). Les pontes de la zone Colonies isolées ont un

diamètre significativement plus petit que les pontes de la zone Cœur ($t = 4.267$, $df = 78.998$, $p\text{-value} = 5.456e-05$), de la zone Néo-colonisée ($t = 3.7155$, $df = 44.566$, $p\text{-value} = 0.0005628$) et de la zone Front ($t = 4.5109$, $df = 66.466$, $p\text{-value} = 2.695e-05$). Pour les autres populations le diamètre des pontes est équivalent ($p\text{-value} > 0,008$). Le dernier paramètre mesuré sur les pontes est le nombre d'œuf, il varie en moyenne de 233 à 262 œufs par ponte et il n'y a pas d'influence de la latitude des populations sur le nombre d'œufs ($R^2 = 0.003575$; $F_{1, 155} = 0.5561$; $p\text{-value} = 0.457$) (Fig. II.3.c).

b - Taux d'éclosion et parasitisme des pontes

Le taux d'éclosion des chenilles varie en moyenne de 90,52% à 99,10%. Et n'est pas affecté par la latitude des populations ($R^2 = 0.02057$; $F_{1, 155} = 3.256$; $p\text{-value} = 0.07311$) (Fig. II.3.d). Le taux d'éclosion est principalement affecté par deux facteurs : la mortalité naturelle des stades embryonnaire et l'impact des ennemis naturels. Pour la mortalité naturelle, comme pour le taux d'éclosion, celle-ci n'est pas dépendante de la latitude des populations ($R^2 < 0,001$; $F_{1, 155} = 0.004942$; $p\text{-value} = 0.944$) (Fig. II.3.e) et elle varie en moyenne de 0,98% à 4,81%. En ce qui concerne le taux de parasitisme, il varie en moyenne de 0 à 4.67% selon les localités. Il diminue avec l'augmentation de la latitude ($R^2 = 0.04407$; $F_{1, 155} = 7.146$; $p\text{-value} = 0.00832$) (Fig. II.3.f). Les pontes prélevées en zone Cœur ont un taux de parasitisme significativement plus élevé que celles de la zone Front ($t = 3.3641$, $df = 51.091$, $p\text{-value} = 0.001463$) et de la zone Colonies isolées ($t = 3.6061$, $df = 49$, $p\text{-value} = 0.0007271$). Les autres populations ont des taux de parasitisme équivalents ($p\text{-value} > 0.008$). Chez les deux populations de la zone Colonies isolées nous n'avons retrouvé aucun parasitoïde.

c - Abondance et richesse spécifique des différentes espèces de parasitoïdes.

Nous avons retrouvé trois espèces de parasitoïdes parasitant les œufs de processionnaire sur ce transect : *B. servadeii*, *O. pityocampae* et *Trichogramma sp.* (Fig. II.3.g) Le spécialiste *B. servadeii* est l'espèce majoritaire et est retrouvé sur l'ensemble du transect. *O. pityocampae* et *Trichogramma sp* ne sont retrouvés que dans la zone Cœur du transect.

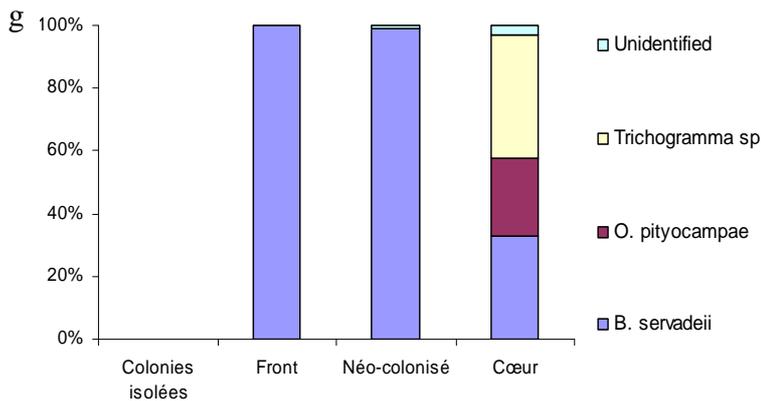
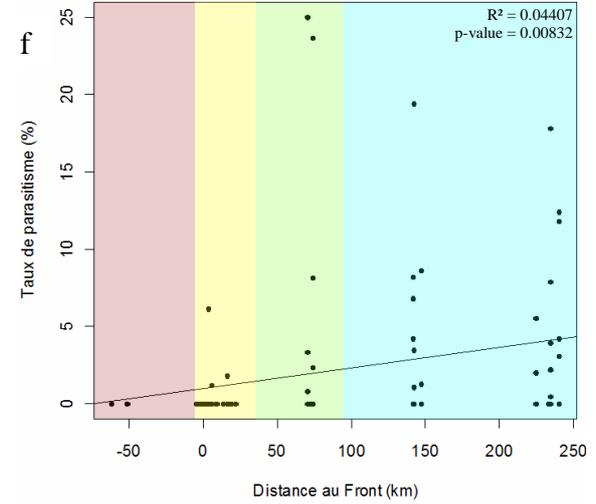
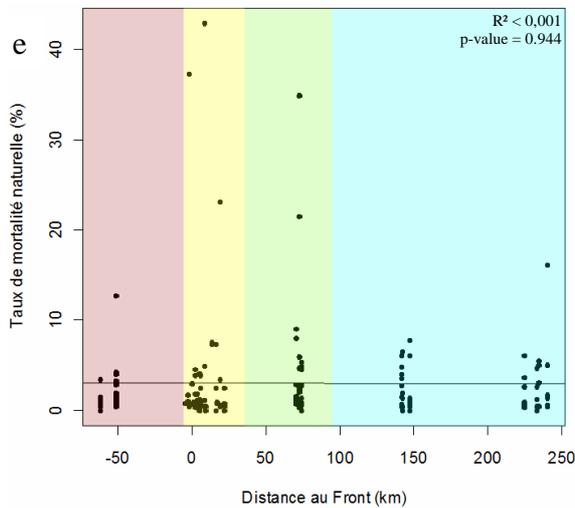
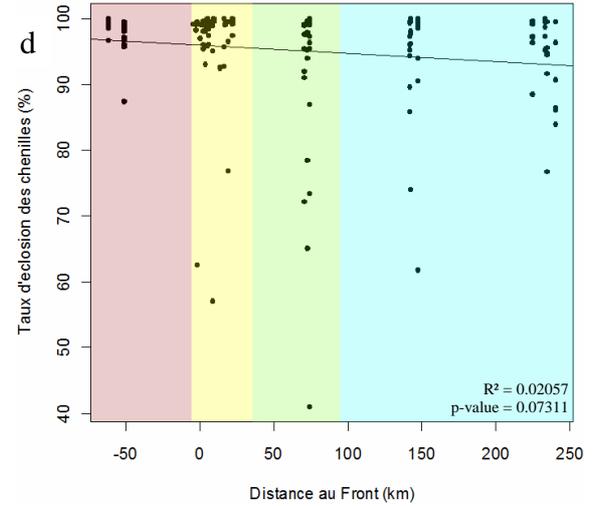
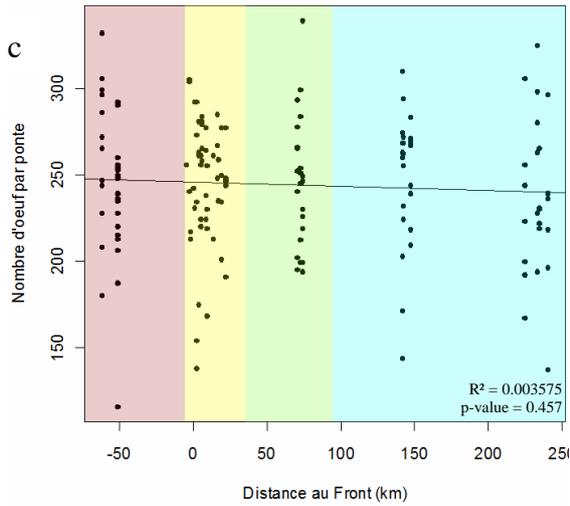
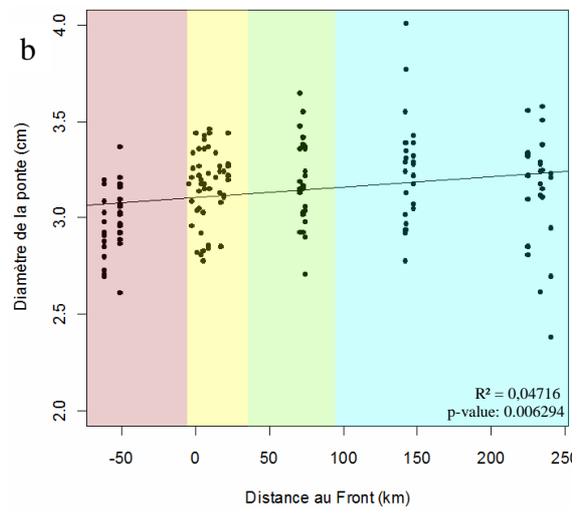
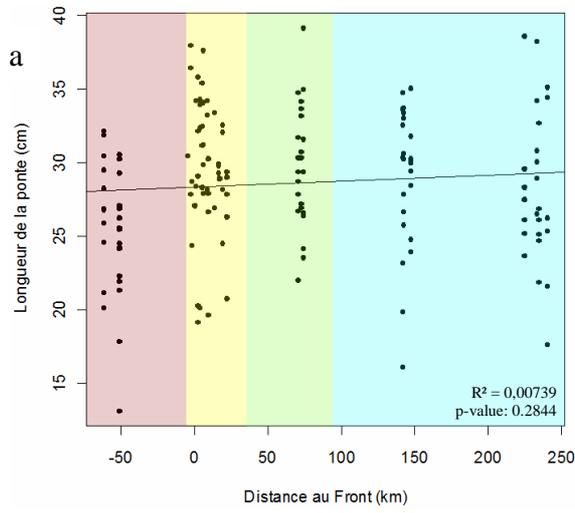


Figure II.3 : (a – f) Corrélations entre les paramètres mesurés sur les pontes et la distance des populations par rapport au front. (g) Taux de parasitisme par espèce dans les différentes zones d'étude.

■ Colonies isolées
 ■ Front
 ■ Néo-colonisée
 ■ Cœur

2 - Transect Alpes

a - Morphologie des pontes

Les 45 pontes prélevées sur les quatre sites ont permis d'analyser 9143 œufs. Les pontes étaient toutes enroulées autour de deux aiguilles de pin sylvestre. Pour l'ensemble des populations la longueur des pontes varie en moyenne de 21,31 mm à 26,72 mm. La longueur des pontes n'est pas corrélée avec la distance des pontes par rapport au front ($R^2 = 0.06703$; $F_{1,43} = 3.09$; p-value: 0.08591) (Fig. II.4.a). Le diamètre des pontes varie en moyenne de 2,99 mm à 3,21 mm. Comme pour la longueur des pontes, le diamètre n'est pas dépendant de la distance par rapport au front ($R^2 = 0.07589$; $F_{1,43} = 3.531$; p-value = 0.06701) (Fig. II.4.b). Le nombre d'œufs par ponte varie en moyenne entre 171 et 234. Là encore il n'y a pas de relation entre la distance des pontes par rapport au front et leur nombre d'œufs ($R^2 = 0.06172$; $F_{1,43} = 2.829$; p-value = 0.09985) (Fig. II.4.c).

b - Taux d'éclosion et parasitisme des pontes

Le taux d'éclosion des chenilles varie en moyenne de 62,33% à 81,31%. La distance des populations par rapport au front semble avoir un effet sur les taux d'éclosions ($R^2 = 0.0872$; $F_{1,43} = 4.108$; p-value = 0.04891) (Fig. II.4.d). La population de zone Cœur a un taux d'éclosion significativement moins élevé que la population de la zone Front ($t = -2.6943$, $df = 21.22$, p-value = 0.01350). La population de la zone Néo-colonisée à un taux d'éclosion équivalent aux deux autres (p-value > 0.017). En ce qui concerne la mortalité naturelle des embryons, elle varie en moyenne de 4,23% à 7,43%, elle n'est pas dépendante de la distance des pontes par rapport au front ($R^2 = 0.04379$; $F_{1,43} = 1.969$; p-value = 0.1677) (Fig. II.4.e). Le taux de parasitisme varie de 11,54% à 33,44% selon les populations. La distance des populations par rapport au front de colonisation affecte significativement le taux de parasitisme dans les pontes ($R^2 = 0.1513$; $F_{1,43} = 7.666$; p-value: 0.008272) (Fig. II.4.f). La zone Cœur a un taux de parasitisme significativement plus élevé que la zone Néo-colonisée ($t = -5.7915$, $df = 28.17$, p-value = 3.142e-06) et que la zone Front ($t = -7.108$, $df = 19.489$, p-value = 7.997e-07) La zone Néo-colonisée a quant à elle, un taux de parasitisme significativement plus élevé que la zone Front ($t = -7.4941$, $df = 27.334$, p-value = 4.273e-08).

c - Abondance et richesse spécifique des différentes espèces de parasitoïdes.

Dans ce transect, quatre espèces de parasitoïdes ont été identifiées (Fig. II.4.g). Le parasitisme est principalement assuré par deux espèces *B. servadeii* et *O. pityocampae*, les deux autres espèces identifiées, *Trichogramma sp* et *A. bifasciatus* ont un impact négligeable sur la processionnaire du pin. Le parasitoïde spécialiste est majoritaire dans la population de la zone front. Au niveau de la zone cœur et de la zone néo-colonisée *B. servadeii* et *O. pityocampae* sont présents dans des proportions équivalentes. On retrouve *Trichogramma sp* en zone Néo-colonisée et en très faible proportion dans la zone Front. Enfin, *A. bifasciatus* est retrouvé dans une proportion négligeable dans la zone Cœur. La grande proportion d'individus non identifiés est principalement due à l'absence de méconium identifiable dans plusieurs œufs présentant les traces caractéristiques d'un parasitisme.

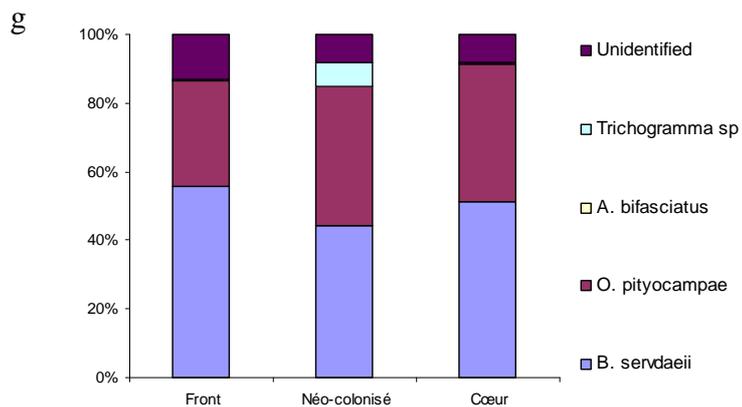
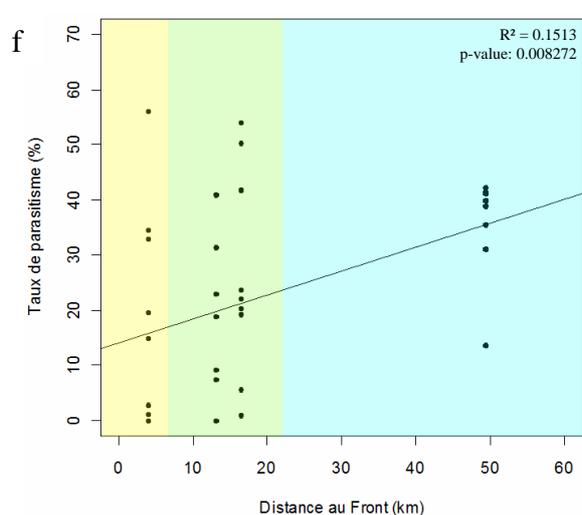
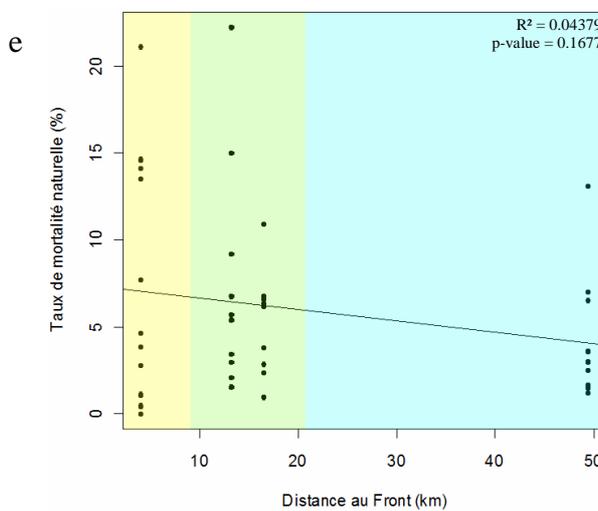
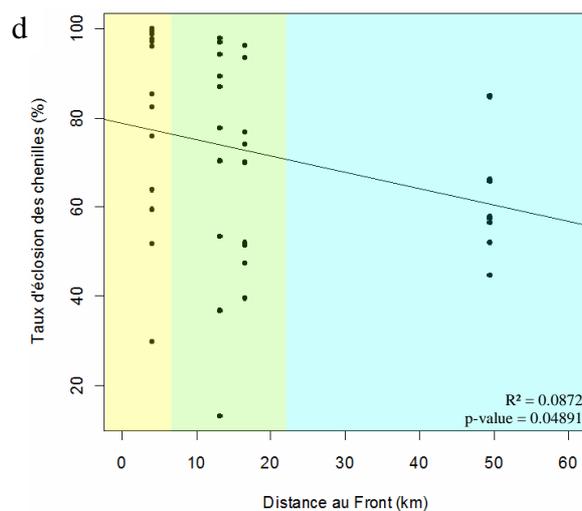
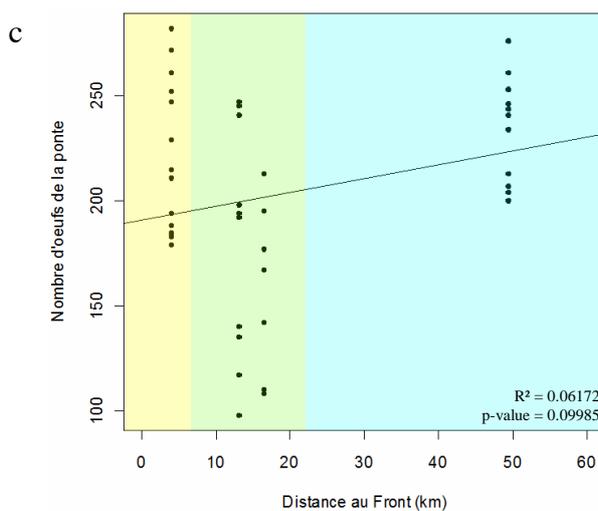
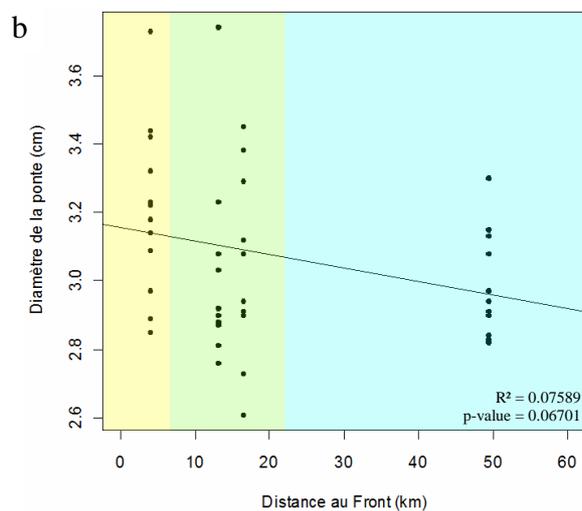
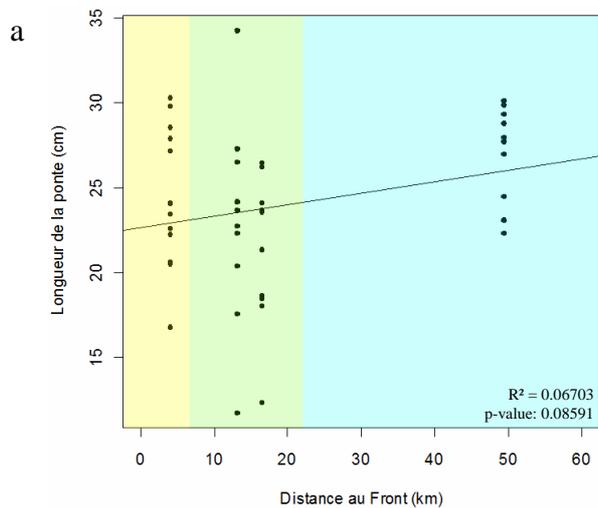


Figure II.4 : (a – f) Corrélations entre les paramètres mesurés sur les pontes et la distance des populations par rapport au front. (g) Taux de parasitisme par espèce dans les différentes zones d'étude.

■ : Front
 ■ : Néo-colonisée
 ■ : Cœur

3 - Transect Massif Central

a - Morphologie des pontes

Les 102 pontes échantillonnées sur les huit sites de ce transect ont permis d'analyser 24218 œufs. Toutes les pontes étaient enroulées autour de deux aiguilles de pin sylvestre. Pour l'ensemble des populations, la longueur moyenne des pontes varie de 23,97 mm à 28,35 mm. La distance par rapport au front n'est pas reliée à la longueur des pontes ($R^2 = 0.0366$; $F_{1, 99} = 3.761$; p-value = 0.05532) (Fig. II.5.a). Le diamètre des pontes varie en moyenne de 3,17 mm à 3,44 mm. Pour ce facteur également, la distance des pontes par rapport au front n'a pas d'impact ($R^2 = 0.0004593$; $F_{1, 99} = 0.04549$; p-value: 0.8315) (Fig. II.5.b). Le nombre moyen d'œufs par ponte varie de 225 à 252. Ce facteur n'est pas non plus dépendant de la distance des pontes par rapport au front ($R^2 = 0.01741$; $F_{1, 99} = 1.755$; p-value: 0.1884) (Fig. II.5.c)

b - Taux d'éclosion et parasitisme des pontes

Le taux d'éclosion dans ce transect varie en moyenne de 90,42% à 97% et n'est pas déterminé par la distance des pontes par rapport au front ($R^2 = 0.0295$; $F_{1, 99} = 3.009$; p-value: 0.08589) (Fig. II.5.d). La mortalité naturelle des embryons varie en moyenne de 1,51% à 3,55%. Ce facteur ne semble pas influencé par la distance des pontes par rapport au front ($R^2 = 0.004488$; $F_{1, 99} = 0.4463$; p-value: 0.5057) (Fig. II.5.e). Enfin, le taux de parasitisme moyen varie de 1,39% à 6,85% dans ce transect. Une nouvelle fois la distance par rapport au front des pontes n'influe pas sur ce facteur ($R^2 = 0.0381$; $F_{1, 99} = 3.922$; p-value: 0.05044) (Fig. II.5.f).

c - Abondance et richesse spécifique des parasitoïdes

Nous avons identifié trois espèces de parasitoïdes des œufs dans ce transect (Fig. II.5.g). Les deux espèces majoritaires sont *B. servadeii* et *O. pityocampae* que l'on retrouve dans toutes les zones du transect. La troisième espèce identifiée est *Trichogramma sp.* que l'on ne retrouve que dans deux localités des zones cœur et néo-colonisée en abondance négligeable. Dans la zone cœur, c'est le parasitoïde spécialiste qui prédomine et plus on se rapproche du front, plus son abondance diminue au profit du parasitoïde généraliste *O. pityocampae*.

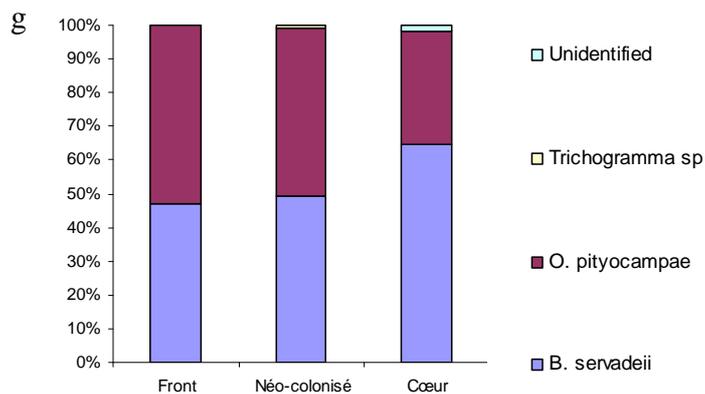
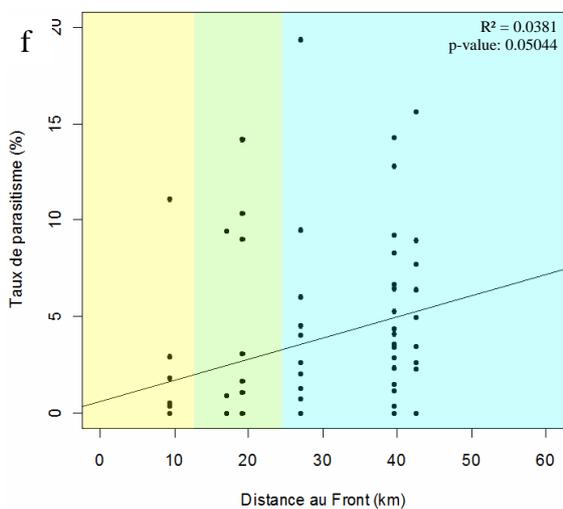
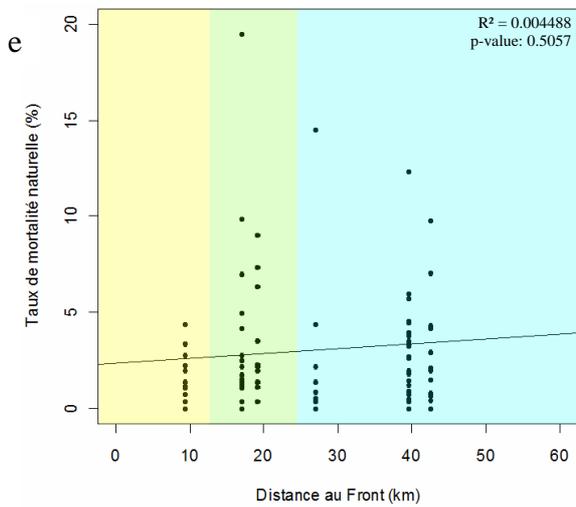
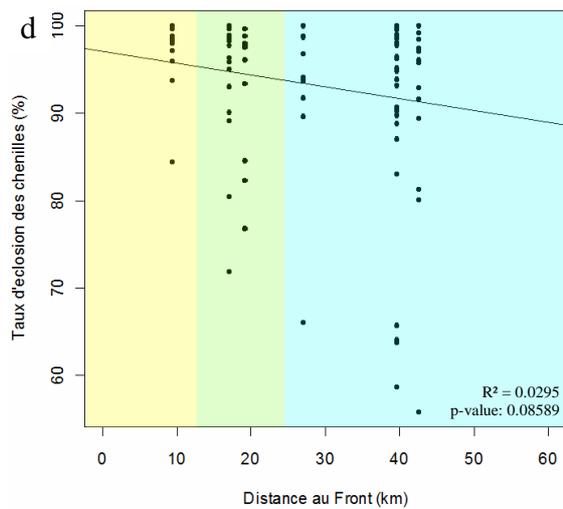
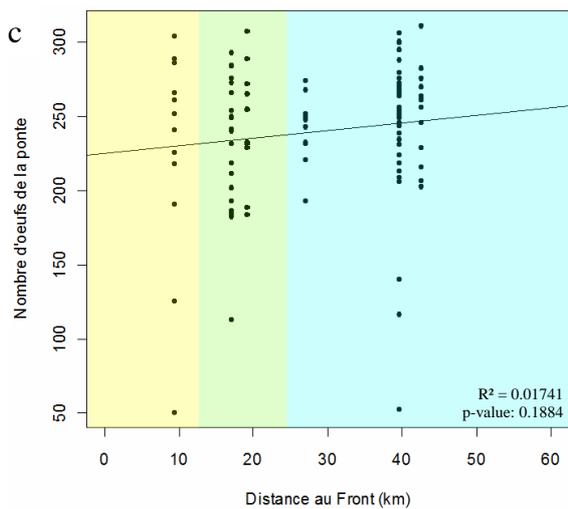
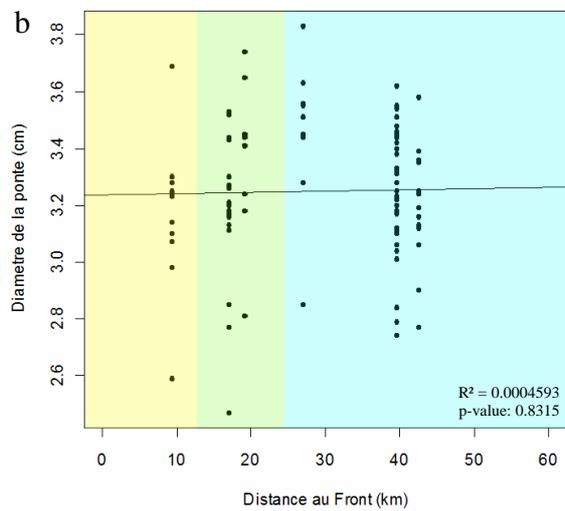
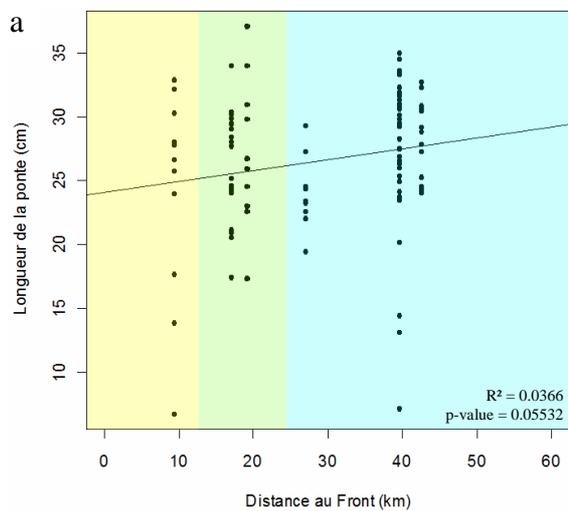


Figure II.5 : (a – f) Corrélations entre les paramètres mesurés sur les pontes et la distance des populations par rapport au front. (g) Taux de parasitisme par espèce dans les différentes zones d'étude.

■ : Front
■ : Néo-colonisée
■ : Cœur

Echantillonnage 2009

1 - Transect Bassin Parisien

a - Morphologie des pontes

Les 429 pontes échantillonnées de la zone de refuge glaciaire en Espagne jusqu'au front au sud de la région parisienne et dans les colonies isolées ont permis d'étudier 101198 œufs. Toutes les pontes étaient enroulées autour de deux aiguilles de pin noir et pondues de la base au sommet de l'aiguille. La longueur moyenne des pontes varie de 24,27 mm à 34,55 mm. La longueur des pontes n'est pas corrélée avec la latitude ($R^2 = 0.001496$; $F_{1, 427} = 0.6399$; $p\text{-value} = 0.4242$) (Fig. II.6.a). Le diamètre des pontes varie en moyenne de 2,76 mm à 3,48 mm et semble corrélé à la latitude ($R^2 = 0.2066$; $F_{1, 427} = 111.2$; $p\text{-value} < 2.2e-16$) (Fig. II.6.b). Les pontes des populations de la zone Refuge glaciaire ont un diamètre significativement plus petit que les pontes de la zone Cœur ($t = -7.7806$, $df = 113.65$, $p\text{-value} = 3.612e-12$), de la zone Néo-colonisée ($t = -9.2205$, $df = 136.234$, $p\text{-value} = 4.913e-16$), de la zone Front ($t = -7.0658$, $df = 102.124$, $p\text{-value} = 2.011e-10$) et des Colonies isolées ($t = -7.2008$, $df = 132.655$, $p\text{-value} = 4.013e-11$). Les pontes des populations de la zone Cœur ont également un diamètre significativement plus petit que celles de la zone Néo-colonisée ($t = -2.9528$, $df = 162.825$, $p\text{-value} = 0.003616$). Les autres populations ont des pontes de diamètres semblables ($p\text{-value} > 0.005$). Le nombre d'œufs par ponte varie en moyenne de 192 à 275. Le nombre d'œufs par ponte est corrélé avec la latitude ($R^2 = 0.02355$; $F_{1, 427} = 10.3$; $p\text{-value} = 0.001431$) (Fig. II.6.c), les pontes des populations de la zone Refuge glaciaire ont significativement moins d'œufs que les pontes de la zone Cœur ($t = -4.4678$, $df = 141.105$, $p\text{-value} = 1.609e-05$), de la zone Front ($t = -2.9457$, $df = 119.065$, $p\text{-value} = 0.003876$) et des colonies isolées ($t = -4.3075$, $df = 147.406$, $p\text{-value} = 3.000e-05$). Les autres populations ont des pontes de tailles équivalentes ($p\text{-value} > 0.005$).

b - Taux d'éclosion et parasitisme

Le taux d'éclosion varie en moyenne entre les populations de 63,12% à 96,22%. Le taux d'éclosion est bien corrélé à la latitude des populations ($R^2 = 0.1333$; $F_{1, 427} = 65.65$; $p\text{-value} = 5.716e-15$) (Fig. II.6.d). Le taux d'éclosion des chenilles est significativement plus bas dans la population de la zone Refuge glaciaire que dans les populations des quatre autres

zones (Refuge vs Cœur : $t = -3.7746$, $df = 96.65$, $p\text{-value} = 0.0002766$; Refuge vs Néo-colonisée : $t = -5.2838$, $df = 95.046$, $p\text{-value} = 8.024e-07$; Refuge vs Front : $t = -7.1987$, $df = 67.524$, $p\text{-value} = 6.426e-10$; Refuge vs Colonies isolées : $t = -7.0428$, $df = 62.499$, $p\text{-value} = 1.747e-09$). Les populations de la zone Cœur ont un taux d'éclosion plus faible que les populations des zones Front ($t = -4.1969$, $df = 173.466$, $p\text{-value} = 4.313e-05$) et Colonies isolées ($t = -3.9326$, $df = 165.999$, $p\text{-value} = 0.0001232$). Les autres populations ont des taux d'éclosion semblables ($p\text{-value} > 0.005$). Le taux moyen de mortalité des embryons varie de 1,62% à 12,43% et n'est pas corrélé à la latitude ($R^2 = 0.001233$; $F_{1, 427} = 0.5272$; $p\text{-value} = 0.4682$) (Fig. II.6.e). Le taux moyen de parasitisme des pontes varie dans ce transect de 0% à 24,45% et est bien corrélé à la latitude ($R^2 = 0.2066$; $F_{1, 427} = 111.2$; $p\text{-value} < 2.2e-16$) (Fig. II.6.f). Les populations de la zone Refuge glaciaire ont un taux de parasitisme significativement plus élevé que toutes les autres populations (Refuge vs Cœur : $t = 3.3364$, $df = 102.534$, $p\text{-value} = 0.001183$; Refuge vs Néo-colonisée : $t = 5.6278$, $df = 88.366$, $p\text{-value} = 2.121e-07$; Refuge vs Front : $t = 8.493$, $df = 55.823$, $p\text{-value} = 1.232e-11$; Refuge vs Colonies isolées : $t = 8.923$, $df = 51.952$, $p\text{-value} = 4.603e-12$). Les populations de la zone Cœur ont un taux de parasitisme significativement plus élevé que les populations des zones Front ($t = 6.2711$, $df = 133.576$, $p\text{-value} = 4.617e-09$) et Colonies isolées ($t = 6.8882$, $df = 117.257$, $p\text{-value} = 2.996e-10$) mais équivalente aux populations de la zone Néo-colonisée ($t = 2.6961$, $df = 200.887$, $p\text{-value} = 0.007611$). Les populations de la zone Néo-colonisée ont un taux de parasitisme plus élevé que les populations des zone Front ($t = 3.283$, $df = 109.74$, $p\text{-value} = 0.001378$) et Colonies isolées ($t = 3.8906$, $df = 92.478$, $p\text{-value} = 0.0001883$) et les populations de la zone Front et de la zone Colonies isolées ont des taux de parasitisme semblables ($t = 1.1536$, $df = 96.485$, $p\text{-value} = 0.2515$). Il est important de noter que nous avons trouvé des parasitoïdes dans les deux colonies isolées les plus proches du front d'expansion de la processionnaire du pin.

c - Abondance et richesse spécifique des parasitoïdes

Nous avons identifié quatre espèces de parasitoïdes dans l'ensemble du transect en 2009 (Fig. II.6.g). Des individus pouvant appartenir à une cinquième espèce ont été trouvés à très faible abondance. Nous n'avons pas été capables d'identifier ces individus, mais après séquençage de leur fragment Barcode, il semblerait qu'ils appartiennent au genre *Eupelmus* (Kaartinen et al., 2010). Au niveau de la zone de refuge glaciaire *O. pityocampae* est le parasitoïde majoritaire. Cette tendance s'inverse une fois la chaîne pyrénéenne passée et dans

les zones Cœur, Néo-colonisées et Front c'est le parasitoïde spécialiste qui est le plus abondant. Dans toutes les zones au moins trois des quatre espèces identifiées sont toujours présentes. Dans les deux colonies isolées où l'on a retrouvé des parasitoïdes, la plus proche du front n'est colonisée que par *B. servadeii* et *O. pityocampae* et le parasitoïde spécialiste représente plus de 95% du parasitisme total. Dans la seconde localité on retrouve quatre espèces dont *B. servadeii*, *O. pityocampae* et les individus appartenant à la nouvelle espèce abondance équivalente ; *Trichogramma sp.* a quant à lui une abondance négligeable.

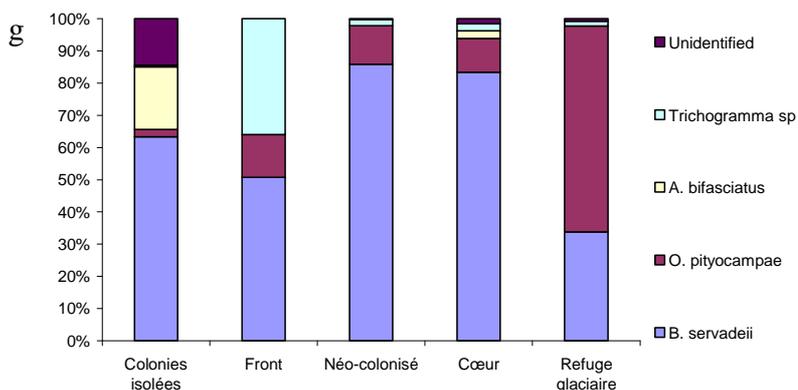
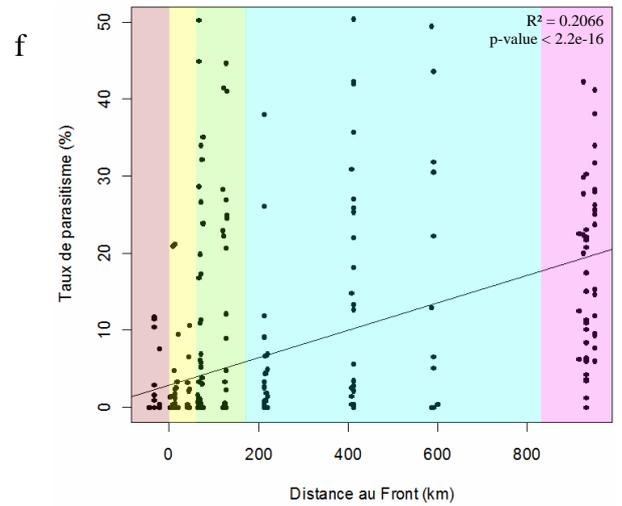
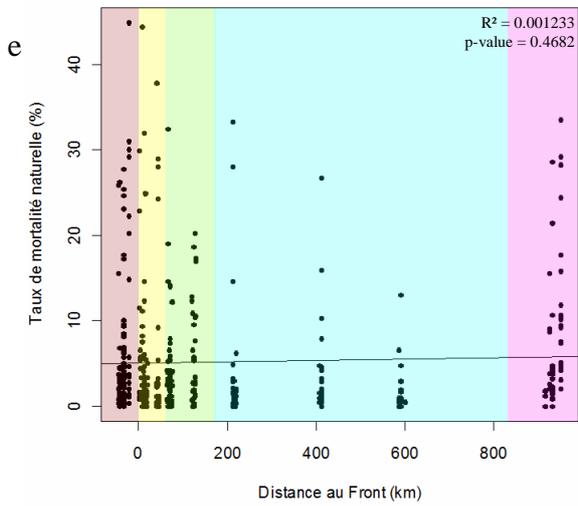
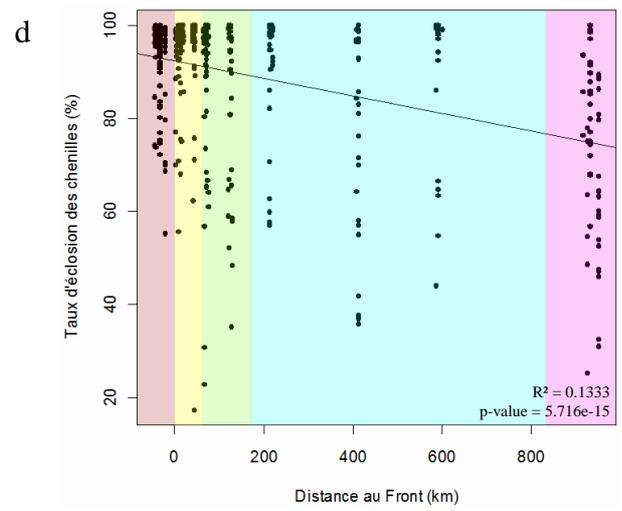
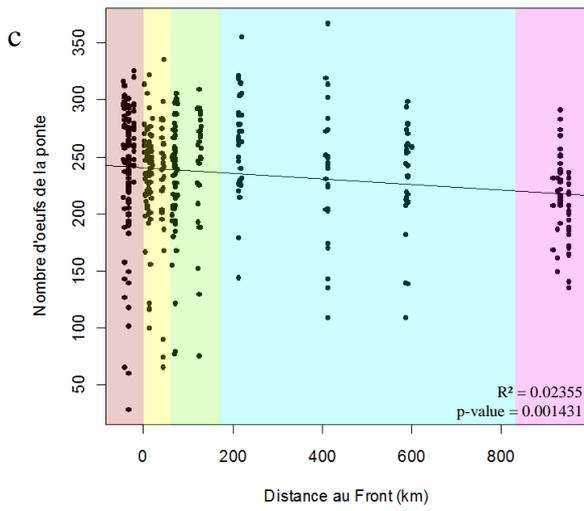
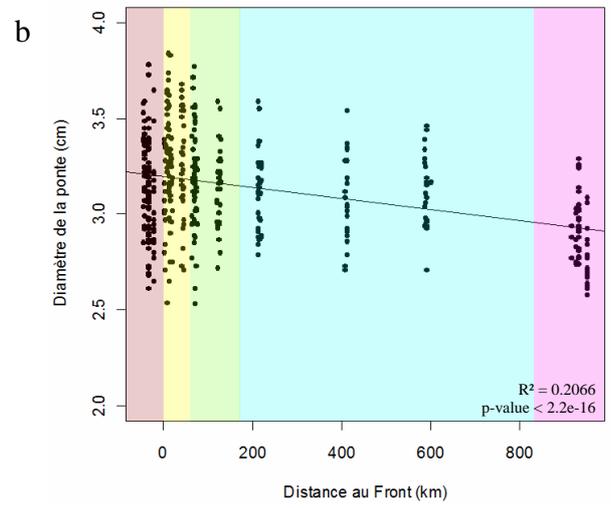
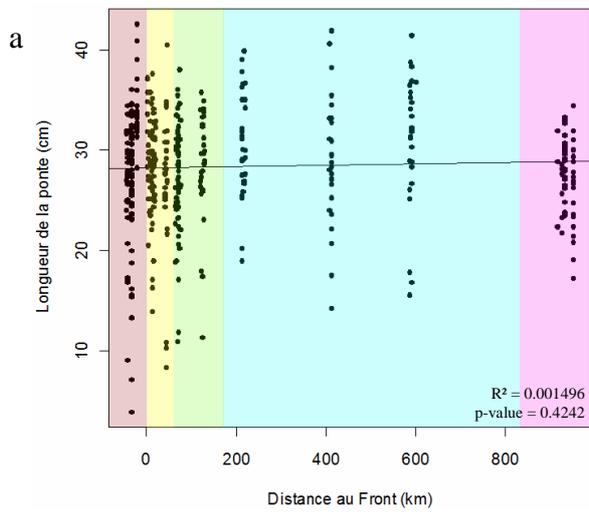


Figure II.6 : (a – f) Corrélations entre les paramètres mesurés sur les pontes et la distance des populations par rapport au front. (g) Taux de parasitisme par espèce dans les différentes zones d'étude.

■ Colonies isolées
■ Front
■ Néo-colonisée
■ Cœur
■ Refuge glaciaire

2 - Transect Alpes

a - Morphologie des pontes

Les pontes prélevées le long du transect altitudinal dans la vallée de la Durance ont permis d'analyser 30104 œufs. Toutes les pontes étaient enroulées autour de deux aiguilles de pin sylvestre, sauf pour la population de Grambois prélevée sur pin d'Alep, et pondue depuis la base vers le sommet de l'aiguille.

La longueur des pontes varie en moyenne entre les populations de 23,7 mm à 26,4 mm et semble être légèrement influencée par leur distance par rapport au front ($R^2 = 0.0298$; $F_{1, 141} = 4.331$; p-value: 0.03924) (Fig. II.7.a), mais quand on compare les populations des trois zones Cœur, Néo-colonisée et Front on ne retrouve pas de différences significatives (p-value > 0.017).

Le diamètre des pontes varie en moyenne de 2.72 mm à 3,17 mm et est corrélé avec la distance des pontes par rapport au front ($R^2 = 0.3286$; $F_{1, 141} = 69.01$; p-value = 7.32e-14) (Fig. II.7.b). Les pontes des populations de la zone cœur ont un diamètre significativement inférieur aux pontes des populations des zone Néo-colonisées ($t = -4.0987$, $df = 90.538$, p-value = 9.042e-05) et Front ($t = -4.0534$, $df = 73.17$, p-value = 0.0001245). Les pontes des deux autres zones ont un diamètre équivalent (p-value > 0.017).

Le nombre d'œufs par pontes varie en moyenne de 200 à 234 œufs et n'est pas corrélé à la distance des pontes par rapport au front ($R^2 = 0.01492$; $F_{1, 141} = 2.136$; p-value = 0.1461) (Fig. II.7.c).

b - Taux d'éclosion et parasitisme

Le taux d'éclosion des chenilles de processionnaire du pin varie en moyenne selon les populations de 50,53% à 72,11% et son augmentation semble corrélée avec la diminution de la distance des populations par rapport au front ($R^2 = 0.07924$; $F_{1, 141} = 12.13$; p-value = 0.0006596) (Fig. II.7.d). Les populations de la zone Cœur on un taux d'éclosion significativement plus bas que les populations de la zone Néo-colonisée ($t = -4.0397$, $df = 111.852$, p-value = 9.848e-05) et de la zone Front ($t = -6.1819$, $df = 59.279$, p-value = 6.34e-08). De la même manière, les populations de la zone Néo-colonisée ont un taux d'éclosion significativement moins élevé que les populations de la zone Front ($t = -2.6762$, $df = 61.16$, p-value = 0.009543).

Le taux de mortalité naturelle des embryons de processionnaire du pin varie en moyenne de 6,48% à 10,34% et il n'est pas corrélé à la distance des populations par rapport au front ($R^2 = 0.01427$; $F_{1, 141} = 2.041$; $p\text{-value} = 0.1554$) (Fig. II.7.e).

Le taux de parasitisme varie en moyenne de 43% à 20% et il diminue significativement avec la distance par rapport au front ($R^2 = 0.1273$; $F_{1, 141} = 20.58$; $p\text{-value} = 1.216e-05$) (Fig. II.7.f). Les populations de la zone Cœur ont un taux de parasitisme significativement plus élevé que les populations des zones Néo-colonisées ($t = -5.5028$, $df = 110.754$, $p\text{-value} = 2.438e-07$) et Front ($t = -7.4955$, $df = 52.368$, $p\text{-value} = 7.714e-10$) et les populations de la zone Néo-colonisée ont un taux de parasitisme significativement plus élevé que les populations de la zone Front ($t = -11.0963$, $df = 52.721$, $p\text{-value} = 2.1e-15$).

c - Abondance et richesse spécifique des parasitoïdes

Nous avons retrouvé dans ce transect trois espèces de parasitoïdes (Fig. II.7.g). Des individus non identifiés, identiques à ceux retrouvés dans le transect du Bassin Parisien ont également été observés. Deux espèces sont majoritaires, *B. servadeii* et *O. pityocampae*, on les retrouve dans les trois zones du transect. Le parasitisme infligé par la troisième espèce, *Trichogramma sp* est négligeable bien qu'elle soit également présente dans les trois zones du transect. Au niveau de la zone Front, les deux espèces majoritaires ont une abondance équivalente alors que dans la zone Néo colonisée, le parasitoïde généraliste est le plus présent.

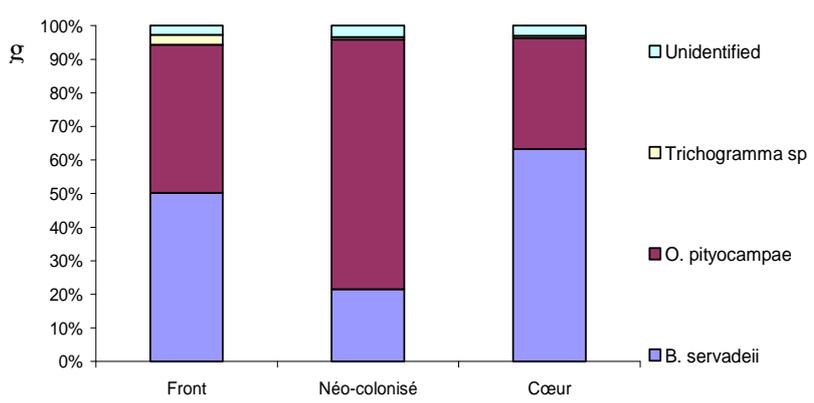
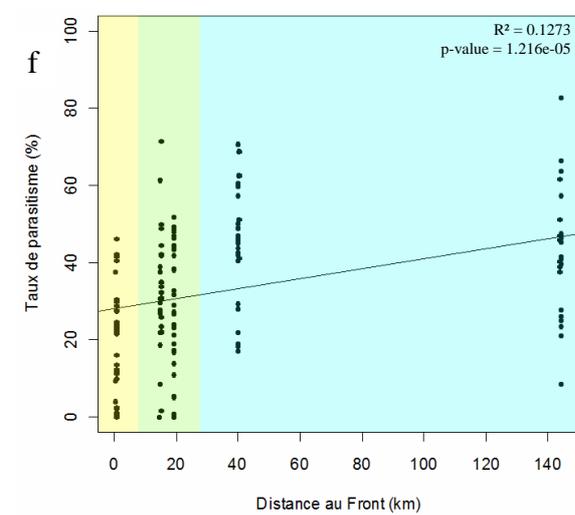
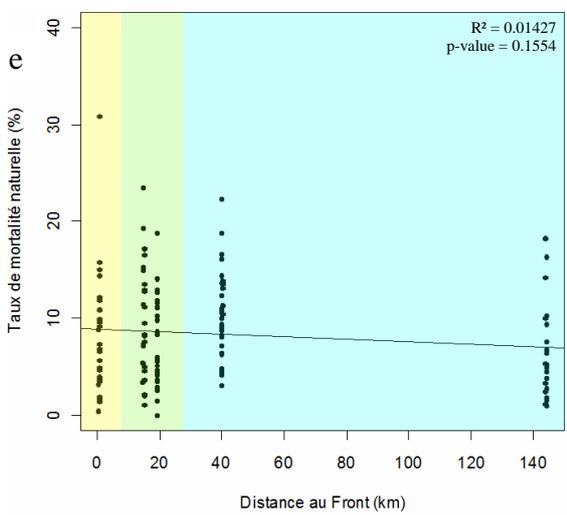
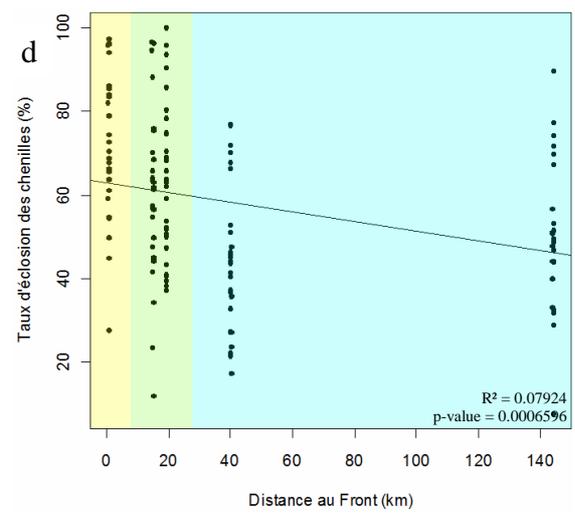
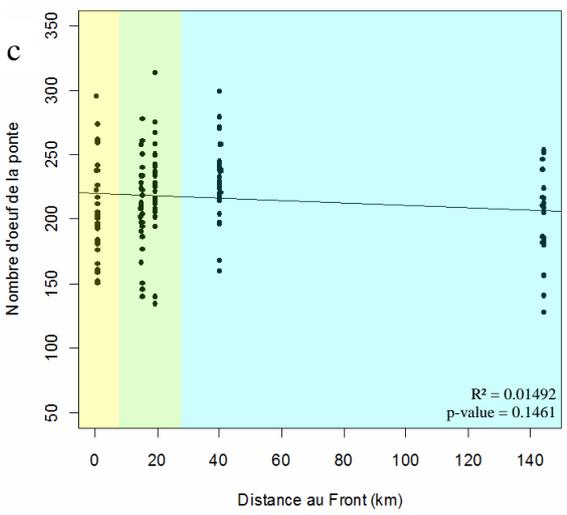
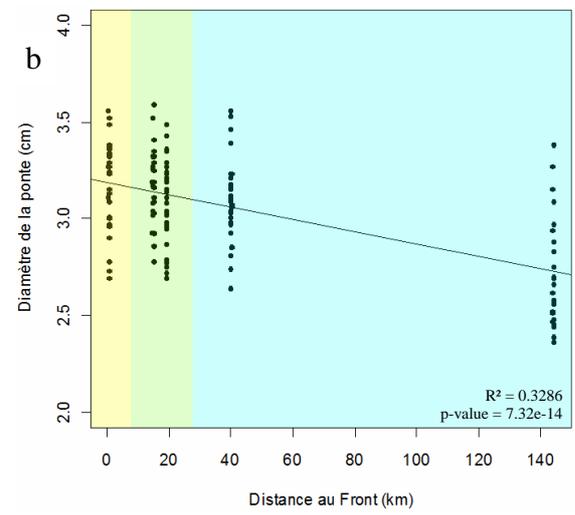
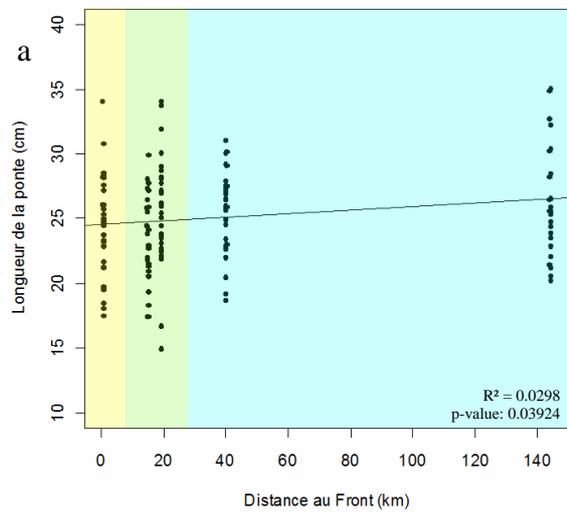


Figure II.7 : (a – f) Corrélations entre les paramètres mesurés sur les pontes et la distance des populations par rapport au front. (g) Taux de parasitisme par espèce dans les différentes zones d'étude.

: Front
 : Néo-colonisée
 : Cœur

3 - Transect Massif Central

a - Morphologie des pontes

Les 157 pontes prélevées ont permis d'analyser un total de 35616 œufs. Toutes les pontes étaient enroulées autour de deux aiguilles de pin sylvestre et pondues de la base de l'aiguille vers le sommet. La longueur des pontes varie en moyenne de 27,7 mm à 28,9 mm et n'est pas corrélée à la distance des pontes par rapport au front ($R^2 = 0.004953$; $F_{1, 148} = 0.7367$; $p\text{-value} = 0.3921$) (Fig. II.8.a). Le diamètre des pontes varie en moyenne de 3,05 mm à 3,52 mm et n'est pas non plus corrélé à la distance des pontes par rapport au front ($R^2 = 0.01024$; $F_{1, 148} = 1.532$; $p\text{-value} = 0.2178$) (Fig. II.8.b). Le nombre d'œufs par ponte varie en moyenne de 206 à 252 et n'est pas corrélé à la distance des pontes par rapport au front ($R^2 = 0.001785$; $F_{1, 148} = 0.2647$; $p\text{-value} = 0.6077$) (Fig. II.8.c).

b - Taux d'éclosion et parasitisme

Le taux d'éclosion des chenilles de processionnaire du pin dans ce transect varie en moyenne de 65,26% à 96,73% et il est corrélé avec la distance des pontes par rapport au front ($R^2 = 0.3142$; $F_{1, 147} = 67.35$; $p\text{-value} = 1.053e-13$) (Fig. II.8.d). Les populations de la zone Cœur ont un taux d'éclosion qui est significativement plus bas que les populations des zones Néo-colonisée ($t = 5.7716$, $df = 87.664$, $p\text{-value} = 1.165e-07$) et Front ($t = 8.5955$, $df = 65.345$, $p\text{-value} = 2.462e-12$) et les populations de la zone Néo-colonisée ont un taux d'éclosion significativement plus bas que les populations de la zone Front ($t = 3.4357$, $df = 88.451$, $p\text{-value} = 0.000902$).

Le taux de mortalité naturel des embryons de processionnaire du pin varie en moyenne de 2,82% à 12,24% et diminue significativement avec la distance des pontes par rapport au front ($R^2 = 0.2831$; $F_{1, 147} = 58.05$; $p\text{-value} = 2.886e-12$) (Fig. II.8.e). Les populations de la zone Cœur ont un taux de mortalité naturelle qui est significativement plus élevé que les populations des zones Néo-colonisée ($t = -5.1121$, $df = 94.13$, $p\text{-value} = 1.669e-06$) et Front ($t = -8.5879$, $df = 62.489$, $p\text{-value} = 3.579e-12$) et les populations de la zone Néo-colonisée ont un taux de mortalité naturelle significativement plus élevé que les populations de la zone Front ($t = -3.8455$, $df = 80.09$, $p\text{-value} = 0.0002402$).

Le taux de parasitisme moyen varie de 0% à 38,06% et est corrélé avec la distance des pontes par rapport au front ($R^2 = 0.1888$; $F_{1, 147} = 34.21$; $p\text{-value} = 3.084e-08$) (Fig. II.8.f). Les

populations de la zone Cœur ont un taux de parasitisme qui est significativement plus élevé que les populations des zones Néo-colonisée ($t = -4.8809$, $df = 66.284$, $p\text{-value} = 6.962e-06$) et Front ($t = -4.6507$, $df = 83.839$, $p\text{-value} = 1.221e-05$). Les populations des zones Néo-colonisée et Front ont un taux de parasitisme équivalent ($p\text{-value} > 0.017$).

c - Abondance et richesse spécifique des parasitoïdes

Dans ce transect nous avons identifié quatre espèces de parasitoïdes (Fig. II.8.g). Deux espèces que l'on observe dans les trois zones du transect assurent la majorité du parasitisme : *B. servadeii* et *O. pityocampae*. Les deux autres espèces *A. bifasciatus* et *Trichogramma sp* ne sont retrouvées que dans la zone cœur du transect. Des individus non identifiés identiques à ceux retrouvés dans les deux autres transects ont également été observés en très faible abondance. Dans la zone Front, l'essentiel du parasitisme est infligé par le généraliste *O. pityocampae*. Dans la zone Néo-colonisée, les deux espèces sont en abondances équivalentes et dans la zone Cœur c'est le parasitoïde spécialiste qui prédomine.

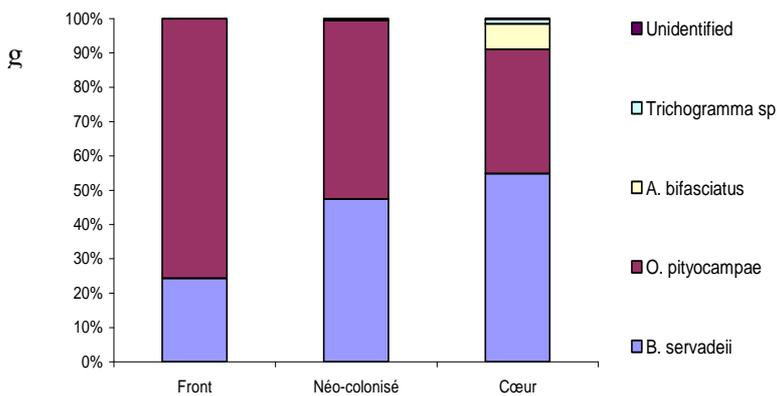
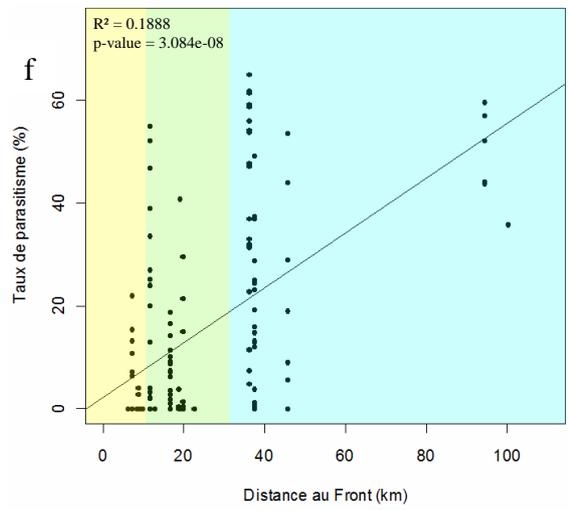
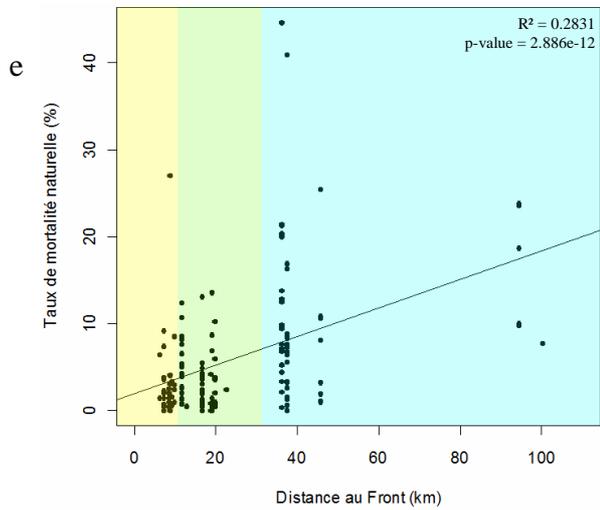
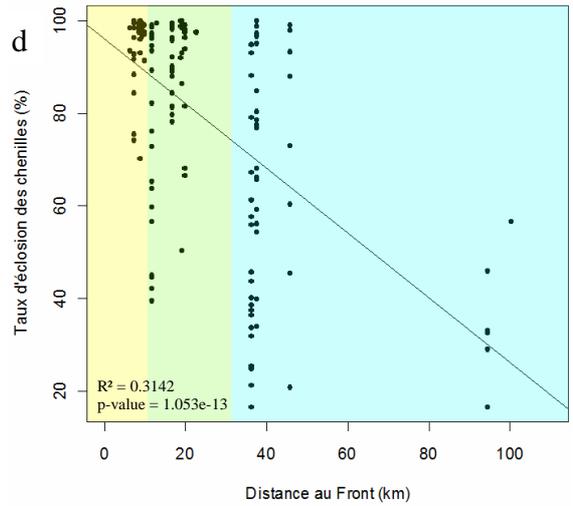
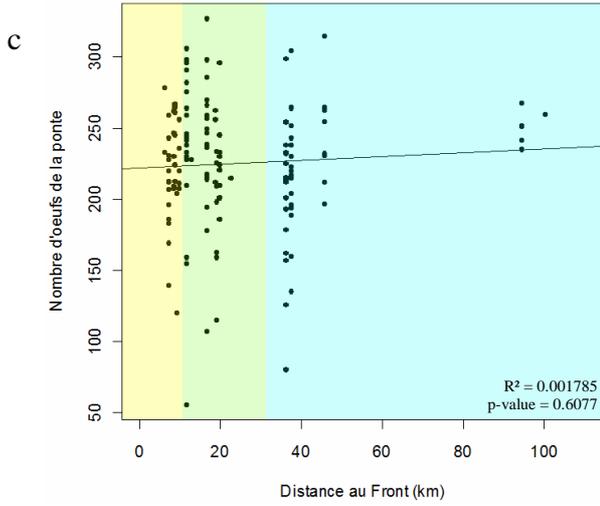
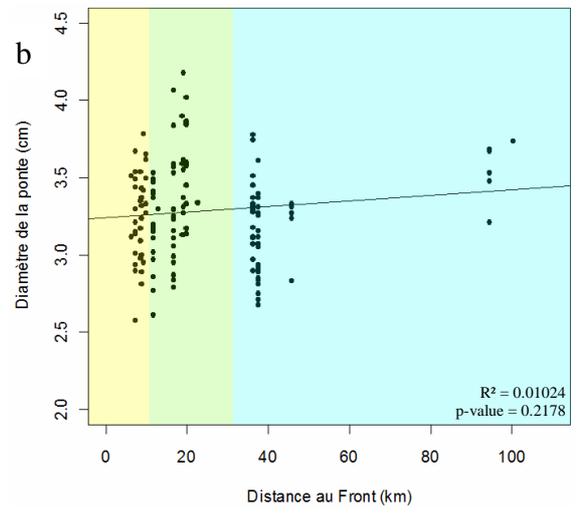
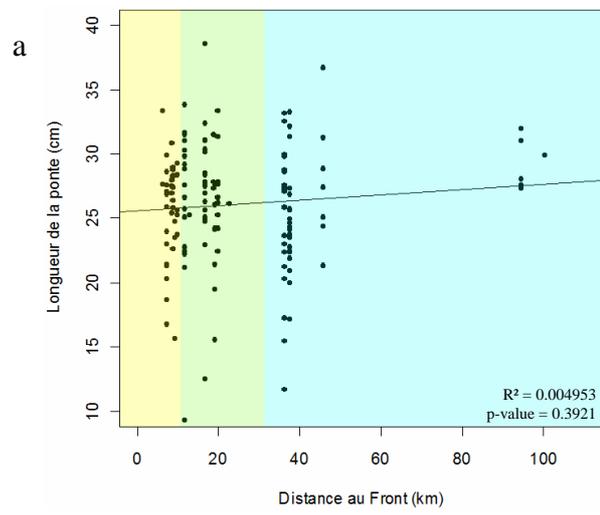


Figure II.8 : (a – f) Corrélations entre les paramètres mesurés sur les pontes et la distance des populations par rapport au front. (g) Taux de parasitisme par espèce dans les différentes zones d'étude.

■ : Front
■ : Néo-colonisée
■ : Cœur

Phénologie des parasitoïdes

1 - Températures hivernales

Les températures hivernales relevées montrent un écart moyen de 1,7°C entre les deux sites de mesures (Fig. II.9). La température moyenne enregistrée du 1 novembre 2010 au 31 mars 2011 est significativement plus élevée dans la zone Cœur à Serre Ponçon que dans la zone Front à Villar Meyer ($t = 7.202$, $df = 2455.852$, $p\text{-value} = 7.854e-13$).

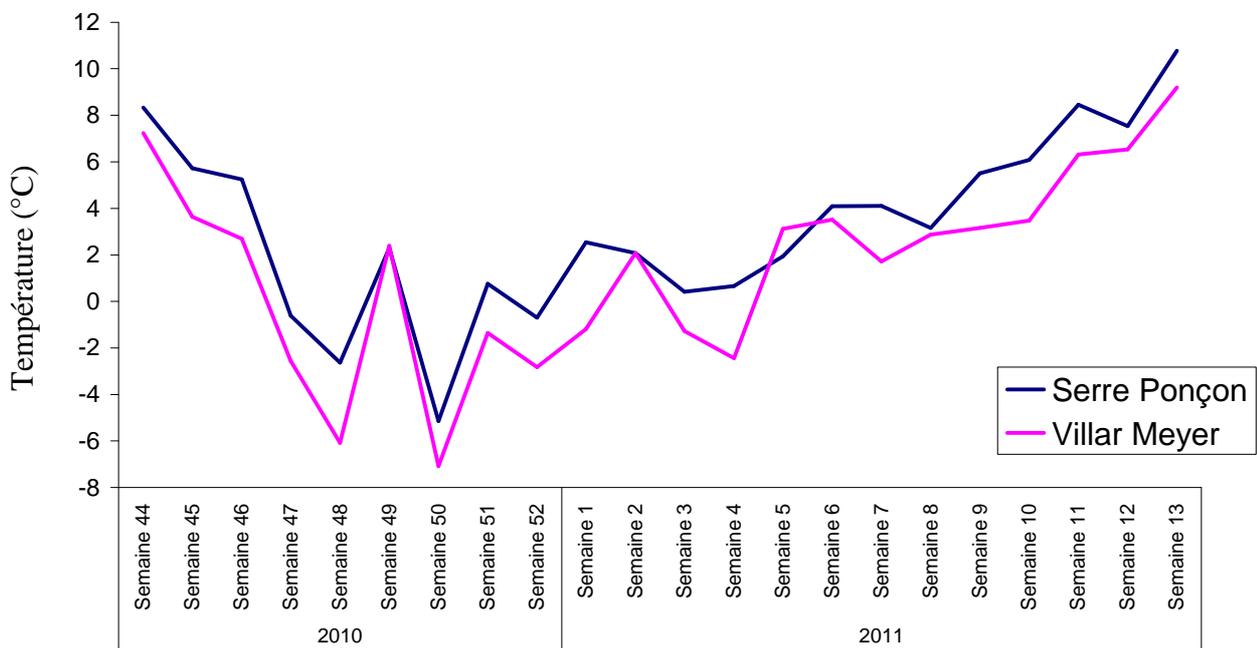


Figure II.9 : Température moyenne par semaine relevée entre la semaine 44 de l'année 2010 et la semaine 13 de l'année 2011 sur les deux sites d'expérimentation

2 - Influence des translocations

Les deux espèces de parasitoïdes n'ont pas un pic d'émergence simultané (Fig. II.10). Le parasitoïde généraliste émerge trois semaines à un mois avant son hôte, alors que le parasitoïde spécialiste émerge environ une semaine avant son hôte et la fin de son pic d'émergence coïncide avec l'émergence de la processionnaire du pin. Entre les deux sites on observe également un décalage de l'émergence des parasitoïdes d'une même espèce d'environ deux semaines. Ils émergent plus tôt dans la zone Cœur que dans la zone Front.

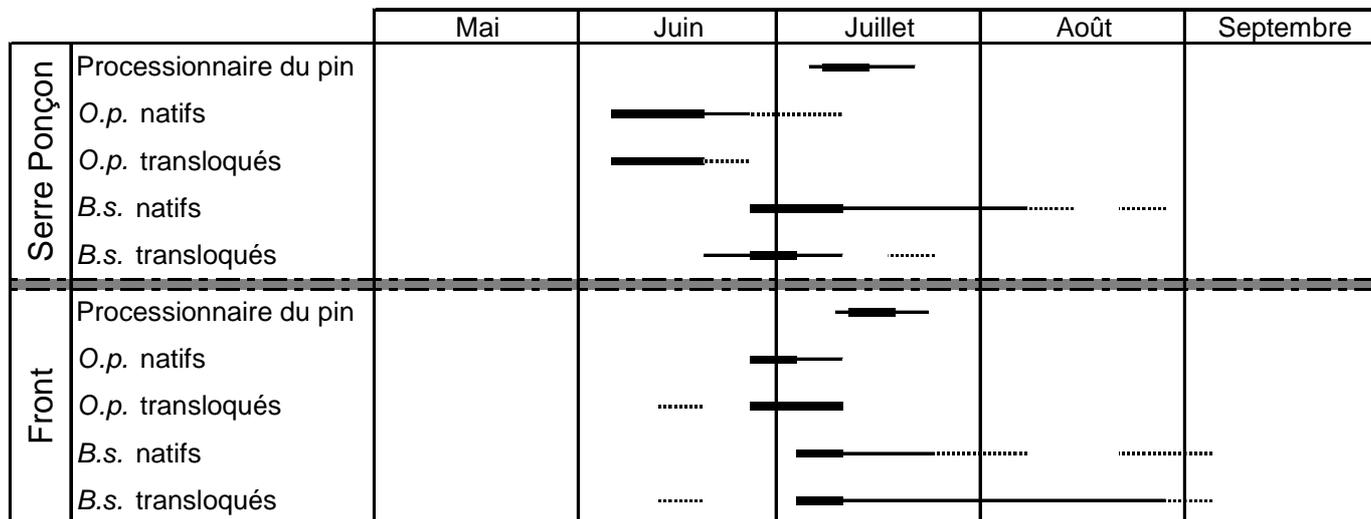


Figure II.10 : Courbes de vol des parasitoïdes et de la processionnaire du pin dans les deux sites d'expérimentation. Les lignes en gras représentent les pics de vol, les traits pleins représentent une émergence continue et les pointillés une émergence ponctuelle. Pour chaque zone, les espèces natives correspondent aux espèces émergées de pontes collectées sur ce site et les espèces transloquées de pontes collectées sur le second site et ayant passé l'hiver dans le site correspondant.

Les parasitoïdes transloqués, qu'ils soient spécialistes ou généralistes, émergent en même temps que les parasitoïdes natifs de la zone où ils ont été déplacés. Ainsi, ils réagissent aux conditions climatiques de la même manière que la processionnaire du pin avec une émergence plus tardive dans un climat plus froid.

On observe chez la processionnaire du pin un écart moins important des périodes d'émergence entre les zones Cœur et Front que celui observé chez les parasitoïdes. Ceci conduit à la réduction du laps de temps observé entre l'émergence des parasitoïdes et l'émergence de leur hôte au niveau de la zone Front.

Cependant, nous n'avons pas encore obtenu les données relatives à la mortalité des parasitoïdes au niveau du front. Ces données seront nécessaires pour avoir une vision juste de l'impact du climat sur les espèces de parasitoïdes.

II.2.4. Discussion

L'échantillonnage de pontes de processionnaire du pin réalisé sur deux années consécutives et le long de trois zones d'expansion de l'espèce a permis de mettre en évidence un échappement de la processionnaire du pin à ses parasitoïdes oophages. Nous avons montré avec cette étude l'impact de l'expansion de la processionnaire du pin sur plusieurs paramètres reliés à l'action de ses parasitoïdes oophages sur la dynamique de ses populations. Un récapitulatif des données collectées sur l'ensemble des trois transects durant les deux années d'échantillonnage est présenté dans le tableau II.2.

		Structure des pontes			Taux de natalité			
		Longueur des pontes	Diamètre des pontes	Nombre d'œufs	Taux éclosion chenilles	Mortalité naturelle chenilles	Taux de parasitisme	
Transect latitudinal "Bassin Parisien"	2008	Colonies isolées	26,23 a	2,97 b	247,65 a	98,31 a	1,73 a	0 b
		Front	29,55 a	3,16 a	245,29 a	96,22 a	3,60 a	0,18 b
		Néo-Colonisée	29,73 a	3,18 a	244,60 a	90,52 a	4,81 a	4,67 ab
		Cœur	28,69 a	3,20 a	242,52 a	94,59 a	2,32 a	3,09 a
	2009	Colonies isolées	28,47 a	3,12 bc	247,17 b	92,72 c	6,84 a	0,44 c
		Front	28,83 a	3,22 c	235,87 b	93,87 c	5,27 a	0,86 c
		Néo-Colonisée	27,18 a	3,22 c	232,20 ab	90,35 bc	4,28 a	5,38 bc
		Cœur	29,98 a	3,12 b	242,65 b	85,60 b	3,88 a	10,52 b
		Refuge glaciaire	27,28 a	2,86 a	208,80 a	71,59 a	8,56 a	19,91 a
Transect altitudinal "Alpes"	2008	Front	24,47 a	3,21 a	220,14 a	81,31 b	7,14 a	11,54 c
		Néo-Colonisée	22,19 a	3,03 a	176,10 a	69,45 ab	6,18 a	24,36 b
		Cœur	26,72 a	2,99 a	234,45 a	62,33 a	4,27 a	33,44 a
	2009	Front	24,50 a	3,17 b	208,79 a	72,11 c	7,96 a	19,93 c
		Néo-Colonisée	24,65 a	3,14 b	216,74 a	61,43 b	8,36 a	30,21 b
		Cœur	26,03 a	2,91 a	217,46 a	47,89 a	8,41 a	43,70 a
Transect altitudinal "Massif Central"	2008	Front	24,30 a	3,17 a	225,92 a	97,00 a	1,61 a	1,39 b
		Néo-Colonisée	26,69 a	3,28 a	238,75 a	93,74 a	3,40 a	2,86 ab
		Cœur	26,59 a	3,29 a	245,37 a	91,73 a	2,97 a	5,30 a
	2009	Front	25,52 a	3,29 a	219,20 a	94,81 c	3,26 c	1,93 c
		Néo-Colonisée	26,69 a	3,31 a	230,96 a	86,44 b	3,58 b	9,98 b
		Cœur	26,21 a	3,29 a	226,03 a	63,79 a	9,49 a	26,72 a

		Parasitisme					
		Proportion <i>B. servadeii</i>	Proportion <i>O. pityocampae</i>	Proportion <i>A. bifasciatus</i>	Proportion <i>Trichogramma</i> sp.	Proportion Non identifié	
Transect latitudinal "Bassin Parisien"	2008	Colonies isolées	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
		Front	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
		Néo-Colonisée	98,93	0,00	0,00	0,00	1,07
		Cœur	33,01	24,83	0,00	38,94	3,22
	2009	Colonies isolées	63,38	2,17	19,44	0,56	14,44
		Front	50,78	13,21	0,00	36,01	0,00
		Néo-Colonisée	85,86	12,02	0,00	1,82	0,30
		Cœur	83,37	10,51	2,40	2,17	1,56
		Refuge glaciaire	33,75	64,02	0,00	1,52	0,71
Transect altitudinal "Alpes"	2008	Front	55,56	31,05	0,00	0,18	13,21
		Néo-Colonisée	44,44	40,40	0,00	6,88	8,28
		Cœur	51,39	40,01	0,30	0,00	8,30
	2009	Front	50,25	44,23	2,93	2,67	2,67
		Néo-Colonisée	21,60	74,19	0,00	0,83	3,38
		Cœur	63,26	33,04	0,00	0,67	3,02
Transect altitudinal "Massif Central"	2008	Front	47,14	52,86	0,00	0,00	0,00
		Néo-Colonisée	49,33	49,72	0,00	0,95	0,00
		Cœur	64,70	33,41	0,00	0,10	1,79
	2009	Front	24,32	75,68	0,00	0,00	0,00
		Néo-Colonisée	47,48	52,03	0,00	0,00	0,50
		Cœur	54,83	36,19	7,45	1,46	0,07

Tableau II.2. Récapitulatif des résultats obtenus sur les trois transects étudiés et pour les deux années d'échantillonnage. Au sein d'un transect et d'une année, les valeurs marquées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes

Pour nos résultats, nous n'avons comparé que les données entre différentes localités au sein d'un même transect et d'une même année. Au sein de nos transects, nous avons échantillonné nos pontes sur un seul et même hôte, à l'exception d'une localité du transect "Alpes" en 2009 où les pontes ont été collectées sur pin d'Alep, pour limiter l'influence de facteurs non contrôlables sur nos résultats. Les différents hôtes potentiels de la processionnaire du pin ont une morphologie d'aiguilles différente qui va influencer la structure des pontes de processionnaire du pin et les espèces de parasitoïdes associés (Arnaldo & Torres, 2006). Le parasitisme est aussi extrêmement variable entre les années pour un même site (Tsankov et al., 1998), nous n'avons donc pas comparé les valeurs relatives aux parasitoïdes entre les années d'échantillonnage. Notre plan d'échantillonnage a été réalisé dans le but d'étudier l'effet de l'expansion, avec le changement climatique, de la processionnaire du pin sur sa relation avec ses parasitoïdes oophages. Chez cette espèce dont l'aire de répartition est en progression, la distance des populations par rapport au front d'expansion est directement reliée à l'âge des populations. Les populations les plus ancestrales se trouvent loin du front et les populations qui ont colonisé un milieu récemment se retrouvent près du front.

- **Structure et nombre d'œufs des pontes**

Toutes les pontes sur les trois transects et les deux années d'échantillonnage ont été collectées au hasard et suivant un protocole semblable. Toutes les pontes récoltées, quelque soit l'essence où l'année étaient enroulées autour de deux aiguilles de leur hôte et pondues de la base au sommet des aiguilles comme ce qui est retrouvé dans la majorité des études (Mirchev et al., 2004; Mirchev et al., 1999; Schmidt et al., 1999).

Nous n'avons pas trouvé de différences, quelque soit le transect et l'année de collecte, dans la longueur des pontes de processionnaire du pin.

Le diamètre d'une ponte correspond au nombre de rangées d'œufs qu'elle contient. Ce paramètre s'est avéré influencé par la distance des populations par rapport à leur front respectif dans trois cas. Dans le transect réalisé dans les Alpes en 2009 les pontes de la zone Cœur avaient un diamètre inférieur aux pontes des zones Néo-colonisée et Front. Dans ce cas, l'explication peut provenir de l'essence sur laquelle les pontes ont été collectées dans l'une des deux localités de la zone Cœur. En effet, à Grambois, la localité la plus au sud du transect, nous n'avons pu échantillonner que sur du *Pinus halepensis*. L'hôte pouvant influencer la structure des pontes (Arnaldo & Torres, 2006), la différence peut provenir d'un comportement

de ponte différent de la processionnaire du pin sur le pin d'Alep produisant des pontes dont le diamètre est plus petit. Dans le transect Bassin parisien, nous avons trouvé en 2008 que les pontes des populations pionnières avaient un diamètre plus petit que les pontes des autres localités. Robinet et al. (2011) ont montré que les populations de processionnaire du pin retrouvées au delà du front provenaient du transport de leur hôte sur de longues distances. Ils ont également montré que les processionnaires du pin retrouvées sur ces deux sites étaient très probablement originaires du sud-est de la France et de l'Italie. En 2009 les pontes prélevées en Espagne et les pontes de la zone cœur avaient également un diamètre inférieur aux pontes des autres zones. Nous ne retrouvons cet effet que dans le transect latitudinal, il semblerait donc que ce soit la latitude et non l'âge des populations de processionnaire du pin qui joue un rôle sur le diamètre des pontes

Par contre nous n'avons pas retrouvés de différences significatives au niveau du nombre d'œufs dans ces mêmes transects excepté pour les populations collectées en Espagne dans le transect Bassin Parisien en 2009. Des pontes ayant un diamètre plus petit mais un nombre d'œufs et une longueur équivalents ont très certainement des œufs de plus petites tailles. Perez-Contreras & Soler (2004) ont montré une relation négative entre la taille de la ponte et la taille des œufs et ont montré que les œufs de plus petite taille étaient moins touchés par les parasitoïdes. Le taux de parasitisme étant plus élevé dans les zones cœur que dans les zones de front (voir ci-après), des œufs de plus petites tailles pourraient être un avantage sélectif pour limiter l'action des parasitoïdes et maximiser le nombre de descendants. Nous n'avons retrouvé ce rapport de réduction de la taille des œufs au niveau de la zone Cœur que dans les transects Bassin parisien et Alpes, ce dernier étant inexistant dans le transect Massif Central. Les deux transects dans lesquels nous avons trouvé cette relation s'étendent du sud vers le nord, alors que le transect Massif Central s'étend de l'ouest vers l'est. Ceci corrobore l'hypothèse que ce caractère soit dépendant de la latitude et non pas d'une différence stricte entre zone Cœur et zone Front.

Pimentel *et al.* (2010) ont montré une différence au niveau de la morphologie des pontes de processionnaire du pin corrélée avec la latitude. Dans leur étude, la latitude influence la longueur des pontes et leur nombre d'œufs. Dans notre étude, ces deux facteurs ne sont pas influencés par la latitude, le seul facteur que nous avons trouvé influencé par la latitude est le diamètre des pontes. L'espèce sur laquelle la femelle de processionnaire du pin va pondre va influencer la structure de la ponte (Arnaldo & Torres, 2006). Ainsi, le long de nos transects, nous n'avons comparé que des pontes ayant été récolté sur la même essence alors que dans l'étude de Pimentel *et al.* (2010) les différentes pontes mesurées provenaient

d'essences différentes selon la région où elles avaient été collectées. La différence observée serait donc liée à la répartition des hôtes potentiels et à la morphologie de leurs aiguilles.

Dans les trois transects étudiés, la longueur et le nombre d'œufs des pontes ne varient pas selon la distance des pontes par rapport à leurs fronts d'expansion respectifs qu'ils soient latitudinal ou altitudinal. Au niveau de deux de nos transects, le transect latitudinal dans le Bassin parisien et le transect altitudinal dans les Hautes Alpes, nous avons constaté une augmentation du diamètre des pontes avec le rapprochement du front. Bien qu'étant Altitudinal, le transect situé dans les Alpes s'étend du sud vers le nord. Le diamètre des pontes pourrait être influencé par la latitude et non pas par l'âge des populations car nous ne retrouvons pas cette corrélation dans le transect situé dans le Massif Central.

- **Taux d'éclosion des chenilles de processionnaire du pin et impact du parasitisme**

Chez la processionnaire du pin, les différentes espèces de parasitoïdes d'œufs sont capables de parasiter les pontes pendant toute la durée de l'embryogenèse. Le parasitisme commence dès que les œufs sont pondus par la femelle et peut encore avoir lieu quand la chenille est parfaitement formée dans l'œuf (Biliotti, 1958).

Le taux d'éclosion des chenilles de processionnaire du pin correspond au nombre de chenilles par ponte qui ont réussi leur développement embryonnaire et qui ont émergé de leur œuf. Nous avons retrouvé dans nos trois transects de 2009, un effet de l'expansion de l'aire de répartition de la processionnaire du pin sur le taux d'éclosion de ces chenilles. Dans le transect Bassin Parisien, les pontes issues des populations espagnoles ont présenté un taux d'éclosion de chenilles significativement plus bas que dans le reste du transect. De la même façon, les pontes issues de la zone Cœur de ce transect ont eu un taux d'éclosion significativement plus bas que les pontes issues de la zone Front et des Colonies isolées. Dans notre échantillonnage de pontes de 2009, nous avons retrouvé ce même modèle au sein des deux autres transects. Nous avons vu précédemment que, au sein d'un même transect, les pontes issues de toutes les localités échantillonnées avaient un nombre d'œufs équivalent. Nos résultats mettent donc en évidence qu'une femelle de processionnaire du pin au niveau du front aura plus de descendants qu'une femelle issue de la zone Cœur.

Le taux d'éclosion des chenilles de processionnaire du pin peut être affecté par deux facteurs : la mortalité naturelle lors du développement embryonnaire et l'action de prédateurs et/ou de parasitoïdes. Nos résultats ont montré que le taux de mortalité naturelle ne varie pas le long de chaque transect. En effet, il est le même en zone Cœur qu'au niveau du front donc

les différences observées au niveau du taux d'éclosion sont liées à l'action d'ennemis naturels. Le principal prédateur des pontes de processionnaire du pin est l'éphippigère (*Ephippiger ephippiger* (Fiebig)) (Démolin & Delmas, 1967). Dans nos échantillons le taux de prédation par les éphippigères était négligeable c'est pourquoi nous n'en avons pas tenu compte. Les principaux acteurs de la régulation de la processionnaire du pin au stade œuf sont les parasitoïdes oophages.

Les trois transects étudiés présentent le même pattern en ce qui concerne le taux de parasitisme avec un taux significativement plus bas au niveau de la zone Front qu'au niveau de la zone Cœur et ceci pour tous les transects et les deux années d'échantillonnage. Ce résultat est cohérent avec d'autres études portant sur des insectes dont l'aire de répartition est également en expansion (Grobler & Lewis, 2008; Menendez et al., 2008).

Les conditions climatiques au niveau de la zone Front sont plus rudes qu'en zone Cœur, dans le transect Alpes, nous avons montré une différence de 1,7°C de la température moyenne hivernale entre les deux zones. Les parasitoïdes pourraient être moins tolérants que leur hôte à ces températures et subir une mortalité plus élevée pouvant expliquer la diminution du parasitisme dans ces zones. De plus, la température influe sur la phénologie de la processionnaire du pin et il pourrait y avoir une désynchronisation des parasitoïdes et de leur hôte dans ces zones aux températures plus basses expliquant le faible taux de parasitisme. Cependant nos résultats montrent que les parasitoïdes répondent de la même manière que leur hôte à une diminution de la température en décalant plus tard leur période de vol. Ainsi, en zone Front comme en zone Cœur, leur émergence est toujours synchronisée avec la présence de pontes de leur hôte. Nos résultats montrent également que la mortalité des parasitoïdes ne varie pas entre les différentes zones des transects. Les parasitoïdes sont donc capables de résister aux températures plus rudes de la zone Front. La diminution du taux de parasitisme le long de la voie d'expansion de la processionnaire du pin ne serait donc pas due à un effet négatif du climat sur les populations.

Le taux de parasitisme observé est très variable entre les années et entre les transects. Plusieurs études ont déjà montré des taux de parasitisme très fluctuants selon la région où les pontes ont été prélevées. En Bulgarie, le taux de parasitisme observé chez la processionnaire du pin varie de 19,3 à 38,9 % (Tsankov et al., 1996a, 1998). En Albanie, il a été observé un taux de parasitisme de 15,2 à 23,2 % (Mirchev et al., 1999). En Italie, selon les régions, le taux de parasitisme a été mesuré entre 6% et environ 30 % (Tiberi, 1990) et dans la péninsule ibérique, entre 11,3 et 31,7 % de parasitisme a été observé (Schmidt et al., 1999). De la même manière, dans notre étude, nous avons montré des taux de parasitisme très différents entre les

localités au sein d'un transect mais aussi entre les transects. Dans le transect Bassin Parisien, en 2008, le taux de parasitisme relevé était très bas avec un maximum à environ 4% en zone Néo-colonisée. Malgré ce taux très bas nous avons quand même montré une diminution significative du taux de parasitisme proche du front avec un taux inférieur à 1%. L'année suivante, le taux de parasitisme observé a été beaucoup plus élevé avec un maximum à environ 24% dans les populations échantillonnées en Espagne et ce taux diminuant progressivement avec le rapprochement du front d'expansion. Dans le transect Massif Central, nous avons observé le même phénomène, en 2008 le taux de parasitisme était relativement bas mais diminuait tout de même significativement avec le rapprochement du front d'expansion, et en 2009, le taux de parasitisme était beaucoup plus élevé avec toujours un taux significativement plus bas au niveau du front. Dans les Alpes, le taux de parasitisme observé est beaucoup plus élevé que dans les deux autres transects pour la même année d'échantillonnage. Cependant, nous avons également relevé un taux de parasitisme plus élevé en 2009 qu'en 2008, avec à chaque fois un taux de parasitisme significativement plus bas au niveau du front d'expansion que dans la zone cœur. Des données de parasitisme datant de 2003 sur les mêmes localités présentent les mêmes résultats que nos données de 2008. Ainsi, dans la zone Cœur, le taux de parasitisme s'élevait à 33,85%, celui-ci descendait à 23,55% dans la zone Néo-colonisée et à 12,01% dans la zone Front (Promoth, 2005).

Cette cyclicité inter-annuelle dans l'abondance des parasitoïdes est à mettre en relation avec la cyclicité de leur hôte. Il a été observé une corrélation entre la densité de population de la processionnaire du pin et la densité de ses parasitoïdes. Géri (1980) rapporte une observation réalisée en Italie par Masutti où il a constaté un maximum de parasitisme l'année suivant le sommet de gradation de l'hôte. De la même manière, dans une étude en Bulgarie sur quatre années consécutives, la diminution du taux de parasitisme était corrélée à la réduction de la densité de population de la processionnaire du pin (Tsankov et al., 1998). Si la densité de l'hôte influence la densité de parasites, alors le taux de parasitisme plus faible observé au niveau du front de colonisation pourrait être dû à une densité plus faible de l'hôte dans ces mêmes zones.

Nous n'avons montré la présence d'aucun parasitoïdes dans les deux populations introduites au-delà du front latitudinal en 2008. En 2009, ces mêmes deux populations n'avaient toujours pas de parasitoïdes, mais l'étude de deux autres populations également introduites au-delà du front, plus proche de celui-ci, a montré la présence de parasitoïdes d'œufs. Robinet *et al* (2011) ont montré que ces populations de processionnaire du pin avaient été vraisemblablement introduites au stade de chrysalide lors de la transplantation de leur

hôte. Ces populations se trouvent à une trop grande distance du front pour que la colonisation ait été faite par des femelles et la présence de parasitoïdes de larves et de chrysalides et l'absence de parasitoïdes d'œufs permettent d'appuyer cette conclusion. Les deux populations dans lesquelles nous avons retrouvé des parasitoïdes d'œufs sont les plus proches du front d'expansion, dans ces deux populations étaient présents des parasitoïdes spécialistes et généralistes. Les généralistes pouvant être présents avant la processionnaire du pin, le faible taux de parasitisme pourrait être dû à une faible abondance des parasitoïdes (Mirchev et al., 1998) ou à un retard dans l'adaptation à ce nouvel hôte (Menendez et al., 2008). La présence de parasitoïdes spécialistes est plus délicate à expliquer. Etant dépendants de la processionnaire du pin ils ne pouvaient pas être présents dans cette zone avant elle. Deux hypothèses peuvent expliquer leur présence : ils ont pu être transporté sur l'arbre hôte dans des pontes de processionnaire du pin ou alors voler depuis le front où ils sont présents. Une étude génétique comparant les parasitoïdes émergés des colonies isolées avec les parasitoïdes de la zone d'origine de leur hôte pourrait nous renseigner sur ce point.

Nos résultats montrent une diminution du taux de parasitisme le long des trois zones d'expansion étudiées. Les populations au niveau du front subissent donc une pression moins importante de la part de leurs ennemis naturels. Si nous prenons l'exemple de notre transect Bassin parisien, la zone d'Orléans qui constituait le front de colonisation dans les années 70 (Robinet et al., 2007) à aujourd'hui un taux de parasitisme similaire à la zone Cœur mais significativement différent de la zone Front. Ceci démontre l'avancée des parasitoïdes conjointement à leur hôte mais avec un certain retard et donc une évaison de la processionnaire du pin à son principal prédateur.

- **Richesse spécifique des parasitoïdes**

Les études existantes sur les parasitoïdes de la processionnaire du pin ont toujours mis en avant la prédominance de deux espèces de parasitoïdes, le spécialiste *Baryscapus servadeii* et le généraliste *Ooencyrtus pityocampae* avec des proportions variant selon les régions. D'autres espèces ont été rapportées mais leur impact est souvent considéré comme négligeable, on retrouve ainsi généralement *Anastatus bifasciatus*, *Trichogramma sp.*, *Baryscapus transversalis* et *Pediobius sp.* L'abondance de chaque espèce varie régionalement sur l'ensemble du bassin méditerranéen. Ainsi, en Bulgarie et en Italie, des études montrent un pourcentage plus élevé d'*O. pityocampae* que de *B. servadeii* (Tiberi, 1990; Tsankov et al., 1996b, 1998). En Algérie et au Maroc c'est *B. servadeii* qui a une abondance plus importante

que *O. pityocampae* (Schmidt et al., 1997; Tsankov et al., 1995). En Grèce, dans le nord c'est *B. servadeii* qui est le plus abondant alors que dans le sud *B. servadeii* et *O. pityocampae* sont en abondance équivalente (Bellin et al., 1990).

Comme pour le taux de parasitisme, l'abondance et la richesse spécifique des parasitoïdes associés à la processionnaire du pin sont variables selon l'année et la localité étudiée mais la même tendance se retrouve sur l'ensemble de nos trois transects. Quatre espèces de parasitoïdes sont présentes sur les trois transect. Deux espèces de parasitoïdes sont principalement responsables de la mort des embryons de processionnaire du pin, *B. servadeii* et *O. pityocampae* et deux autres espèces sont retrouvés à des taux très faibles, *A. bifasciatus* et *T. pityocampae*. Les individus non identifiés sont soit des œufs présentant un trou d'émergence de parasitoïde mais dont le méconium n'était plus présent pour l'identification, soit des parasitoïdes encore sous forme larvaire ce qui rend l'identification impossible ou soit des individus retrouvés uniquement dans les échantillonnage de 2009 qui ne correspondent pas aux espèces retrouvées habituellement et qui, selon le séquençage de leur fragment Barcode, pourrait appartenir au genre *Eupelmus* (Auger-Rozenberg, pers com).

Dans le Bassin parisien, c'est le parasitoïde spécialiste qui prédomine, on le retrouve sur les deux années d'échantillonnage dans toutes les localités. Il n'y a qu'en Espagne où *O. pityocampae* domine, ce résultat est à l'inverse de ce qui a été trouvé par Schmidt *et al.* (1999) dans cette même région. En 2008, *O. pityocampae* était absent des localités d'Orléans et Chartres qui correspondent aux zones Néo-colonisée et Front alors qu'il y est présent en 2009. Etant généraliste, il n'est pas un parasite obligatoire de la processionnaire du pin et son absence peut être due à une mauvaise synchronisation des parasitoïdes avec leur hôte les obligeant à parasiter un hôte alternatif. Cependant, les résultats de notre expérimentation de translocation de pontes de processionnaire du pin ne confortent pas cette hypothèse. Géri (1980) avait montré l'existence de diapausants dans les populations de parasitoïdes corses. Durant les deux années, nous n'avons pas retrouvé de parasitoïdes diapausants dans nos échantillons, mais il est possible que des conditions particulières durant l'année 2007 aient induit une diapause chez *O. pityocampae* dont les individus n'auraient émergés qu'en 2009, il n'auraient donc pas parasiter les œufs pondus durant l'été 2008. Dans le transect Alpes, en 2008 le spécialiste était dominant, alors qu'en 2009 le généraliste dominait à l'exception de la localité le plus au sud. Dans le Massif Central, on retrouve pour les deux années d'échantillonnage une prédominance de *B. servadeii* dans la zone Cœur et une prédominance de *O. pityocampae* au niveau du front. La richesse spécifique et l'abondance des parasitoïdes semblent être très variables entre les années. Cependant, on retrouve au sein de nos trois

transects des similarités dans l'abondance de certaines espèces de parasitoïdes par rapport à certains habitats. Masutti (1964) a supposé que *O. pityocampae* serait plus adapté aux régions montagneuses car plus sensible aux températures dépassant 30°C. *B. servadeii* est, quant à lui, plus commun dans les habitats méditerranéens (Mirchev & Tsankov, 2000). Dans nos deux transects altitudinaux, *O. pityocampae* est plus fréquent dans les populations de processionnaire du pin les plus en altitude.

Plusieurs études ont montré que les espèces dont l'aire de répartition était en expansion, comme les espèces invasives, étaient attaquées par moins d'espèces de parasites et souffraient d'un niveau de parasitisme plus bas dans les zones nouvellement colonisées (Cornell & Hawkins, 1993; Grabenweger et al., 2010; Grobler & Lewis, 2008). Dans notre exemple, les différentes espèces de parasitoïdes sont présentes tout le long des zones d'expansion et aucune nouvelle espèce n'a fait son apparition dans les zones qui sont nouvellement colonisées. A part *B. servadeii* qui est inféodé uniquement à la processionnaire du pin, les autres espèces sont des parasitoïdes généralistes qui peuvent être présents au-delà de la distribution de la processionnaire du pin en utilisant des hôtes alternatifs, *O. pityocampae* et *A. bifasciatus* sont connus pour parasiter des œufs de Pentatomidae (Battisti et al., 1988) et les chalcidiens du genre *Trichogramma* ont une gamme d'hôtes très large (Tsankov & Mirchev, 2003).

- **Impact de l'expansion sur la capacité de colonisation**

Les différents résultats de cette étude mettent en évidence un relâchement de la pression due aux parasitoïdes des œufs le long de l'aire d'expansion de la processionnaire du pin. Les populations situées en zone de front ont un taux d'éclosion significativement plus élevé que les populations en zone cœur. Ce taux d'éclosion plus élevé est dû à un taux de parasitisme plus faible étant donné que la mortalité naturelle des embryons est la même en zone Cœur qu'en zone Front. Nous avons retrouvé cette relation à la fois sur le transect latitudinal et sur les deux transects altitudinaux. Le taux de parasitisme serait alors relié au temps depuis lequel les populations ont colonisé le milieu et ne serait pas dû à un gradient latitudinal comme envisagé chez *P. leucographella* par Grobler *et al.* (2008). Nous n'avons pas mis en évidence de différences au niveau du nombre d'œufs des pontes corrélées à l'âge des populations. Donc un taux d'éclosion plus élevé au niveau du front correspond à des colonies de processionnaire du pin plus populeuses qu'en zone Cœur. Une évansion de la

processionnaire du pin à la pression due à ses parasitoïdes des œufs pourrait ainsi lui permettre d'accroître sa capacité de colonisation aux limites de son aire de répartition.

Chez la processionnaire du pin, la taille de la colonie est associée à la capacité à résister aux températures hivernales. Plus la colonie est peuplée et plus elle pourra supporter des températures plus basses sur de longues périodes (Huchon & Démolin, 1971). De plus, un nombre élevé de chenilles dans le nid améliore leur taux de croissance (Perez-Contreras et al., 2003). La diminution du taux de parasitisme permet d'avoir des colonies avec plus d'individus, donc une meilleure survie dans les zones de front qui présentent des conditions climatiques plus rudes que la zone cœur.

Le retard des parasitoïdes sur leur hôte peut avoir plusieurs causes. D'abord, si les ennemis sont absents de la zone nouvellement colonisée, leur présence va nécessiter deux migrations successives, la première de l'hôte et la seconde des parasitoïdes. Chez *Aricia agestis*, dont l'aire de répartition s'étend vers le nord en Angleterre, un parasitoïde qui n'était pas présent dans les zones nouvellement colonisées est aujourd'hui le plus abondant. Il a donc très certainement suivi la progression de son hôte (Menendez et al., 2008). Ceci peut être vrai pour le parasitoïde spécialiste *B. servadeii* qui n'a pour seul hôte que la processionnaire du pin. Il aurait suivi la progression vers le nord et en altitude de son hôte et on le retrouve aujourd'hui jusqu'au front de progression dans les trois transects étudiés. En ce qui concerne les espèces de parasitoïdes considérées comme généralistes, elles peuvent être présentes au-delà du front avant la processionnaire en parasitant des hôtes alternatifs. De plus, aucun nouveau parasitoïde n'a été retrouvé dans les zones nouvellement colonisées. L'espèce de parasitoïde inconnue retrouvée en 2009 a été trouvée sur l'ensemble des trois transects et en zone Cœur, comme en zone Néo-colonisée et Front. Cette espèce partage donc l'aire de répartition de la processionnaire du pin depuis déjà longtemps. Sa très faible abondance et son observation réalisée uniquement une fois laissent à penser que la processionnaire du pin n'est pas un hôte obligatoire pour lui. D'après la comparaison et la similarité des séquences obtenues pour son fragment barcode d'ADN mitochondrial, il appartiendrait à la famille des Eupelmidae et peut être au genre *Eupelmus* (Kartinen et al., 2010). La seule autre mention d'un parasitoïde du genre *Eupelmus* chez la processionnaire du pin, *Eupelmus vesicularis*, provient d'un échantillonnage réalisé entre 1992 et 1993 en Bulgarie où son taux de parasitisme était négligeable (Tsankov et al., 1996b). N'ayant eu des informations sur la position taxonomique de l'espèce que nous avons trouvée que très récemment nous n'avons pas encore pu réaliser de comparaisons morphologiques et génétiques avec *E. vesicularis*. La processionnaire du pin ne serait pour cette espèce qu'un hôte occasionnel.

Le taux de parasitisme plus faible observé en zone Front peut provenir d'une spécialisation de ces parasitoïdes généralistes à un autre hôte et d'une incapacité à exploiter ce nouvel hôte ne se développant pas forcément sur la même plante hôte (Geervliet et al., 2000). Les exigences climatiques des parasitoïdes ne sont pas connues et celles-ci peuvent se révéler différentes de leur hôte. En suivant l'expansion de leur hôte vers le nord et en altitude, les parasitoïdes pourraient pénétrer des enveloppes climatiques qui ne seraient pas optimales pour leur survie et leur développement et on retrouverait alors une densité bien moins importante que dans les zones cœur de l'aire de leur hôte. Les données de mortalités de notre expérimentation de translocation de pontes pourront aider à mieux cerner l'impact du climat sur la survie des parasitoïdes.

Les colonies introduites accidentellement au delà du front présentent les mêmes particularités que les colonies au niveau du front. Les parasitoïdes sont soit absents en raison du stade d'introduction de leur hôte (Robinet et al., 2011) soit en très faible quantité. Ainsi ce relâchement de la pression parasitaire va permettre à ces populations de produire plus de descendants et donc d'augmenter leur capacité de colonisation, ce qui pourrait accélérer leur progression sur le territoire.

En conclusion, nous avons montré l'existence d'un phénomène "d'Enemy release hypothesis" au sein des populations en expansion de la processionnaire du pin. Dans les populations ayant colonisées le plus récemment de nouveaux milieux le taux de parasitisme est significativement moins élevé bien que le complexe parasitaire soit le même qu'en zone cœur. Nous retrouvons ce pattern à la fois chez les populations en expansion latitudinale et altitudinale. Ce phénomène n'est donc pas à relier avec l'impact de la latitude sur la biodiversité, mais est bien avec l'âge des populations. Cependant, plusieurs facteurs peuvent expliquer ce retard, les parasitoïdes pourraient avoir une capacité de dispersion inférieure à celle de leur hôte. Ils pourraient également être plus sensibles aux conditions climatiques des zones nouvellement colonisées ce qui réduirait leurs populations. Ces mêmes parasites pourraient être présents dans les zones avant la colonisation de la processionnaire du pin, et le retard observé serait dû au temps nécessaire à l'adaptation à ce nouvel hôte. Des études supplémentaires sont nécessaires pour comprendre les raisons de ce retard qui peut s'avérer bénéfique pour l'expansion de la processionnaire du pin. Le taux d'expansion de l'aire de répartition d'une espèce va dépendre de la capacité de dispersion de l'espèce, de la taille de la population installée et du taux de croissance de la population (Menendez et al., 2008). Avec une pression diminuée de la part des parasites, plus d'œufs vont éclore, donc plus de chenilles arriveront à l'âge adulte ce qui va permettre une croissance de la population plus forte au

niveau du front de colonisation. L'augmentation de la température moyenne durant les dernières décennies a permis à des régions hors du territoire de la processionnaire du pin de devenir favorables à son développement (Battisti et al., 2005; Robinet et al., 2007). Avec la présence de son hôte sur l'ensemble du territoire, la colonisation de la processionnaire n'est plus limitée que par la capacité de vol de ses femelles qui a été estimée entre 5 et 25 kilomètres (Sauvard & Yart, 2011).

II.3 Impact de l'expansion de l'aire de distribution de la processionnaire du pin sur la structure génétique de deux parasitoïdes associés

II.3.1. Introduction

Le réchauffement climatique est connu pour modifier l'aire de répartition des espèces (Parmesan et al., 1999; Parmesan & Yohe, 2003). Les épisodes successifs de réchauffements et glaciations ont provoqué des cycles d'expansion et de contraction démographique chez les espèces (Hewitt, 2004; Schmitt, 2007) avec, lors des épisodes de refroidissement, une extinction des populations dans les hautes latitudes et/ou altitudes et une survie dans des refuges situés plus au sud. Ceci a modelé la distribution de la diversité génétique avec une plus grande diversité dans les basses latitudes, c'est le principe du "southern richness and northern purity" (Hewitt, 1999). Ainsi, le changement global influence directement la distribution géographique des espèces et de leur diversité génétique et agit sur le flux de gènes entre populations causant des phénomènes tels que les goulots d'étranglement, événements qui entraînent la modification de la structure génétique de populations. (Hewitt, 2000; Hewitt, 1999; Schmitt, 2007).

En réponse au réchauffement climatique, la processionnaire du pin est une des espèces qui est en train d'étendre son aire de répartition en latitude et en altitude (Battisti et al., 2005; Robinet et al., 2007). Cette réponse contemporaine relativement rapide suggère que son aire de répartition a fortement évolué dans le passé en réponse aux fluctuations climatiques du pléistocène (Rousselet et al., 2010). Durant les épisodes glaciaires, la processionnaire du pin n'a pu survivre que dans des refuges qui étaient climatiquement favorables à son développement et où était présent son hôte obligatoire, le pin (*Pinus* spp.). Deux études précédentes, l'une à partir de marqueur mitochondrial (Rousselet et al., 2010) et l'autre à partir de marqueurs microsatellites (Kerdelhue et al., 2006) ont montré une plus grande diversité génétique dans les populations de processionnaires du pin proches de la méditerranée comparées aux populations les plus septentrionales. De plus, Rousselet *et al.* (2010) ont montré que la recolonisation de la France par la processionnaire du pin avait pu se faire par deux voies différentes passant de chaque côté du Massif Central et ayant pour origine des refuges glaciaires différents. La processionnaire du pin possède des ennemis naturels qui dépendent de sa présence pour assurer leur développement. On peut donc se demander

comment ces populations se sont structurées face aux rétractions et expansions de l'aire de répartition de leur hôte et la récente colonisation d'habitats en haute latitude et altitude.

Nous avons vu précédemment que la processionnaire du pin possède deux espèces de parasitoïdes des œufs assurant la quasi-totalité de la prédation de ce stade de développement. L'une est un spécialiste stricte de la processionnaire du pin, *B. servadeii*, et la seconde, *O. pityocampae*, est considérée comme un généraliste pouvant se développer sur d'autres hôtes. Notre étude (voire chapitre III.1) a montré que, bien qu'elles avaient un certain retard, ces espèces ont été capable de suivre la progression de la processionnaire du pin sur notre territoire et on les retrouve aujourd'hui jusqu'au niveau du front d'expansion de leur hôte. Ont-elles emprunté les mêmes routes de colonisation que leur hôte ? L'une étant spécialiste et l'autre généraliste, l'expansion géographique de leur hôte va-t-elle avoir la même influence sur la structure de leur population respective ? La répartition de l'espèce spécialiste étant dépendante de la processionnaire du pin, on peut émettre l'hypothèse qu'elle a suivi son expansion depuis les refuges glaciaires jusqu'au front d'expansion actuel et devrait avoir une structuration génétique comparable à celle de son hôte avec une diminution de la diversité génétique du sud vers le nord. Au contraire, l'espèce généraliste pouvant être présente indépendamment de la processionnaire du pin, sa répartition n'est pas liée à son hôte et on ne retrouvera pas nécessairement de structuration génétique des populations liées à l'expansion de l'aire de répartition de l'hôte.

Pour tester ces hypothèses, nous avons échantillonné des spécimens de ces deux espèces le long de deux voies d'expansion de la processionnaire du pin. Nous avons analysé la distribution de la diversité génétique en se basant sur le séquençage du gène mitochondrial Cytochrome Oxydase I (COI).

II.3.2. Matériel et méthodes

- **Matériel biologique**

Pour les deux espèces étudiées, un même protocole d'échantillonnage a été réalisé dans la mesure du possible. Les individus étudiés proviennent de l'échantillonnage des pontes réalisé en 2009 pour le suivi spatial du parasitisme et correspondent à la seconde vague d'émergence qui a lieu l'année suivant la ponte, après qu'ils aient passé l'hiver en diapause.. Les pontes ont été prélevées à l'automne 2009 et conservées en condition extérieure sous un abri. Les parasitoïdes ont émergés entre Juin et Septembre 2010. Le contrôle d'émergence des

parasitoïdes a été réalisé une fois par semaine entre les mois de Mai et Octobre 2010 et tous les individus émergés ont été placés immédiatement en alcool 95° et au congélateur pour une conservation optimale en vue de l'étude génétique.

Cinq individus de chacune des deux espèces de parasitoïdes ont été étudiés pour chaque localité échantillonnée sur deux transects représentant les zones d'expansion de la processionnaire du pin. Le premier transect est le transect latitudinal Bassin Parisien, le second, le transect altitudinal Alpes, ces deux transects ont été décrits précédemment (Chapitre II.2.2). Etant donné le mode de reproduction parthénogénétique de ces espèces de parasitoïdes, on a étudié des individus provenant de cinq pontes différentes afin d'éviter au maximum toute relation de filiation entre les parasitoïdes. Les individus du transect latitudinal ont tous été prélevés sur du pin noir, tandis que les individus du transect altitudinal ont été prélevés sur du pin sylvestre, à l'exception des individus prélevés dans la localité de Grambois où l'échantillonnage a eu lieu sur pin d'Alep à cause de l'absence d'une population naturelle suffisante de pin sylvestre à cette altitude. On retrouve chez les hôtes potentiels de la processionnaire du pin une structuration altitudinale, les espèces de basse altitude telle que le pin d'Alep ont des propriétés thermophiles alors que les espèces de plus hautes altitudes telles que le pin noir ou le pin sylvestre sont plus résistantes au froid.

Pour certaines localités où trop peu de parasitoïdes ont émergé, nous avons moins de cinq individus étudiés, voire pas du tout dans deux localités dans le transect Bassin Parisien où aucun *O. pityocampae* n'a émergé. Le récapitulatif du nombre d'individus par espèces et par localités étudiés est présenté dans le tableau II.3.

	N°	Localités	Latitude	Longitude	Altitude	Essence	<i>B. servadeii</i>	<i>O. pityocampae</i>
Transect Latitudinal	10	Front	48.51	001.46	161	<i>P. nigra</i>	5	0
	9	Chartres	48.45	001.39	125	<i>P. nigra</i>	5	5
	8	Chateaudun	48.07	001.33	108	<i>P. nigra</i>	5	4
	7	Orleans	47.91	000.90	114	<i>P. nigra</i>	5	7
	6	Tours	47.37	000.69	47	<i>P. nigra</i>	5	5
	5	Poitiers	46,58	000.35	97	<i>P. nigra</i>	5	5
	4	Bordeaux	44,91	-000.49	15	<i>P. nigra</i>	5	7
	3	Bayonne	43,44	-001.57	30	<i>P. nigra</i>	5	0
	2	Cuenca	40.22	-002.10		<i>P. nigra</i>	5	6
	1	Mora de Rubielos	40.25	-000.75		<i>P. nigra</i>	5	7
Transect Altitudinal	6	Villard Meyer	44,84	006.58	1237	<i>P. sylvestris</i>	5	5
	5	Saint Crepin	44.71	006.59	991	<i>P. sylvestris</i>	5	5
	4	Mont Dauphin	44.68	006.63	926	<i>P. sylvestris</i>	5	5
	3	Serre-Ponçon	44.53	006.34	810	<i>P. sylvestris</i>	5	5
	2	Mallefougasse	44.07	005.89	710	<i>P. sylvestris</i>	5	5
	1	Grambois*	43.75	005.62	496	<i>P. halpensis</i>	5	5

Tableau II.3 : Détails de l'échantillonnage des parasitoïdes utilisés pour l'étude génétique

- **Analyse génétique**

Extraction d'ADN. Cinq individus par espèce et par site ont été séquencés. Étant donné le mode de reproduction parthénogénétique des deux espèces (thélythoquie), nous n'avons travaillé que sur des femelles. Au vu de la très petite taille des individus étudiés, l'ADN total a été extrait à partir du corps entier des adultes conservés dans l'alcool, à l'aide du Kit « NucleoSpin® Tissu » de Macherey-Nagel. La qualité de l'ADN a été vérifiée par migration sur gel d'agarose à 1% et par spectrofluorimétrie avec un dosage au Nanodrop®.

Amplification de l'ADN mitochondrial et séquençage. À l'aide d'une réaction de polymérisation en chaîne (PCR), nous avons amplifié un fragment de 988 paires de bases du gène codant pour la Cytochrome Oxydase I (COI) chez *B. servadeii* et un fragment de 1028 paires de bases chez *O. pityocampae* de ce même gène classiquement utilisé dans les études phylogénétiques et phylogéographiques. Les amorces utilisées pour la PCR et le séquençage direct ont été spécifiquement dessinées pour chacune des deux espèces au sein du laboratoire.

Pour l'espèce *B. servadeii* nous avons utilisé le couple d'amorces suivant :

Clyde3 : (5' CTCGGATAAATAATATAAGTTTTTGGCT 3') et BasR1271 : (5' AAATAATATTTCAACATGTATATGAATCTGG 3').

Le produit PCR est composé de 1µl d'ADN extrait ajouté à 24µl de produits de réaction (Tampon 10X : 2,5µl ; dNTP (10mM) : 2,5 µl ; MgCl₂ (25mM) 2,5µl ; Amorce Clyde3 : 1µl ; Amorce BasR1271 : 1µl ; Taq (1U/µl) : 1 µl ; Betaïne : 0,5 µl ; H₂O : qsp 24µl). Les conditions de PCR appliquées sur 35 cycles sont les suivantes : une étape de dénaturation de 30 secondes à 94°C, une étape d'hybridation de 30 secondes de 60°C à 42°C avec une diminution de 0,5°C par cycle selon la méthode du touchdown et une étape d'élongation de 1 minute à 72°C. De plus, un cycle initial de dénaturation de 5 minutes à 94°C a été réalisé, ainsi qu'un cycle final d'élongation de 7 minutes à 74°C.

Pour l'espèce *O. pityocampae* nous avons utilisé le couple d'amorces suivant :

Clyde2 : (5' CGAATAAATAATATAAGTTTTTG 3') et OPI-R1275 : (5' CAACATAAATAAGAATCTGGA 3')

Le produit PCR est composé de 2µl d'ADN extrait ajouté à 23µl de produits de réaction (Tampon 10X : 2,5µl ; dNTP (10mM) : 2,5 µl ; MgCl₂ (25mM) 2,5µl ; Amorce Clyde2 : 1µl ; Amorce OPI-R1275 : 1µl ; Taq (1U/µl) : 1 µl ; Betaïne : 0,5 µl ; H₂O : qsp 23µl). La réaction

de PCR 35 cycles dans les conditions suivantes : une étape de dénaturation de 45 secondes à 94°C, une étape d'hybridation de 1 minute à 54°C et une étape d'élongation de 1 minutes 30 secondes à 72°C. De plus, un cycle initial de dénaturation de 5 minutes à 94°C à été réalisé, ainsi qu'un cycle final d'élongation de 7 minutes à 72°C.

Après vérification de la taille des amplifications par migration sur gel d'agarose 1% avec un marqueur de taille Smartladder (Eurogentec), les produits de PCR ont été purifiés sur colonne à l'aide du kit « NucleoSpin Extract II » de Macherey-Nagel (afin d'enlever les amorces en excès et les réactifs utilisés pour la PCR). Ils ont ensuite été directement séquencés avec les amorces spécifiques à chacune des deux espèces. Le séquençage a été réalisé à l'aide du Kit Abi Prism® Big Dye® Terminator V.3.1 Cycle Sequencing Kits (Applied Biosystems), incluant des didésoxyribonucléotides terminateurs possédant un marqueur fluorescent différent selon la base (A, C, G ou T), et les réactions de séquence ont été précipitées à l'éthanol 95%. Les précipités ont été resuspendus dans 30 µl d'H2O avant d'être analysés par un séquenceur automatique Abi Prism® 3100 Genetic Analyser (Applied Biosystems).

- **Analyse des données**

Les séquences obtenues dans les deux sens ont été corrigées à la main à l'aide du logiciel CodonCode Aligner 3.7.1 et alignées avec le logiciel Clustal W v1.4 (Thompson et al., 1994) implanté dans le logiciel BioEdit v7.0.5. Un réseau d'haplotypes a été construit à l'aide du logiciel TCS 1.21 (Clement et al., 2000) pour montrer les relations phylogénétiques entre les différents haplotypes.

II.3.3. Résultats

Nous avons séquencé et analysé 156 individus (80 *B. servadeii* et 76 *O. pityocampae*). Nous avons utilisé un fragment final après corrections de 919 paires de bases chez *B. servadeii*, et de 1028 paires de bases chez *O. pityocampae*.

- **Transect latitudinal**

Chez l'espèce spécialiste *B. servadeii*, nous avons mis en évidence huit haplotypes avec un haplotype majoritaire B01 partagé par 36 individus et sept haplotypes uniques (retrouvés seulement une fois) ou bien partagé par deux ou trois individus seulement (B02, B03, B04, B05, B06, B07 et B08) (Fig. II.11.b). Nous avons retrouvé dans les deux populations Espagnoles cinq haplotypes uniques, l'haplotype majoritaire n'est retrouvé qu'au Nord des Pyrénées et est le seul que l'on retrouve de Poitiers jusqu'au niveau du front de colonisation de la processionnaire du pin (Fig II.13). Les haplotypes de tous les individus collectés sur l'ensemble du transect ne constituent qu'un seul clade.

Chez l'espèce de parasitoïde généraliste *O. pityocampae*, nous avons mis en évidence deux haplotypes différents (Figure II.11.a). L'haplotype O1 est retrouvé chez 35 individus, c'est le seul haplotypes que l'on retrouve dans les populations françaises, il est également présent, mais minoritaire, dans les populations collectées en Espagne. Le second haplotype, O4, est partagé par 11 individus tous Espagnols et est majoritaire dans ces populations.

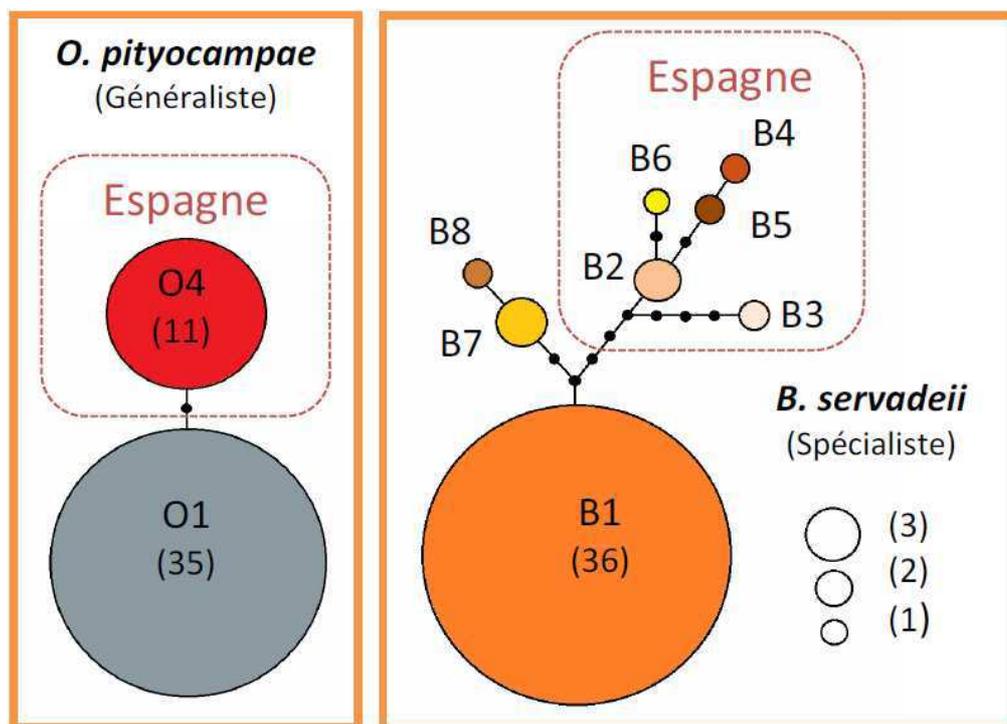


Figure II.11 : Réseaux d'haplotypes des haplotypes mitochondriaux chez *O. pityocampae* (a) et *B. servadeii* (b) et pour le transect latitudinal. Chaque ligne entre deux cercles représente un pas mutationnel.

- **Transect altitudinal**

Chez *B. servadeii* nous avons mis en évidence 12 haplotypes qui sont tous différents des haplotypes retrouvés dans le transect latitudinal. L'haplotype majoritaire B10 est partagé par 10 individus sur les 30 étudiés. Un second haplotype B19 est retrouvé chez cinq individus et les 10 haplotypes restants sont uniques ou retrouvés chez deux ou trois individus (B11, B12, B13, B14, B15, B16, B17, B18, B20, B21) (Fig II.12.b). Dans la zone cœur de l'aire de répartition de leur hôte, nous avons trouvé neuf haplotypes différents. Nous en avons retrouvé trois dans la zone néo-colonisée et deux au niveau du front d'expansion de la processionnaire du pin (Fig X). Les individus collectés dans la localité de Grambois sur *Pinus halepensis* constituent un clade à part des individus collectés sur le reste du transect sur *Pinus sylvestris*.

Chez *O. pityocampae*, nous avons retrouvé trois haplotypes caractérisés par deux sites variables. L'haplotype majoritaire O1 est le même que dans le transect latitudinal et est partagé par 22 individus. Les deux autres haplotypes O2 et O3, absents des spécimens étudiés dans le transect latitudinal, sont retrouvés chacun chez quatre individus du transect altitudinal (Fig. II.12.a). Dans la zone cœur de l'aire de répartition de la processionnaire du pin, nous retrouvons donc trois haplotypes différents tandis qu'il n'y a plus que l'haplotype majoritaire dans les populations des zones néo-colonisées et front (Fig. II.13).

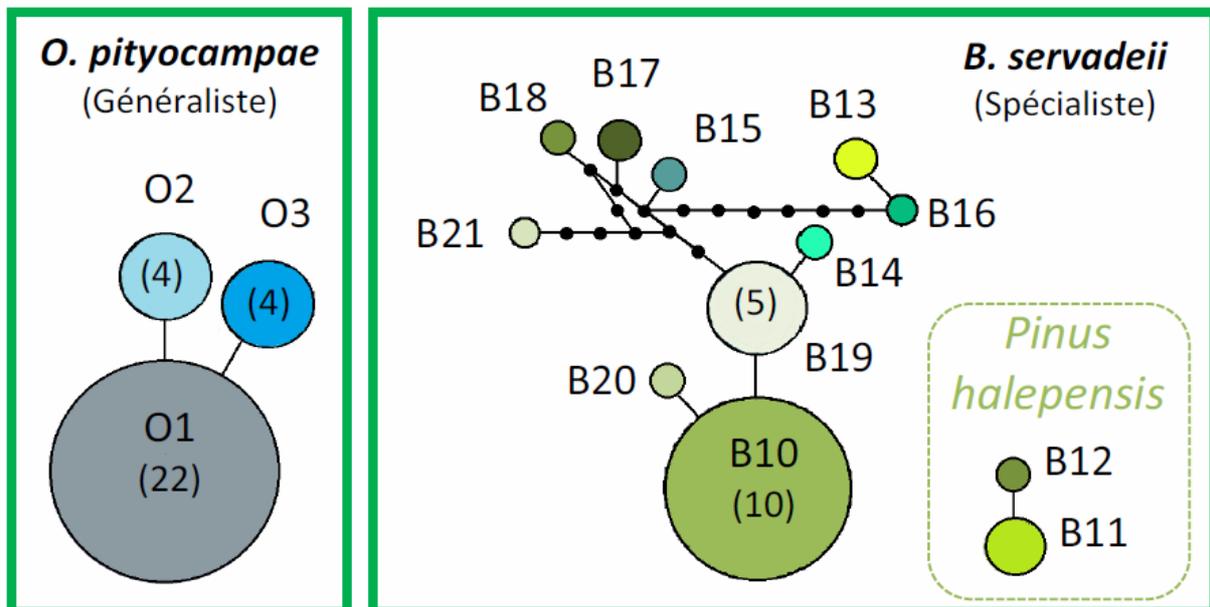


Figure II.12 : Réseaux d'haplotypes des haplotypes mitochondriaux chez *O. pityocampae* (a) et *B. servadeii* (b) et pour le transect altitudinal. Chaque ligne entre deux cercles représente un pas mutationnel.

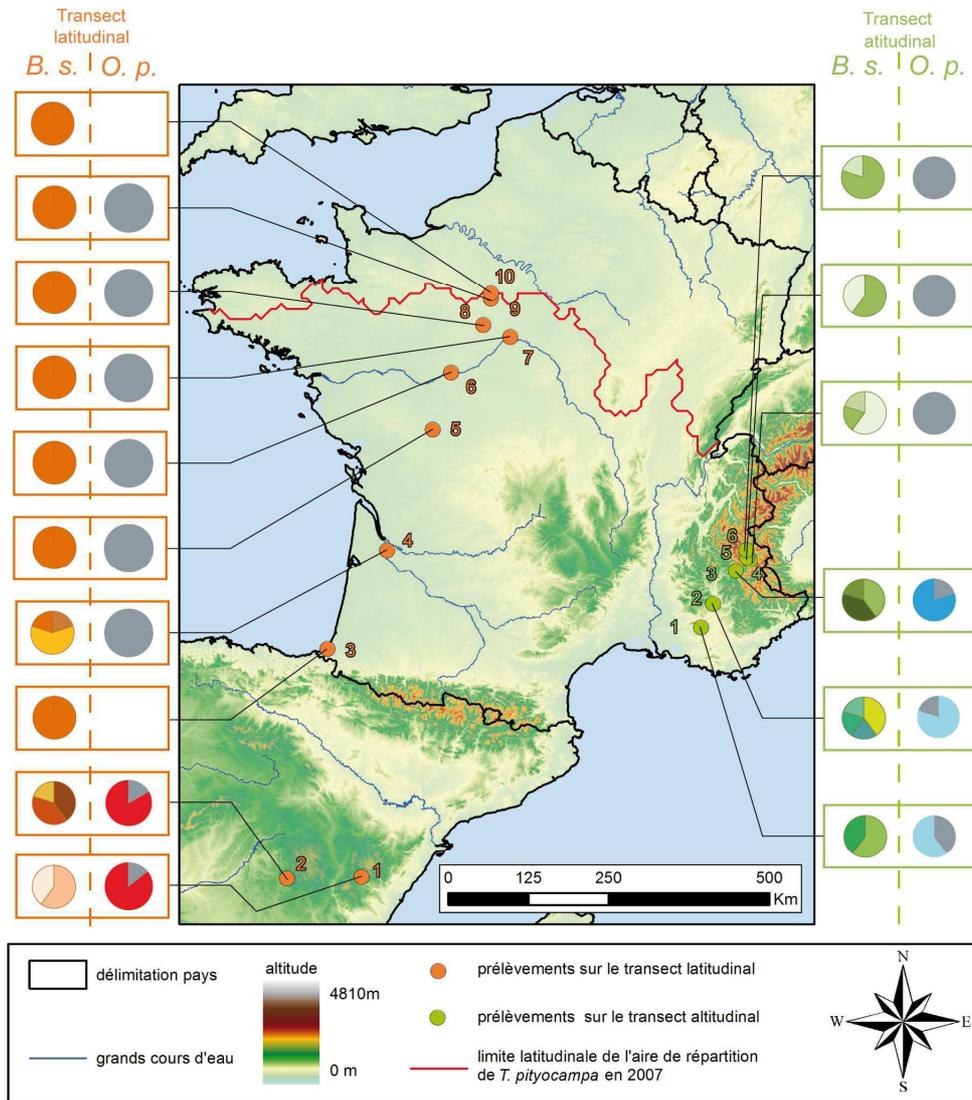


Figure II.13. Carte de la distribution des haplotypes mitochondriaux le long des deux transects étudiés pour les deux espèces de parasitoïdes. *B. s.* correspond aux haplotypes identifiés chez *Baryscapus servadeii* et *O. p.* correspond aux haplotypes identifiés chez *Ooencyrtus pityocampae*. Les couleurs correspondent aux différents haplotypes identifiés dans les figures II.11 et II.12

II.2.4. Discussion

Cette étude portant sur deux espèces de parasitoïdes, l'une spécialiste et l'autre généraliste, montre une diminution de la diversité haplotypique au niveau des zones récemment colonisées par la processionnaire du pin pour chacune des deux espèces. Cependant, la structuration génétique des deux espèces laisse apparaître une différence au niveau des flux de gènes entre leurs populations respectives. Le COI est un marqueur qui était bien approprié à notre étude. Son taux de mutation élevé et sa capacité à échapper aux recombinaisons le rendent utile pour les études intra-spécifiques (Navajas et al., 1998). De

plus, grâce à son héritabilité maternelle, il reflète directement l'histoire évolutive des femelles, en pouvant marquer des préférences pour un hôte particulier (Diegisser et al., 2009).

La processionnaire du pin étend son aire de répartition grâce au réchauffement climatique d'environ 5,6 km par an en latitude (Robinet et al., 2007) et 70,1 m par décennie en altitude (Battisti et al., 2006). Au niveau des deux zones d'expansion que nous avons étudié, il a été montré que la processionnaire du pin avait une diversité haplotypique qui diminuait avec la progression en latitude (Rousselet et al., 2010). Nous avons trouvé le même résultat pour les deux espèces de parasitoïdes étudiées, la diversité haplotypique est plus importante dans les régions de basses latitudes, qui correspondent aux régions les plus anciennement colonisées par la processionnaire du pin. Ces résultats sont cohérents avec le patron de structuration connu sous la dénomination de "southern richness and northern purity" soit de plus grande diversité dans les zones de basse latitude, établie par Hewitt (1999) et proposée pour expliquer la structuration génétique de la processionnaire du pin en dans l'ouest de la France (Rousselet et al., 2010). Ainsi comme pour l'hôte, on retrouverait chez les parasitoïdes associés plusieurs effets fondateurs ayant structuré la diversité génétique actuelle durant le suivi de l'expansion de la processionnaire du pin. Ce phénomène est beaucoup plus net chez le parasitoïde spécialiste qui a une diversité haplotypique plus importante que le parasitoïde généraliste. *B. servadeii* dépend de la processionnaire du pin qui est son seul hôte et ne peut pas être présent dans un milieu si son hôte en est absent. La réduction de sa diversité haplotypique pourrait être le résultat de *bottlenecks* successifs lors de sa progression conjointe à celle de son hôte. Seule une fraction de la population d'origine a suivi l'hôte et c'est pourquoi on ne retrouve qu'une partie des haplotypes présents dans la zone de refuge. L'haplotype qui est aujourd'hui majoritaire en France n'a pas été retrouvé en Espagne dans notre étude, mais des analyses plus récentes sur d'autres populations espagnoles l'ont mis en évidence (Auger-Rozenberg, pers. com.). Nous ne pouvons par contre pas expliquer sa prédominance dans les populations françaises qui pourrait être due à un phénomène de sélection ou être d'origine purement stochastique.

On ne retrouve aucun haplotype commun entre les *B. servadeii* du transect latitudinal à l'Ouest de la France et ceux du transect altitudinal réalisé dans l'Est de la France. Chez la processionnaire du pin, on retrouve en France une division Est-Ouest avec deux lignées distinctes. La lignée qui a colonisée l'Ouest de la France est originaire de l'Est de l'Espagne alors que la lignée qui a colonisé l'Est est originaire du sud-est de la France ou d'un refuge plus oriental mais encore indéterminé à ce jour (Rousselet et al., 2010). Cette absence d'haplotype commun entre les deux transects démontre une absence de flux de gène entre ces

populations. Comme pour son hôte, les parasitoïdes de l'est seraient originaires de refuges différents de ceux de l'ouest. Il serait particulièrement intéressant dans le futur de collecter des parasitoïdes au niveau de la zone de contact au nord du Massif Central entre les processionnaires du pin de l'ouest et de l'est pour voir si, comme chez leur hôte, on retrouve à cet endroit les haplotypes correspondant aux populations des deux voies de colonisation. Au contraire, chez *O. pityocampae*, on retrouve le même haplotype majoritaire dans les deux transects. Cette espèce étant généraliste, elle possède d'autres hôtes que la processionnaire du pin (Battisti et al., 1988), elle pouvait donc être présente bien avant l'arrivée du lépidoptère. Cet haplotype majoritaire retrouvé dans les deux transects traduit de forts flux de gènes entre les populations de ce parasitoïde. La diminution du nombre d'haplotypes avec l'augmentation de la latitude pourrait être due au phénomène de "southern richness and northern purity" (Hewitt, 1999) et non pas à des effets fondateurs successifs liés à la colonisation de cette espèce vers le nord et en altitude.

Dans les deux transects, les pontes de processionnaire du pin d'où proviennent les parasitoïdes ont été échantillonnées sur des espèces de pin différentes. Les pontes du transect latitudinal ont été collectées sur des pins noirs alors que les pontes du transect altitudinal ont été échantillonnées sur du pin sylvestre à l'exception d'une localité prélevée sur du pin d'Alep. Comme nous l'avons dit précédemment, on ne retrouve chez *B. servadeii* aucun haplotype commun entre les deux transects, donc entre des parasitoïdes échantillonnés sur des espèces de pin différentes.

Dans le transect altitudinal, les parasitoïdes émergés de pontes récoltées sur le pin d'Alep forment un clade à part de ceux émergés de pontes sur pin sylvestre. Chez *B. servadeii*, les kairomones liées aux œufs et aux écailles laissées par les femelles jouent un rôle pour l'orientation à courte distance (Battisti, 1989; Masutti, 1964), mais l'orientation à longue distance semble être liée à la plante hôte (Battisti, 1989). Nos données pourraient suggérer un phénomène de race d'hôte chez le parasitoïde qui serait associé à la plante hôte de sa proie. Ainsi, les *B. servadeii* associés à chaque espèce de pin constitueraient chacun un clade différent. Un échantillonnage sur plusieurs espèces de pins dans une même région permettrait de confirmer cette hypothèse.

En conclusion, l'aire de répartition du parasitoïde spécialiste est intimement liée à celle de son hôte et on retrouve le même pattern de structuration génétique chez les deux. De plus, la faible diversité haplotypique retrouvée dans les populations les plus récentes pourrait traduire une faible dispersion et une tendance à la phylopatricité chez *B. servadeii*. Ce pattern a été retrouvé chez un autre parasitoïde spécialiste qui s'attaque aux pucerons (Nyabuga et al.,

2010). En ce qui concerne le parasitoïde généraliste, sa capacité à avoir de multiples hôtes a pu permettre sa survie dans des refuges différents de la processionnaire du pin et rendre possible un flux de gène sur l'ensemble du territoire. Sa répartition ne semble alors pas liée à celle de la processionnaire du pin.

Cette étude préliminaire a soulevé d'autres questions sur la relation entre le parasitoïde et son hôte et nécessiterait un nouvel échantillonnage pour répondre à la question de l'influence de l'arbre hôte sur le parasitoïde spécialiste et sur sa diversité haplotypique au niveau de la zone de contact entre les processionnaires du pin de l'ouest et de l'est de la France.

II.4. Conclusion générale

Dans ce chapitre, nous avons cherché à mettre en évidence un échappement de la processionnaire de pin à ses ennemis naturels. L'augmentation des températures hivernales a permis à la processionnaire du pin d'étendre son aire de répartition vers le nord à la vitesse de 5,6 kilomètres par an ces dix dernières années (Robinet et al., 2007) et en altitude de 70 mètres par décennies entre 1975 et 2004 (Battisti et al., 2005). Cette rapide progression peut permettre à l'espèce d'échapper à une partie de ses ennemis naturels et ainsi améliorer sa capacité d'expansion. Notre étude s'est focalisée sur un seul type d'ennemis naturels : les parasitoïdes oophages. De nombreuses études ont déjà été réalisées dans tout le pourtour méditerranéen sur ces insectes et leur relation avec la processionnaire du pin (Mirchev et al., 2004; Schmidt et al., 1999; Tsankov et al., 2006; Tsankov et al., 1996b). Ils sont également relativement faciles à collecter et leur impact sur une ponte de processionnaire peut facilement être évalué. Ils peuvent, dans certaines régions, être responsables de près de 50% de la mortalité embryonnaire de leur hôte (voir Chapitre II.2). Les espèces les plus communes dans les pontes de processionnaire du pin ont été bien décrites ainsi que l'aspect du méconium qu'elles laissent dans l'œuf avant d'émerger et sont donc aisément identifiables (Tanzen & Schmidt, 1995). Ces différents atouts ont fait des parasitoïdes oophages un modèle de prédilection pour notre étude.

Nous avons testé l'existence du phénomène "d'Enemy release hypothesis" (Keane & Crawley, 2002; Liu & Stiling, 2006) lors de l'expansion de la processionnaire du pin vers le nord et en altitude. Ce phénomène pourrait partiellement expliquer le succès invasif de l'espèce dans les zones nouvellement colonisées (Colautti et al., 2004). Nos résultats ont montré une diminution significative du taux de parasitisme dans les régions les plus récemment colonisées. Le relâchement de la pression par les parasitoïdes dans les régions nouvellement colonisées peut se faire de deux manières, soit le complexe parasitaire de l'hôte est réduit, soit c'est l'impact des parasitoïdes dans cette région qui est réduit (Colautti et al., 2004; Mitchell & Power, 2003; Torchin et al., 2003). Dans notre étude nous n'avons pas montré de différence au niveau de la richesse spécifique des espèces durant l'expansion. Les quatre mêmes espèces de parasitoïdes ont été retrouvées sur l'ensemble du territoire durant les deux années. Une cinquième espèce a été retrouvée dans l'échantillonnage de 2009, mais celle-ci a été retrouvée dans les 3 zones d'expansion et à la fois dans l'aire de répartition ancestrale de la processionnaire du pin et dans son aire plus récente. Cette espèce ne peut

donc pas être considérée comme une nouvelle espèce s'étant adaptée à la présence de la processionnaire du pin, mais comme un parasitoïde occasionnel, dont quelques individus sont capables ponctuellement d'utiliser les pontes de processionnaire du pin pour leur développement. Si le complexe parasitaire n'est pas réduit au niveau des zones nouvellement colonisées, alors c'est l'abondance de ces parasitoïdes qui est plus faible.

Le climat plus rude au niveau du front d'expansion peut engendrer des mortalités importantes chez les parasitoïdes ou une désynchronisation de leur cycle avec celui de leur hôte. Ces effets pourraient expliquer une abondance réduite dans les zones nouvellement colonisées. Nos résultats ont montré que le climat n'altère pas la relation entre l'hôte et ses parasitoïdes. Ils répondent de la même manière à une température plus basse en repoussant leur période de vol. Le taux de parasitisme plus bas observé n'est donc pas dû à une désynchronisation des parasitoïdes et de leur hôte dans cette région. Des résultats complémentaires à propos de la mortalité des parasitoïdes de la zone Cœur de l'aire de répartition de leur hôte transportés au niveau de la zone Front pourront nous permettre de conclure sur l'impact du climat sur les parasitoïdes.

Parmi les deux espèces de parasitoïdes majoritaires, l'une est un spécialiste de la processionnaire du pin et la seconde est considérée comme généraliste et peut parasiter d'autres hôtes (Lopez-Sebastian et al., 2004). Les résultats de notre seconde étude portant sur une étude génétique des deux parasitoïdes majoritaires de la processionnaire du pin ont montré qu'ils ne suivaient pas la progression de leur hôte de la même manière. Le parasitoïde spécialiste ne peut pas se développer sans la présence de la processionnaire du pin, son aire de répartition est donc similaire à celle de son hôte. Nos résultats confirment que ce parasitoïde a suivi son hôte depuis sa recolonisation post-glaciaire et on retrouve entre l'hôte et son parasitoïde le même pattern génétique associé à une expansion. En revanche, chez le parasitoïde généraliste, on ne retrouve pas de structuration génétique liée à l'expansion de la processionnaire du pin. Sa capacité à pouvoir parasiter d'autres hôtes lui permet de coloniser des milieux sans que la processionnaire du pin y soit présente et a pu, lors de la dernière glaciation, lui permettre de se maintenir dans des refuges différents, la recolonisation s'étant faite par des voies différentes de la processionnaire du pin.

Le retard des parasitoïdes sur leur hôte serait dû à deux facteurs distincts selon s'ils sont spécialistes ou généralistes. Pour le spécialiste, sa présence dans un milieu est dépendante de la présence de son hôte, il faudra donc deux migrations successives, d'abord l'hôte et ensuite le parasitoïde, pour retrouver une situation similaire à la zone d'origine. Mais le laps de temps nécessaire à la migration du parasitoïde peut permettre à l'hôte d'augmenter

sa population effective et donc d'accroître encore son expansion. De plus, l'expansion sera fonction de la capacité de vol des femelles, chez la processionnaire du pin elle a été estimée entre 5 et 25 kilomètres (Sauvard & Yart, 2011), si la capacité de vol des parasitoïdes est plus faible, ils seront incapables de suivre la vitesse d'expansion de leur hôte et donc on observera, dans les zones les plus récemment colonisées, un taux de parasitisme dû aux parasitoïdes spécialistes plus faible que dans la zone d'origine résultant d'une population plus réduite. En revanche, le parasitoïde généraliste peut être présent sans la processionnaire du pin, mais spécialisé, dans ces régions, sur d'autres hôtes. Ainsi, la population d'*O. pityocampae* retrouvée au niveau de la zone cœur n'a pas suivi l'expansion de la processionnaire du pin, mais le parasitisme dans les zones nouvellement colonisées serait à mettre sur le compte des populations natives de ces régions. Un pattern similaire a été retrouvé chez un parasitoïde de *Cameraria orchidella*, *Pediobius saulius*, dont le parasitisme dans les zones les plus récemment colonisées est dû aux populations locales de ce parasitoïde (Hernández-López et al., 2011). Le retard observé des parasitoïdes serait comportemental, les individus ayant besoin d'un laps de temps pour basculer sur le nouvel hôte. Ceci va donc permettre à la processionnaire de pin, le temps que les parasitoïdes déjà présents soient adaptés, d'avoir un meilleur taux de survie, augmentant ses capacités d'expansion.

En conclusion, une ponte issue d'une femelle de processionnaire du pin au niveau de front d'expansion donnera une colonie plus importante, augmentant les chances de survie des chenilles durant l'hiver et leur taux de croissance relatif. Au final le nombre d'individus adultes aptes à se reproduire sera plus important et améliorera les capacités d'expansion de l'espèce. Si, le même phénomène d'ERH est également observé chez les ennemis naturels s'attaquant aux autres stades de développement de la processionnaire du pin cette augmentation du taux de survie sera encore plus accentuée. Il serait particulièrement intéressant de comparer le devenir des individus issus d'une ponte de processionnaire du pin entre la zone Cœur et le front d'expansion. Sachant qu'une femelle pond environ 200 œufs, si le taux de survie à tous les stades est plus important au niveau du front, ceci pourrait expliquer la rapide expansion de l'espèce.

Chapitre III

Une nouvelle interaction engendrée par le changement climatique :
La processionnaire du pin et l'Isabelle de France

III.1. Introduction Générale

Comme nous l'avons vu précédemment, avec la hausse des températures hivernales, l'aire de répartition de la processionnaire du pin s'est étendue vers le nord et en altitude, et cette tendance va se poursuivre. De ce fait, la processionnaire du pin pénètre dans des zones d'où elle était jusqu'alors exclue, faute de conditions climatiques favorables, et peut perturber les communautés de ces zones nouvellement colonisées.

L'arrivée d'un nouvel organisme dans un écosystème peut avoir des conséquences importantes sur les espèces locales (Gurevitch & Padilla, 2004; Hill & Lodge, 1999; Kenis et al., 2009). S'il s'agit d'un nouveau prédateur, une pression de prédation élevée peut avoir un impact sur la densité de populations d'une ou de plusieurs espèces locales, pouvant mener à un déplacement, voire à une extinction de ces populations. Ainsi, l'introduction accidentelle du Python molure *Python molurus bivittatus* dans le parc national des Everglades en Floride aux Etats-Unis a provoqué une diminution drastique de la population de nombreux mammifères dont il se nourrit (Dorcas et al., 2012). L'arrivée d'un nouveau compétiteur pourra aussi affecter les espèces locales et les conséquences seront semblables à celles de l'arrivée d'un prédateur. Il a été montré dans l'état de l'Utah aux Etats-Unis que l'introduction de la coccinelle *Coccinella septempunctata* avait eu un impact négatif sur la densité des populations de coccinelles locales au travers du partage des ressources alimentaires. Les espèces locales étant très sensibles à la densité de pucerons, la forte prédation par la coccinelle invasive sur les pucerons empêchant ces derniers d'atteindre une forte population a contraint les espèces autochtones à abandonner la région (Evans, 2004). Une autre espèce de coccinelle est aussi célèbre pour son aspect invasif, la coccinelle asiatique *Harmonia axyridis*. Cette espèce a été introduite dans plusieurs pays d'Europe en tant qu'agent biologique dans le contrôle des populations de pucerons dans les années 1990. Aujourd'hui elle continue à s'étendre en Europe et sur d'autres continents et affecte les espèces de coccinelles autochtones (Brown et al., 2008; Ware & Majerus, 2008). Dans les Galapagos, l'introduction de cochenille australienne, *Icerya purchasi*, a non seulement affecté les populations d'une plante menacée *Darwiniothamnus tenuifolius*, mais a aussi éliminé des espèces de lépidoptères qui y étaient inféodées (Roque-Albelo, 2003). La plupart des études portant sur un nouveau compétiteur arrivant dans un écosystème ont pour exemple des espèces introduites accidentellement par l'homme loin de leur milieu d'origine. L'étude d'espèces en expansion et de leur impact sur les communautés autochtones dans les milieux nouvellement colonisés a été très peu analysée.

Une étude a montré que l'impact le plus important du changement climatique sur les espèces présentes en arctique pouvait être la compétition avec des espèces du sud qui coloniseraient leur milieu (Callaghan et al., 2004). La diminution de la biodiversité en relation avec l'augmentation de la latitude implique que les espèces vivant au nord ont moins de prédateurs et de compétiteurs et de ce fait, seraient plus sensibles à la compétition avec des espèces plus agressives venant du sud (Callaghan et al., 2004).

D'une manière plus générale, Bøhn *et al.* (2008) ont établi que pour montrer une compétition entre espèces, une étude doit mettre en évidence l'un des impacts suivants :

- Modification de niches (par exemple dans l'habitat ou le régime alimentaire)
- Réduction de densité de population ou extinction
- Diminution du taux de croissance des individus
- Diminution de la nourriture disponible
- Altération de la composition de la communauté de proies avec des espèces plus petites
- Altération de la structure de taille des populations de proies avec des individus plus petits

Cependant, pour la plupart des études à propos de l'impact sur les communautés locales suite à l'introduction d'une espèce, il y a peu, voire pas du tout de données provenant de l'état de ces communautés avant l'invasion. Il est donc difficile, souvent à cause de la mise en évidence tardive de l'invasion, de réellement quantifier son impact sur l'écosystème. Le suivi annuel de la progression de la processionnaire du pin avec le réchauffement climatique sur notre territoire permet de connaître précisément l'étendue de sa répartition à un temps donné et a permis d'en modéliser l'évolution. Nous sommes ainsi en mesure d'estimer sa progression dans les années à venir à condition que le réchauffement climatique se poursuive selon les scénarios établis et qu'il n'y ait pas d'introductions artificielles au delà du front d'expansion.

III.1.1. La processionnaire du pin dans la vallée de la haute-Durance

La vallée de la haute-Durance représente l'un des fronts d'expansion de la processionnaire du pin qui sont suivis annuellement au sein du laboratoire. Notre zone d'étude

se situe dans le département des Hautes-Alpes (05), la processionnaire du pin est historiquement présente dans le sud de cette vallée et sa distribution était, comme sur d'autres fronts d'expansion, limitée par l'altitude et ses conditions climatiques plus sévères. Cependant avec le changement climatique, elle a commencé à progresser dans la vallée de la haute-Durance et dans les vallées annexes. Sa progression dans la vallée de la haute-Durance l'a fait pénétrer dans le milieu occupé par un autre lépidoptère se développant sur le pin sylvestre, l'Isabelle de France. Les aires de répartition de ces deux espèces étaient contiguës et ne se juxtaposaient pas, mais avec le réchauffement climatique, la processionnaire du pin a commencé à pénétrer dans l'aire de répartition de l'Isabelle de France. La vallée du Guil, dans laquelle se trouve le parc naturel régional du Queyras, abrite également le cœur de la population d'*A. isabellae*. Cette vallée subit actuellement la colonisation par la processionnaire du pin. Celle-ci a été observée pour la première fois dans la commune de Maison du Roi (44°40'34,57''N ; 6°41'36,04''E) (Goussard, pers com), aux portes du parc naturel à la fin des années 1990 et a depuis parcouru environ quatre kilomètres à l'intérieur du parc et donc à l'intérieur de l'habitat de l'Isabelle de France.

III.1.2. Le modèle *Actias isabellae*

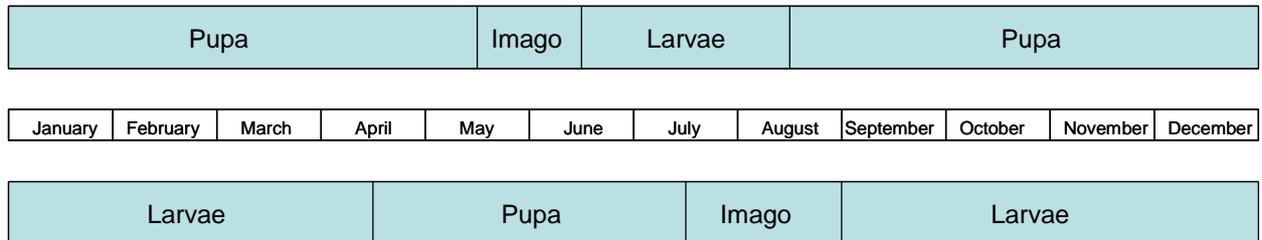
L'Isabelle de France, *Actias* (= *Graellsia*) *isabellae* (Graëlls, 1849) est un lépidoptère de la famille des Saturniidae. Cette espèce à forte valeur patrimoniale n'est présente qu'en Espagne et en France. Sur le territoire français, on ne la trouve que dans les Hautes Alpes, les Alpes de Haute Provence et les Alpes Maritimes avec la majeure partie de sa population observée dans la vallée de la haute-Durance. D'anciennes observations ponctuelles par des amateurs l'identifient également dans le Jura et les Alpes Italiennes, mais ces données restent encore à confirmer. Dans les Hautes Alpes, ce papillon de nuit se retrouve entre 800 et 1800m d'altitude sur des versants pierreux à éboulis, dans des forêts de conifères composées principalement de pins sylvestres et de pins à crochet. Cette espèce est dépendante de ces conifères pour assurer son développement.

A. isabellae est une espèce univoltine, les adultes (Fig III.2) émergent de leurs cocons durant les mois de Mai et Juin. Les adultes ne sont présents dans la nature que pendant ces 2 mois de vol. Les mâles comme les femelles sont actifs dès le crépuscule et durant les 3 à 4 premières heures de la nuit. Les femelles vierges attirent les mâles grâce à une phéromone sexuelle composée d'un aldéhyde tri-insaturé qui a été récemment identifiée, le (4E,6E,11Z)-hexadecatrienal (Millar et al., 2010). L'accouplement dure entre 4 et 6 heures en moyenne et

les œufs seront pondus jusqu'à 72 heures après l'accouplement. Les œufs sont déposés par petits groupes sur les branches des pins, ils ont un diamètre de 2 à 3 millimètres et sont de couleur brun grisâtre ce qui les confond parfaitement avec la couleur des branches. Les chenilles éclosent entre 10 à 15 jours après la ponte et vont se nourrir des aiguilles de pin sylvestre, avec une préférence pour les aiguilles des années précédentes. Elles vivent isolément et se fondent parfaitement dans leur environnement par leur couleur qui est d'abord entièrement gris foncée pour ensuite se parer de motifs verts et bruns liserés de blanc (Fig. III.3). Le développement larvaire se fait en 5 stades et peut durer entre une trentaine et une cinquantaine de jours selon la température. A la fin du développement, la chenille descend au sol et nymphose dans la litière des arbres dans un cocon de couleur brune agglutiné avec des débris végétaux. L'espèce hiverne sous forme de chrysalides en diapause et les adultes émergeront à la fin du printemps suivant.

Les populations de cette espèce sont très réduites et localisées, ce qui lui a valu son statut de protection dans les années 1970 tant la pression des collectionneurs sur ce papillon emblématique était forte. Cette espèce est encore aujourd'hui protégée par la directive Habitats et la convention de Bern et apparaît sur les listes des espèces protégées en France et en Espagne (Chefaoui & Lobo, 2007; Vila et al., 2009). Aujourd'hui, c'est l'arrivée dans son milieu, d'un nouveau compétiteur qui pourrait affecter les populations d'Isabelle de France. En effet, bien que la processionnaire du pin et l'Isabelle de France ne se développent pas au même moment (Fig. III.1), elle partagent la même ressource alimentaire, le pin sylvestre. Cette interaction étant récente, nous ne connaissons pas quels vont être les effets de la présence de la processionnaire du pin sur le maintien des populations d'Isabelle de France.

Actias isabellae



Thaumetopoea pityocampa

Figure III.1 : Détails des cycles de développement de *A. isabellae* et *T. pityocampa*



Figure III.2 : Imago mâle d'*A. isabellae*



Figure III.3 : Chenille d'*A. isabellae* au 5^{ème} stade larvaire

II.1.3. Hypothèses de travail

Comme nous l'avons vu, l'arrivée d'un nouveau compétiteur herbivore peut affecter les autres espèces partageant leur ressource alimentaire. Depuis l'arrivée de la processionnaire du pin dans la frange inférieure de l'aire de répartition de l'Isabelle de France, il a été observé une disparition du papillon protégé d'arbres où il était jusqu'alors présent (Francis Goussard, pers. obs.). La processionnaire du pin et l'Isabelle de France partagent donc la même ressource alimentaire : le pin sylvestre mais ne l'exploitent pas au même moment. Dans la vallée de la haute-Durance, les chenilles de processionnaire du pin sont présentes sur les arbres du mois de Septembre au mois de Mars alors que les adultes d'*A. isabellae* n'émergent qu'à la mi-Mai et les chenilles se retrouvent dans les pins à partir de début Juin. Donc les indices du passage des chenilles de processionnaire du pin sur les arbres, à savoir la présence de nids d'hiver et les traces de défoliation, seront encore apparents au printemps. La processionnaire du pin pourrait donc avoir un effet indirect via l'hôte commun avec *A. isabellae* sur la ponte et le développement de la progéniture de cette dernière. La possibilité d'un impact négatif de l'arrivée de la processionnaire du pin sur les populations d'*A. isabellae* a donc été étudiée à différentes échelles. Pour identifier et quantifier l'impact potentiel de la processionnaire sur les populations d'Isabelle de France dans les Hautes Alpes nous avons testé trois hypothèses :

- La présence de chenilles de processionnaire du pin sur un arbre a une influence sur la colonisation future de cet arbre par *A. isabellae*.
- La consommation d'aiguilles de pins précédemment défoliés par les chenilles de processionnaire du pin affecte la survie et le développement des chenilles d'Isabelle de France.
- Les ennemis naturels de la processionnaire du pin ont suivi sa progression et pourraient affecter les populations d'Isabelle de France.

Une quatrième hypothèse pouvant expliquer le retrait des populations d'Isabelle de France des limites inférieure de son aire est la réponse au changement climatique. Les seuils de tolérance climatique de cette espèce ne sont pas connus, et il est possible que ce

lépidoptère réponde au changement climatique par un déplacement de la limite inférieure de son aire de répartition en plus haute altitude. Une réponse de ce type a déjà été montrée chez plusieurs espèces de lépidoptères dont les limites sud de leurs aires de répartitions respectives sont en retrait vers le nord (Parmesan et al., 1999). Cette quatrième hypothèse doit être testée dans le futur.

Ces trois hypothèses ont été testées par trois expérimentations réalisées soit in situ pour deux d'entre elles, dans deux vallées de la haute-Durance connues pour abriter des populations naturelles d'*A. isabellae*, soit en condition semi naturelle pour la troisième expérimentation réalisée dans une pépinière clonale du centre de recherche d'Orléans. Ces trois expérimentations seront présentées indépendamment et une discussion générale tentera de mettre en commun les différents résultats pour identifier l'impact que pourrait avoir l'arrivée de la processionnaire du pin sur le maintien de l'Isabelle de France dans son milieu.

III.2. Impact de la présence de chenilles de processionnaire du pin sur la colonisation des arbres par *Actias isabellae*

III.2.1. Introduction

Chez tous les insectes phytophages, le choix du site de ponte par la femelle est déterminant pour la survie de la progéniture. Les larves néonates, généralement très peu mobiles, ne peuvent chercher un nouvel hôte si celui sur lequel elles ont émergé ne convient pas à leur développement (Renwick & Chew, 1994). Ainsi, une femelle qui choisira un site de ponte engendrant de fortes mortalités larvaires ou un taux de croissance réduit aura moins de descendants que celle qui aura pondu sur un hôte convenable (Rausher, 1979).

Lors de la recherche du site d'oviposition, le choix de l'hôte est conditionné par plusieurs stimuli. Dans un premier temps, la recherche à longue distance peut se faire par le biais de la reconnaissance visuelle et/ou olfactive. La vision joue un rôle majeur dans la localisation d'une plante hôte chez de nombreux insectes. Ils peuvent être influencés par la couleur, comme chez le scolyte *Dendroctonus frontalis* Zimmermann (Strom et al., 1999), ou par la silhouette comme chez *Thaumetopoea pityocampa* (Démolin, 1969). De plus, l'aspect visuel d'un arbre peut rendre compte de son état de santé, ce qui peut jouer un rôle supplémentaire dans le choix de l'hôte pour certaines espèces. Outre l'aspect visuel, les composés volatils émis par les arbres vont aussi avoir un rôle majeur dans l'orientation des insectes phytophages et leur choix final pour la prise alimentaire et l'oviposition (Visser, 1986).

La présence des chenilles de processionnaire du pin sur leur hôte va affecter ce dernier de plusieurs manières. La première manifestation est d'ordre visuel, la processionnaire du pin est un insecte à développement hivernal et pour assurer leur survie, les chenilles grégaires tissent un nid dans lequel elles se regroupent. Ce nid, dont le diamètre peut dépasser la dizaine de centimètres, sera entretenu durant toute la durée de présence des chenilles dans l'arbre et subsistera plusieurs mois après la période de procession. Étant donné que plusieurs nids peuvent être simultanément présents dans un seul et même arbre, ceci peut grandement modifier son aspect visuel. Les chenilles de processionnaire du pin se nourrissent des aiguilles de leur hôte. Les défoliations provoquées par ces chenilles peuvent être extrêmement sévères si de nombreux nids sont présents sur l'arbre. Le taux de défoliation peut dans certains cas dépasser 90 % des aiguilles (Hodar et al., 2003) et donc, fortement altérer l'aspect visuel de

l'arbre. La défoliation peut engendrer également une réaction de défense de la part de l'arbre avec une modification des composés chimiques de ses tissus et/ou des composés chimiques qu'il émet (Haukioja, 1990; Mumm et al., 2003). Etant donné que les deux espèces ont des cycles décalés dans le temps, l'Isabelle de France arrivera dans un milieu déjà altéré par le développement des chenilles de processionnaire du pin et son développement devra se faire en fonction des modifications physico-chimiques provoquées par le ravageur sur leur hôte.

Le comportement de recherche de l'hôte et de ponte chez l'Isabelle de France n'a pas été étudié et ses préférences ne sont pas connues, ni les bornes climatiques de son développement. L'absence observée de l'Isabelle de France dans son habitat colonisé par la processionnaire du pin peut avoir plusieurs origines. Cela peut être dû à un déplacement de ses populations en altitude en réponse au changement climatique, ou comme nous l'avons testé dans cette expérimentation, à un changement dans le comportement d'oviposition des femelles qui éviteraient volontairement les arbres ayant été attaqués par la processionnaire du pin. Cette première expérimentation a pour vocation de tester l'effet d'une colonisation d'un arbre par la processionnaire du pin sur la présence, la saison suivante, de chenilles d'Isabelle de France sur le même arbre.

III.2.2. Matériel et méthodes

- **Zone d'étude**

Cette étude a été conduite in situ dans les Hautes-Alpes dans deux zones connues pour abriter le papillon *A. isabellae* et n'étant pas encore colonisées par la processionnaire du pin. La première zone d'étude se situe dans la vallée du Guil (06° 43' 25.0''E ; 44° 42' 21.8''N) à environ 1200m d'altitude. La seconde zone d'étude se situe dans la vallée du Fournel (06° 31' 21.4''E ; 44° 47' 27.6''N) à environ 1300m d'altitude (Fig. III.4).

- **Sélection des arbres**

Les chenilles d'*A. isabellae* sont extrêmement difficiles à observer in-situ, elles ne vivent pas sur les branches basses des pins et leur couleur leur permet de se fondre parfaitement sur leur hôte. Nous avons utilisé un système de pièges installés au sol, sous le houppier de pins sylvestre afin de recueillir les fèces des chenilles présentes dans les arbres.

Ces pièges étaient composés d'un carré de toile de fibre de verre grillagée enduite de 1m² fixés au sol dont les bords étaient retournés afin de capturer tout ce qui pouvait tomber du houppier du pin (Fig. III.5). Les fèces de chenilles d'*A. isabellae* sont facilement identifiables à partir du 3^{ème} stade larvaire et jusqu'à la fin du développement et ne peuvent être confondus avec aucune autre espèce se développant à cette époque dans les pins sylvestre (Fig. III.6).

En Juillet 2008, 30 pièges ont été installés par site sous 30 pins choisis de manière aléatoire dans le but d'identifier des arbres où étaient présentes des chenilles d'*A. isabellae*. Sur les 60 arbres évalués, 40 ont été conservés pour la suite de l'expérimentation, 24 sur le site de la vallée du Fournel parmi lesquels, six positifs pour la présence de chenilles d'*A. isabellae* et 18 négatifs, et 16 sur le site de la vallée du Guil parmi lesquels six arbres positifs pour la présence de chenilles d'*A. isabellae* et 10 arbres négatifs pour la présence de chenilles.

- **Greffage des nids de processionnaire du pin**

Fin Août 2008, des pré-nids abritant des chenilles processionnaire du pin de stade L1 ont été collectés aux alentours du village de St Crepin (06° 36' 05,4''E ; 44° 42' 13,0''N). Les colonies ont été dépouillées et des lots uniformes de 150 chenilles de stade L1 ont été constitués à partir de l'ensemble des chenilles collectées. Ces lots de 150 chenilles de processionnaire du pin ont immédiatement été greffés sur les 40 arbres sélectionnés pour l'expérimentation selon trois modalités : i) 14 arbres sans nids de processionnaires parmi lesquels quatre arbres positifs à Graellsia et 10 arbres négatifs à Graellsia, ii) 13 arbres avec un nid de processionnaire soit 150 chenilles parmi lesquels quatre arbres positifs à Graellsia et neuf arbres négatifs à Graellsia et iii) 13 arbres avec cinq nids de processionnaires soit 750 chenilles parmi lesquels quatre arbres positifs à Graellsia et neuf arbres négatifs à Graellsia. Le nombre de nids greffés dans les arbres correspond à divers degrés de stress. Plus le nombre de chenille est élevé, plus la défoliation sur les arbres et donc le stress qu'ils subiront sera fort. Ces nids ont été laissés durant tout le développement larvaire des chenilles de processionnaire du pin et retirés avant la période de nymphose. En effet, nous ne pouvions prendre le risque de laisser, dans ce milieu pas encore colonisé, se nymphoser les chenilles de processionnaire du pin. En avril 2009, les nids ont été retirés et les chenilles restantes ont été comptées. Nous n'avons donc pas pu étudier le facteur de la présence de nids dans les arbres dans cette étude.

- **Suivi de la présence d'*A. isabellae***

En Juin 2009 des pièges à fèces ont été de nouveau installés sous ces 40 arbres afin de contrôler la présence ou l'absence de chenilles d'Isabelle de France. Sous chaque arbre 3 pièges identiques à ceux de l'année précédente ont été fixés. Les relevés des pièges ont été effectués toutes les deux semaines jusqu'à fin Août, donc durant toute la durée de présence des chenilles dans la nature. À chaque relevé, le contenu des pièges a été rapporté au laboratoire et la présence ou l'absence de *A. isabellae* ont été confirmées par la présence de fèces.

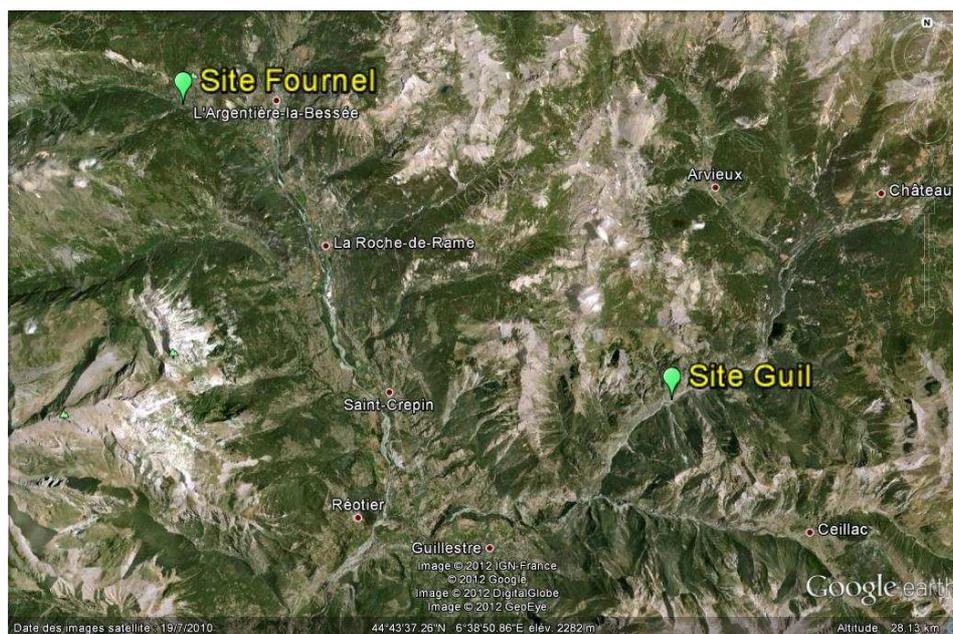


Figure III.4 : Position géographique des deux sites d'expérimentation



Figure III.5 : Exemple de piège à fèces



Figure III.6 : Fèces de chenille de *A. isabellae* de stade L5

- **Analyses statistiques**

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R en version 2.12.1 (R Development Core Team 2010). La relation entre la présence de processionnaire du pin et la présence de chenilles d'*A. isabellae* a été testée par un test de chi².

III.2.3. Résultats

- **Impact des conditions naturelles sur les chenilles de processionnaire du pin**

Que se soit dans les vallées du Fournel ou du Guil, la mortalité des chenilles de processionnaire du pin durant l'hiver 2008/2009 a été très élevée et donc l'impact de leur présence sur les arbres relativement faible. Le taux de survie moyen des chenilles placées dans le site du Fournel a été de 15,7% et de 5,9% dans le site du Guil.

- **Présence d'*A. isabellae* dans les arbres**

Dans la vallée du Fournel, sur les 24 arbres étudiés, les chenilles d'*A. isabellae* ont été retrouvées sur sept d'entre eux. Sur ces sept arbres positifs pour *A. isabellae*, trois n'ont pas reçu de nid de processionnaire du pin, deux ont reçu un nid de processionnaire du pin et deux ont reçu cinq nids de processionnaire du pin (Fig. III.7). Il n'y a pas de relation entre le nombre de nids de processionnaire greffés sur les arbres et la présence ultérieure de chenilles d'isabelle de France (χ^2 : X-squared = 0.4034, df = 2, p-value = 0.8174).

Dans la vallée du Guil, sur les 16 arbres étudiés, nous avons confirmé la présence de chenilles d'*A. isabellae* sur quatre d'entre eux. Un arbre n'avait reçu aucun nid de processionnaire du pin, un arbre avait reçu un nid de processionnaire du pin et deux arbres avaient reçu cinq nids de processionnaire du pin (Fig. III.8). Comme dans le site du Fournel, il n'y a pas de relation entre le nombre de nids de processionnaire présents sur les arbres et la présence ultérieure de chenilles d'Isabelle de France (χ^2 : X-squared = 0.8889, df = 2, p-value = 0.6412).

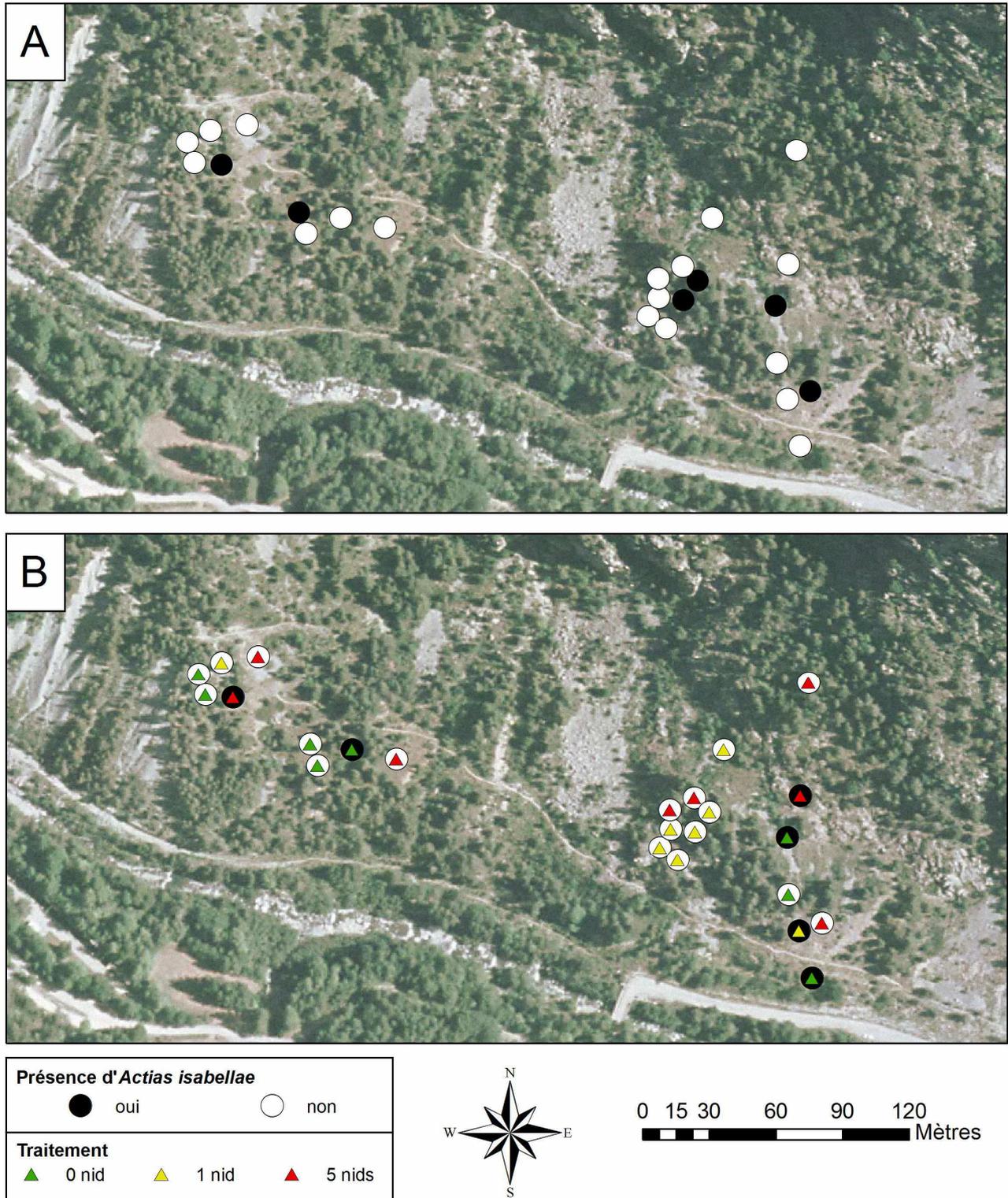
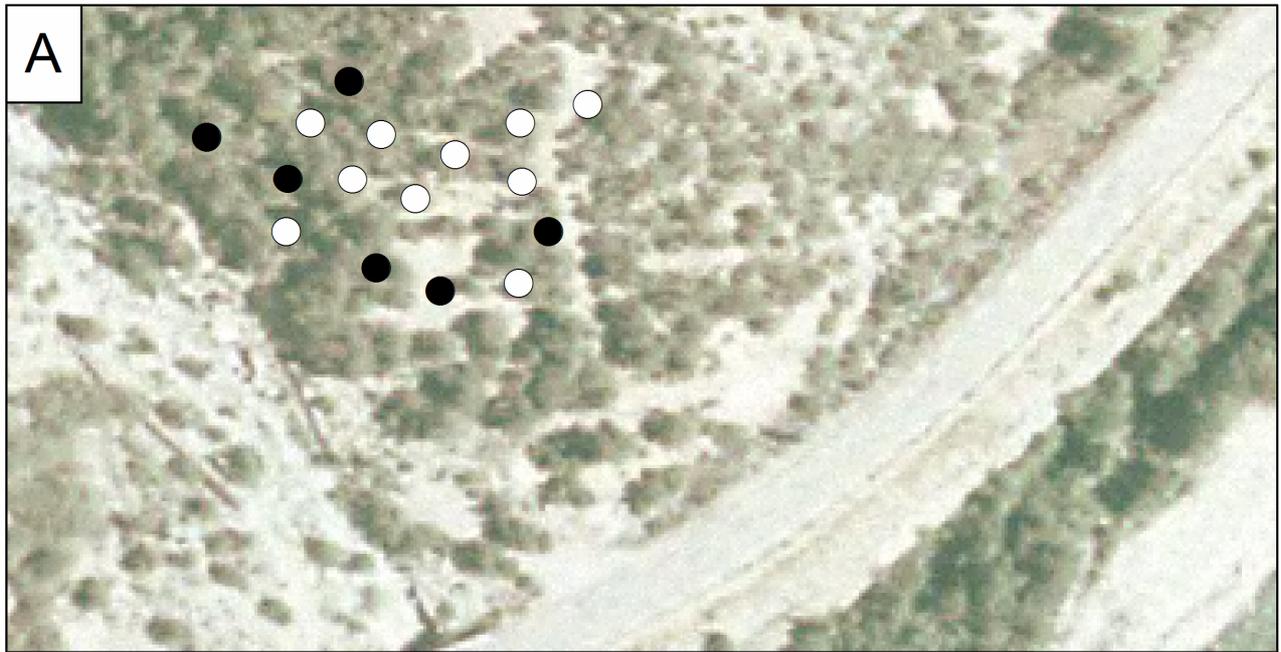


Figure III.7 : Cartographie des arbres étudiés dans le site de la vallée du Fournel. A : Présence ou absence de chenilles d'*A. isabellae* en 2008. B : Présence ou absence de chenilles d'*A. isabellae* en 2009 après le traitement.



Présence d'<i>Actias isabellae</i>	
● oui	○ non
Traitement	
▲ 0 nid	▲ 1 nid
▲ 5 nids	

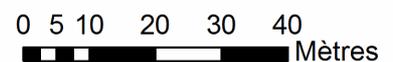
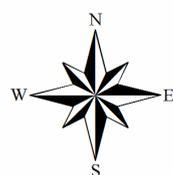


Figure III.8 : Cartographie des arbres étudiés dans le site de la vallée du Guil. A : Présence ou absence de chenilles d'*A. isabellae* en 2008. B : Présence ou absence de chenilles d'*A. isabellae* en 2009 après le traitement.

III.2.4. Discussion

Nous n'avons pas mis en évidence l'effet de la présence de chenilles de processionnaire du pin sur la présence ultérieure de chenilles de *A. isabellae*. Les femelles d'Isabelle de France semblent pondre indifféremment sur des pins sylvestre ayant été ou non colonisés par des chenilles de processionnaire du pin. Le comportement de ponte et du choix de l'hôte peut permettre d'identifier le type de dynamique des populations des insectes herbivores. Un comportement sélectif permet aux femelles de contrôler le nombre d'œufs pondus en fonction de l'état de la plante hôte et de la présence d'autres individus afin que les ressources ne soient pas surexploitées. D'un autre côté, une absence de sélectivité ne permet pas une connaissance rapide de l'interaction entre une ressource alimentaire détériorée et la natalité et peut traduire une dynamique éruptive des populations (Tammaru et al., 1995). Les femelles d'Isabelle de France pondent environ 90 œufs sur plusieurs jours (Chefaoui & Lobo, 2007) et les populations ne présentent pas de phases éruptives connues et ne provoquent pas de défoliations majeures sur leur hôte, ce qui va contre les arguments en faveur d'un comportement non sélectif de ponte. Cependant, en conditions d'élevage, il a été observé que les femelles pondent indifféremment sur n'importe quel support et/ou essence d'arbre, les femelles cherchent donc à pondre leurs œufs avant de mourir sans se soucier des stimuli physico-chimiques de leur support de ponte et de la possibilité de se nourrir pour leur progéniture. Ces faits quant à eux corroborent une non sélectivité du site de ponte.

Les fortes mortalités chez les chenilles de processionnaires du pin ont affecté l'intensité de leur impact sur les arbres. Le premier stade larvaire est le plus sensible chez les lépidoptères (Zalucki et al., 2002) et leur manipulation à plusieurs reprises pour constituer les lots de 150 chenilles pour l'expérimentation a pu engendrer une mortalité importante. Chez cette espèce, le nombre de chenilles présent dans le nid influence sa résistance aux conditions climatiques hivernales (Halperin, 1990; Perez-Contreras et al., 2003). Nous avons implanté des nids de processionnaire du pin dans un milieu où elle n'était pas encore présente pour des raisons de conditions climatiques défavorables à leur développement. Cette translocation dans un milieu qui leur est hostile, ajoutée à la probable mortalité due aux manipulations de jeunes larves peut expliquer les fortes mortalités que nos colonies ont subi.

La défoliation peut engendrer une réponse de défense de la part de l'arbre (Haukioja, 1990). Chez le pin sylvestre, des modifications physico-chimiques des aiguilles qui altèrent leur qualité pour les herbivores ont été rapportées suite à une défoliation (Honkanen et al.,

1999; Poykko et al., 2005; Smits & Larsson, 1999; Smits et al., 2001). Un comportement non sélectif du site de ponte pour l'Isabelle de France peut s'avérer dangereux en présence de la processionnaire du pin dans son milieu. Les chenilles néonates doivent se nourrir sur le support sur lequel elles ont émergé. Avec une forte densité d'arbres attaqués dans le milieu et un comportement de ponte non-sélectif, le risque de ponte sur un arbre dont la qualité des aiguilles a été altérée par une précédente défoliation par la processionnaire du pin peut affecter la survie et le développement des chenilles d'*A. isabellae*.

Dans cette expérimentation, nous n'avons pas mis en évidence d'incidence directe de la présence de la processionnaire du pin sur un arbre sur la présence la saison suivante, de chenilles d'Isabelle de France sur le même arbre. Notre étude s'est limitée à l'impact de la modification de l'aspect général de l'arbre suite à la défoliation, l'effet de la présence de nids de processionnaire du pin n'a pu être testé à cause du caractère réglementé du milieu dans lequel nous avons effectué nos expérimentations et devra faire l'objet d'études ultérieures. Cependant, bien que la colonisation de la processionnaire du pin ne semble pas affecter la présence de l'Isabelle de France dans son milieu sur du court terme, l'impact de la défoliation par *T. pityocampa* sur l'arbre hôte pourrait affecter la survie et le développement des chenilles qui se nourrissent sur ces pins et donc affecter le maintien des populations d'*A. isabellae* sur le long terme.

III.3. Impact de la défoliation par la processionnaire du pin sur la survie et le développement des chenilles d'*Actias isabellae*.

III.3.1. Introduction

La défoliation par un herbivore peut engendrer une réaction de défense de la part de la plante attaquée (Haukioja, 1990; Nykanen & Koricheva, 2004). Cette réaction peut se traduire par une diminution de la qualité de la nourriture pour le défoliateur (Smits & Larsson, 1999). Ce changement pourra engendrer une diminution de la population de l'herbivore en question. Cette modification des qualités nutritives du feuillage est appelée réponse induite et a été donnée plusieurs fois comme explication à l'arrêt des phases éruptives des insectes (Battisti, 1988; Hodar et al., 2004). Il a été montré que chez le pin sylvestre, une défoliation par la processionnaire du pin avait un impact sur la survie des chenilles qui se développaient l'année suivante sur ces mêmes pins (Hodar et al., 2004). La réponse induite d'un végétal n'est pas spécifique à son agresseur et les changements dans la qualité des aiguilles pourra toucher d'autres espèces s'en nourrissant.

Plusieurs études ont montré l'impact du réchauffement climatique sur le déplacement des limites d'aires de répartition des espèces (Hickling et al., 2006; Root et al., 2003) et plus particulièrement des lépidoptères (Parmesan et al., 1999; Poyry et al., 2009). De ce fait, de nouvelles espèces arrivent dans un milieu déjà occupé et peuvent se révéler être des prédateurs ou des compétiteurs d'espèces autochtones et perturber les écosystèmes dans lequel elles se sont introduites (Bando, 2006; Garcia-Serrana et al., 2007; Kenis et al., 2009; Walther et al., 2009).

L'expansion de l'aire de répartition de la processionnaire du pin en altitude l'a fait pénétrer dans le milieu de l'isabelle de France. Nous avons vu précédemment que depuis l'arrivée de la processionnaire du pin dans son milieu, il avait été observé une absence de l'Isabelle de France de milieu où elle était jusqu'alors présente. Les chenilles de processionnaire du pin et d'Isabelle de France ne sont pas présentes au même moment sur le pin et les défoliations engendrées par les chenilles de processionnaire du pin durant l'hiver peuvent avoir un effet sur les chenilles d'Isabelle de France présentes à partir du mois de Mai. L'étude précédente n'a pas montré d'effet des traces de défoliation infligé par les chenilles de processionnaire de pin sur la présence quelques mois après de chenilles d'Isabelle de France.

Une défoliation n'engendre pas qu'une modification morphologique de l'arbre, mais également une modification physiologique.

Dans la présente étude, nous avons testé l'hypothèse d'un impact d'une précédente défoliation du pin par des chenilles de *T. pityocampa* sur le développement et la survie des chenilles *A. isabellae*. Cette expérimentation a été réalisée en conditions semi naturelles dans une pépinière clonale de l'INRA d'Orléans. Travailler sur plusieurs individus d'un même clone permet de s'affranchir des variations entre les arbres. Quatre densités de nids ont été greffées sur 16 arbres au total pour générer quatre taux de défoliation. Le développement et la survie de 16 lots de dix chenilles d'Isabelle de France nourries à partir d'aiguilles des 16 arbres de l'étude ont été suivis quotidiennement.

III.3.2. Résultats et discussion

Les taux de défoliation estimés à la fin de l'hiver n'étaient pas en accord avec les densités de nids installés initialement sur les arbres. Pour une même densité de nids, les taux de défoliations étaient extrêmement variables entre chaque arbre. Nous avons alors regroupé les arbres en quatre classes de défoliation pour traiter nos données. Nous avons donc les arbres témoins qui n'ont pas été défoliés (0%), les arbres peu défoliés (5 à 25%), les arbres moyennement défoliés (25 à 50%) et les arbres très défoliés (>50%).

La survie des chenilles d'Isabelle de France n'a pas été affectée par la défoliation par les chenilles de processionnaire du pin quel que soit le degré de défoliation. Contrairement à nous, Hodar (2004) avait montré un impact de la défoliation sur la survie des chenilles de processionnaire du pin la saison suivante.

Nous avons montré par contre un effet de la défoliation sur la durée de développement des chenilles et sur leur poids final. Les chenilles ayant consommé des aiguilles provenant de pins ayant subi une défoliation ont un temps de développement plus long et un poids plus faible que les chenilles ayant consommé des aiguilles des arbres témoins.

Au final, les chenilles élevées sur des aiguilles de pins précédemment défoliés ont un taux de croissance relatif (RGR) plus faible que les chenilles élevées sur les aiguilles des pins témoins.

La défoliation provoque chez l'arbre des modifications physiques et physiologiques, c'est la réponse induite (Haukioja, 1990; Kaitaniemi et al., 1999). Chez le pin, il a été montré

que la défoliation par des herbivores provoquait une augmentation du niveau d'azote et une diminution du taux de fibres dans les jeunes aiguilles. Ces modifications sont connues pour améliorer la qualité nutritive des aiguilles, or elles ont un impact négatif sur les chenilles d'Isabelle de France.

Le RGR dépend de deux facteurs, le temps total de développement et le poids final. Dans notre cas les deux facteurs sont modifiés par la défoliation. Malgré un temps de développement plus long, les chenilles d'*A. isabellae* s'étant nourries d'aiguilles provenant d'arbres défoliés ont au final un poids significativement plus faible.

Le poids des chrysalides est connu pour être relié au potentiel physique des adultes et à leur fécondité (Honek, 1993; Wigglesworth, 1972). Dans notre expérimentation, les chrysalides d'*A. isabellae* femelles nourries sur des pins défoliés, comme celles des mâles, étaient moins lourdes. Ainsi la consommation d'aiguilles provenant d'arbres précédemment défoliés par la processionnaire du pin pourrait réduire à la fois le nombre d'œufs transportés par les femelles d'*A. isabellae* et les capacités de vol des mâles.

Une durée de développement plus importante peut aussi indirectement impacter la survie des chenilles. La théorie du "Slow growth, High mortality" stipule que plus le temps de présence d'un individu dans un milieu est élevé, plus il a de chance de subir l'attaque de prédateurs et/ou épisode climatique exceptionnellement défavorable (Benrey & Denno, 1997; Williams, 1999). Des chenilles d'*A. isabellae* se développant sur un pin précédemment défolié par la processionnaire du pin auraient une fenêtre de vulnérabilité plus importante et donc un taux de mortalité plus élevé diminuant le nombre de reproducteurs potentiels de la population.

Cette étude montre que la processionnaire du pin se révèle être un compétiteur de l'Isabelle de France au travers du partage de la ressource alimentaire. La défoliation des pins par le nouvel arrivant modifie ses qualités nutritives pour l'espèce autochtones, diminuant ainsi sa potentialité reproductive et pouvant, à long terme, avoir un impact sur ses populations.

Article 1 : Is the expansion of the pine processionary moth, due to global warming, impacting the endangered Spanish moon moth through an induced change in food quality?

Publication acceptée dans *Integrative Zoology*

Charles-Edouard IMBERT, Francis GOUSSARD and Alain ROQUES

Forest Ecology, INRA, Orleans, France

Correspondence: Alain Roques, INRA, UR633 Zoologie Forestière, 2163 avenue de la pomme de pin, CS 40001 Ardon, 45075 Orléans, cedex 2, France.

Email: alain.roques@orleans.inra.fr

Abstract

Recent climate change is known to affect the distribution of a number of insect species, resulting in a modification of their range boundaries. In the newly colonized areas, novel interactions are thus susceptible between expanding and endemic species sharing the same host. The pine processionary moth is a highly damaging pine defoliator, extending its range northwards and upwards in response to winter warming. Its expansion in the Alps has resulted in an invasion into the range of the Spanish moon moth, a red listed species developing on Scots pine. Pine processionary moth larvae develop during winter, preceding those of the moon moth, which hatch in late spring. Using pine trees planted in a clonal design, we experimentally tested the effect of previous winter defoliation by pine processionary moth larvae upon the survival and development of moon moth larvae. Feeding on foliage of heavily defoliated trees (>50%) resulted in a significant increase in the development time of moon moth larvae and a decrease in relative growth rate compared to feeding on foliage of undefoliated trees. Dry weight of pupae also decreased when larvae were fed with foliage of defoliated trees, and might, therefore, affect imago performances. However, lower defoliation degrees did not result in significant differences in larval performances compared to the control. Because a high degree of defoliation by pine processionary moth is to be expected during the colonization phase, its arrival in subalpine pine stands might affect the populations of the endangered moon moth.

Key words: *Actias isabellae*, climate change, competition, conservation, expansion, *Pinus*, *Thaumetopoea pityocampa*.

INTRODUCTION

Mean global temperature has increased by approximately 1 °C since the pre-industrial era in Europe, and most scenarios predict greater warming in the future (Vose *et al.* 2005; IPCC 2007; Moss *et al.* 2010). Insect herbivores, being generally poikilothermic, are highly sensitive to changes in their thermal environment. Increased temperatures have general direct effects on insect development time, overwintering survival, voltinism and diapause (Trenberth & Jones 2007). Because temperature thresholds often delimit 1 or more boundaries of a species' geographic range (Andrewartha & Birch 1984), warming up may result in a rapid shift of range boundaries as it has already been observed for a number of insect species as well for plants, fishes and other organisms (Parmesan 2006). Increasing temperatures may also allow alien species to colonize regions where they were previously not able to survive, subsequently affecting the structure and composition of communities as well as the functioning of ecosystems (Walther *et al.* 2009).

One of the best documented examples of the effect of climate warming on the release of thermal thresholds constraining species distribution is the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Schiffermüller, 1776) (Lepidoptera: Notodontidae), a major pine defoliator in southern Europe (Hódar *et al.* 2003). Populations of this winter-developing insect of Mediterranean origin are expanding towards higher latitudes and altitudes in southern and western Europe (Battisti *et al.* 2005; Robinet *et al.* 2011). The *T. pityocampa* potential distribution area is delimited by several winter temperatures thresholds (Huchon & Demolin 1971; Battisti *et al.* 2005; Buffo *et al.* 2007). In the Paris Basin, until the mid-1990s climatic models based on these thresholds revealed the occurrence of a highly unfavorable area, which constituted a barrier to *T. pityocampa* latitudinal expansion. With the warming observed in the area since 1996, the moth is no longer limited by unfavorable larval feeding conditions and it has successfully crossed this area, expanding its range northwards by 5.6 km per year (Robinet *et al.* 2007). Similarly, *T. pityocampa* mean upper distribution in the Italian Alps advanced from an elevation of 1150 m in 1975 to 1380 m in 2004, equivalent to 70.1 m per decade (Battisti *et al.* 2006).

Thus, *T. pityocampa* is entering new bioclimatic and bio-ecological areas where it might affect the resident fauna through, for example, novel competitive interactions for pine resources, indirect effects on host quality, indirect cascading effects through shared parasitoids and virus/disease transmission. Such effects are poorly known in expanding

insects and are little documented as invasive species (Kenis *et al.* 2009). Some invasive species can displace or threaten native species through competition for the same resources. A European weevil, *Rhinocyllus conicus* Frölich, 1792, introduced to North America as a biological control agent for invasive Eurasian *Carduus* thistles, has colonized at least one-third of the native species in another plant genus, *Cirsium*, resulting in a significant decrease in the density of a native tephritid fly, *Paracantha culta* (Wiedemann, 1830), within the flowerheads (Louda *et al.* 1997; Louda 2000). *Pineus boermeri* Annand, 1928, an Asian adelgid accidentally introduced to North America, has been shown to displace a native congeneric species, *P. coloradensis* (Gillette, 1907), probably through a change in the foliage quality of the host, red pine (*Pinus resinosa* Aiton, 1789), which turned out to be more suitable to the invasive species than for the native species (McClure 1984).

Since the early 2000s, *T. pityocampa* has entered the sub-alpine mountainous climatic level in the French Alps, colonizing stands of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) located at an elevation of 1200–1400 m (F. Goussard, unpubl. data). The moth thus penetrated the natural range of the endangered Spanish moon moth, *Actias* (= *Graellsia*) *isabellae* (Graells, 1849) (Lepidoptera: Saturniidae), which, in France, is restricted to a few upper valleys of the Southern Alps (Goussard & Roques 2007). This beautiful moth, the Isabel moth, is protected by the *Habitats' Directive and the Bern Convention* (revised by Procter & Harding 2005), and included in the French and Spanish official red lists of endangered fauna (Vilà *et al.* 2009). *A. isabellae* also develops on Scots pine. There is 1 generation per year; the adults emerge and mate in May–June. Its solitary larvae feed on mature needles produced during the previous years and they do not consume the needles of the current year (Goussard & Roques 2007). The larvae pass through 5 larval stages until August to finally pupate in the ground where they overwinter (Chefaoui & Lobo 2007). *A. isabellae* populations usually remain at low density and do not inflict any serious defoliation (Goussard & Roques 2007). In contrast, *T. pityocampa* gregarious larvae have been known to cause severe defoliation on Scots pines (Hódar & Zamora 2004). In the Alps, *T. pityocampa* feed on pine foliage from August on throughout winter and leave the colonized pines by March–April to pupate in the ground (Huchon & Démolin 1971). Thus, the flight and egg-laying period of *A. isabellae* directly follows the departure of *T. pityocampa* larvae, which leave host pines partially defoliated and with large white nests. Since 2007, such processionary nests have frequently been observed on pine trees known to regularly host larvae of *A. isabellae* in the lower part of its range (F. Goussard, unpubl. data).

Therefore, one of the major effects of *T. pityocampa* expansion in new areas of the Alps may be the induced changes in host foliage chemistry, which can affect the larval feeding of *A. isabellae* because both larvae are exploiting pine foliage. Hódar *et al.* (2004) suggest a direct relationship between the survival of *T. pityocampa* larvae on a pine tree in a given year and its defoliation by *T. pityocampa* the years before: the more defoliation, the lower the larval survival. Indeed, pine trees generally compensate for defoliation by producing new foliage to restore resources for photosynthesis, but these renewed plant tissues usually show modifications in primary or secondary compounds (Poykko *et al.* 2005). Hódar *et al.* (2004) thus observe that the needles of defoliated pines present higher nitrogen levels and a lower content in fibers, tannins and phenolics than those of undefoliated pines, but they consider it difficult to identify the substances causing the detrimental effects in herbivores. Similarly, Battisti (1988) shows that a complete tree defoliation by *T. pityocampa* significantly modifies the physico-chemical characteristics of the subsequent needles in Austrian pines (*Pinus nigra*), therefore negatively affecting survival and development of the next generation of larvae feeding on the branches that had been previously defoliated. Increased death among the newly-hatched larvae feeding on trees previously defoliated might be an important driver of herbivore populations (Zalucki *et al.* 2002), and more especially the main cause of the collapse following the eruptive phase in several outbreaks of forest insects (Haukioja 1990; Hódar *et al.* 2004).

Therefore, our objectives were to investigate, through a manipulative experiment, how the degree of *T. pityocampa* defoliation undergone by Scots pines might later affect the survival and development of Spanish moon moth larvae. Because the red list status of the Spanish moon moth prevented any experiments in natural alpine conditions, the tests had to be carried out *ex situ* in a clonal nursery using larvae of *A. isabellae* obtained from a long-term laboratory culture.

MATERIALS AND METHODS

Rearing of *Actias isabellae*

Actias isabellae larvae were obtained from a laboratory culture kept at INRA Orleans since 1990, with permission from the French Ministry of Environment. To limit consanguinity problems, every spring, the emerging females are allowed to mate with wild males in a natural park of the French native range (Queyras, France), from where the culture was originally

initiated (Collectif O.P.I.E 1998). Almost 350 larvae were obtained from such matings, from 14 to 25 May 2010, and began to hatch on 7 June 2010. Because this long-term culture is the only one existing in France, an important proportion of the larvae were preserved to maintain the strain. These constraints limited the number of available larvae to 260, which were used immediately after hatching.

Experimental manipulation of tree defoliation by processionary moth larvae

The experiment was carried out in a clonal plantation of Scots pines established in 1989 at INRA Orleans (01°54'43.2''E; 47°49'57.1''N) using grafts originating from Haguenau Forest, Eastern France. The clonal effect on larval development of both *T. pityocampa* and *A. isabellae* had already been assessed, revealing that clone 872 was the most suitable for the development of *A. isabellae* (Auger-Rozenberg *et al.* 1996; Barre *et al.* 2003). To minimize a possible confounding effect of tree genotype, we decided to use only ramets from this clone. Because we could test only 260 larvae of the red listed Spanish moon moth, we fixed 16 as the number of ramets to be used (i.e. 10 larvae per ramet). The ramets were randomly selected within the plantation. They were 20 years old and approximately 12 m high. In September 2009, they were checked for the absence of wild *T. pityocampa* nests. Then, on October 2009 each ramet was manually implanted with *T. pityocampa* nests. Preliminary experiments carried out the year before had shown that the presence of at least 16 nests per tree were necessary to obtain a high degree of defoliation (>50%) on trees of such height. Thus, we defined the 4 following treatments corresponding to an increasing density of *T. pityocampa* nests: (i) control, no *T. pityocampa* nest; (ii) 4 *T. pityocampa* nests per tree; (iii) 8 *T. pityocampa* nests per tree; and (iv) 16 *T. pityocampa* nests per tree. We used 4 replicates per treatment, the nests being planted at random. These nests were obtained from Scots pine stands nearby the plantation and the corresponding *T. pityocampa* colonies were of roughly equal size (approximately 250 larvae), confirmed at the end of the experiment. The larvae were allowed to feed on the trees throughout the winter of 2009–2010. Larvae as well as nests were removed by late February, just before the mature larvae were expected to leave the tree to pupate in the ground. The resulting defoliation was visually estimated using 5% intervals. The trees were then each assigned to 4 degrees of defoliation: (i) no defoliation (C); (ii) little defoliation (5–25% defoliation; LD); (iii) medium defoliation (25–50% defoliation; MD); and (iv) high defoliation (>50% defoliation; HD).

Survival and performances of Spanish moon moth larvae according to previous pine defoliation by processionary moths

Immediately after hatching, the first instar larvae of *A. isabellae* were individually placed in a plastic box (15.0 × 10.5 × 5.0 cm) containing fresh pine needles obtained from ramets corresponding to the different treatments. A total of 10 *A. isabellae* larvae were randomly assigned to each ramet (i.e. a total of 40 larvae per treatment). Two 10 cm long twigs bearing mature needles were introduced per box immediately after being cut off of the assigned tree. The twigs were cut from parts of the trees that had not been damaged by processionary larvae. They were changed every 3 days so that the larvae would always have access to fresh food and to avoid any bias due to starvation. The survival and the development stage of each larval were checked every day until pupation to assess the development time of each larval instar and the total development time of larvae. For each larval instar, the survival rate was calculated as the proportion of larvae that successfully molted to the next instar. The overall survival rate was calculated as the proportion of initial larvae that successfully reached the pupal stage. Finally, the pupae were dried for 1 week in a desiccator at 60 °C before measuring their dry weight to be used for both the calculation of the relative growth rate and as a proxy for the estimation of female fecundity.

The following variables were used to test *A. isabellae* response to previous defoliation by *T. pityocampa*: (i) survival rate of each larval instar; (ii) development time of each larval instar; (iii) total larval development time; (iv) pupal dry weight of both males and females; and (v) relative growth rate (RGR). RGR was calculated using the formula of Ossipov *et al.* (2001): $RGR = (\ln W2 - \ln W1)/t$, where W1 is the dry weight of neonate larva, W2 is the dry weight of the pupa and t is the development time of the larva from first instar to pupation. Therefore, it corresponded to the per day body weight gain of the larvae (Scriber & Slansky 1981; Hoffmann & Poorter 2002). Because it was not possible to sacrifice the first instar larvae to be used in the rearing experiment, the mean dry weight of 100 neonate larvae randomly selected in the rearing was used as a proxy. These larvae were dried for 1 week in desiccators at 60 °C before being weighed.

Statistical analyses

R software (R Development Core Team 2010) was used to compute and analyze the data. Overall survival rates were compared using Fisher's exact tests (FET) on 2 × 2 contingency tables. The relation between degree of tree defoliation and development time was

tested for each instar and for total development using simple linear regression. Similar tests were applied to analyze the relation between RGR and the degree of tree defoliation. Multiple mean comparison tests were used to compare total development time, pupal dry weight and RGR for the 4 degrees of defoliation. Because these values did not follow a normal distribution (Kolmogorov–Smirnov test), a non-parametric Kruskal–Wallis test (KWt) followed by multiple pairwise Mann–Whitney tests (MWt) were used to compare defoliation degrees. We adjusted α values according to Bonferroni’s correction ($\alpha_B = 0.05/N$) for the number of multiple tests (N) used in each case.

RESULTS

Realized defoliation of pine trees by processionary larvae

A low correlation was observed between the density of nests of *T. pityocampa* on the tree and the resulting degree of defoliation, which was much less than initially expected for some trees implanted with 8 and 16 nests (Table 1). Unequal values were thus obtained for each of the 4 pre-defined degrees of defoliation: 4 trees in C group (no defoliation); 6 trees in LD group (5–25%); 4 trees in MD group (25–50%); and 2 trees in HD group (>50%) These unexpected results appeared to be due to the harsh weather conditions observed during the winter 2009–2010, which induced large larval mortality in *T. pityocampa* colonies (Robinet *et al.* 2011). Therefore, we used the defoliation degree, instead of nest density, to look at larval performances.

Survival of *Actias isabellae* according to the degree of tree defoliation

A total of 132 larvae successfully reached the pupal stage. The survival rates of the larvae raised on control trees, and trees with little, medium and high degrees of defoliation were 75.6, 69.7, 79.4 and 78.3%, respectively. We found no significant differences in the survival of *A. isabellae* larvae, from hatching to pupa, between controls and trees with *T. pityocampa* damage, whatever the defoliation degree (FET: α_B (6 tests) = 0.008; C vs LD: $P = 0.536$; C vs MD: $P = 0.790$; C vs HD: $P = 1.000$; LD vs MD: $P = 0.358$; LD vs HD: $P = 0.598$; MD vs HD: $P = 1.000$)

Development time of *Actias isabellae* according to the degree of tree defoliation

When each larva was considered separately, the total larval development time slightly - but significantly - increased with the degree of previous tree defoliation by *T. pityocampa* ($R^2 = 0.045$, $F_{1,130} = 6.173$, $P = 0.014$) (Fig. 1a). When the larvae were grouped per degree of tree defoliation, the total larval development time was significantly different between defoliation degrees (KWt [C-LD-MD-HD]: $H = 12.621$, $df = 3$, $P = 0.005$) (Fig. 2). Development was significantly longer when the larvae were fed with foliage from trees heavily defoliated by *T. pityocampa* (MWt: αB 6 tests = 0.008; C vs HD: $W = 170.5$, $P = 0.007$; LD vs HD: $W = 260$, $P = 0.003$; MD vs HD: $W = 120.5$, $P = 0.004$). However, a defoliation lower than 50% did not result in a significant increase in larval development time when compared to that observed in larvae fed with foliage of trees which have not been defoliated (MWt αB 6 tests = 0.008; C vs LD: $W = 842$, $P = 0.603$; C vs MD: $W = 535$, $P = 0.268$; LD vs MD: $W = 886$, $P = 0.079$).

Pupa weight of *Actias isabellae* according to the degree of tree defoliation

Dry weight of moon moth pupae significantly differed among the defoliation degrees (KWt C-LD-MD-HD; $H = 21.039$, $df = 3$, $P = 0.000$) (Fig. 3). The pupae developing from larvae fed with foliage of undefoliated trees were heavier than these obtained from rearings with the foliage of defoliated trees whatever the defoliation degree (MWt αB 6 tests = 0.008; C vs LD: $W = 1064$, $P = 0.006$; C vs MD: $W = 883$, $P = 0.000$; C vs HD: $W = 496.5$, $P = 0.000$). No significant differences in weight were observed between the pupae developing from foliage of trees with little, medium and high degrees of defoliation (MWt αB - 6 tests = 0.008; LD vs MD: $W = 958$, $P = 0.088$; LD vs HD: $W = 552.5$, $P = 0.039$; MD vs HD: $W = 322.5$, $P = 0.758$).

When each sex was considered separately, female pupae developing from larvae fed with foliage of undefoliated trees were significantly heavier than those obtained from larvae fed with foliage of trees with medium degrees of defoliation (MWt αB 6 tests = 0.008; C vs MD: $W = 298$, $P = 0.000$). No differences were observed between the other degrees of tree defoliation (MWt αB 6 tests = 0.008; $P > 0.008$). A similar pattern was observed in males. The pupae obtained from rearings with foliage of medium-defoliated trees were significantly lighter than those fed with foliage of undefoliated trees (MWt αB 6 tests = 0.008; C vs MD: $W = 183$, $P = 0.007$), but no differences were observed between the other degrees of tree defoliation (MWt αB 6 tests = 0.008; $P > 0.008$).

Relative growth rate of *Actias isabellae* according to the degree of tree defoliation

The neonate larvae of *A. isabellae* weighted 0.894 mg on average. When each larva was considered separately, RGR appeared to decrease with the degree of previous defoliation by *T. pityocampa* ($R^2 = 0.105$, $F_{1,130} = 15.26$, $P = 0.000$) (Fig. 1b). When the larvae were grouped per degree of tree defoliation, RGR significantly differed among defoliation degrees (KWt C-LD-MD-HD; $H = 21.055$, $df = 3$, $P = 0.000$) (Fig. 4). RGR was significantly higher in larvae that were fed with foliage of undefoliated trees than in larvae fed with foliage of defoliated trees, whatever the defoliation degree (MWt αB 6 tests = 0.008; C vs LD: $W = 1219$, $P = 0.006$; C vs MD: $W = 733$, $P = 0.000$; C vs HD: $W = 507$, $P = 0.000$). However, the other degrees of tree defoliation did not differ significantly from each other (MWt αB [6 tests] = 0.008; LD–MD: $W = 947$, $P = 0.019$; LD–HD: $W = 656$, $P = 0.018$; MD–HD: $W = 238$, $P = 0.918$).

DISCUSSION

We experimentally showed that a previous severe defoliation of Scots pine trees by *T. pityocampa* could increase the development time and decrease the relative growth rate of the larvae of *A. isabellae* fed with needles of such trees. The more the trees were defoliated, the slower the larval development was. Previous defoliation also negatively affected the weight of the pupae of *A. isabellae*. However, the protected status of this insect strongly restricted the size of the manipulative tests allowed to be carried out, and, therefore, these results have to be interpreted with caution.

By contrast, the survival of Spanish moon moth larvae did not seem to be affected by a previous defoliation of the host pines, contrasting with *T. pityocampa* larvae which were proved to be negatively affected by defoliation of host trees (Battisti 1988; Hódar *et al.* 2004). The Scots pine clone 872 used in this experiment was already tested for acceptance and larval performances of several pine defoliators (Auger *et al.* 1990; Auger-Rozenberg *et al.* 1996). Barre *et al.* (2003) estimated a 75% survival rate, from hatching to pupae, in *A. isabellae* reared on this clone. These results were quite similar to those obtained in this present study, no matter the degree of previous defoliation by *T. pityocampa*.

How to explain the significant differences observed in the development time, pupa weight and larval RGR of *A. isabellae* for various defoliation rates? Food quality is a key factor for

the growth of immature stages of insects (Scriber & Slansky 1981; Amalraj *et al.* 2005). Tree defoliation by herbivores can radically modify the chemical properties of foliage (Haukioja 1990). For example, defoliation by larch budmoth, *Zeiraphera griseana* (Hübner, 1799), was shown to induce a strong delayed effect on larch foliage. Larch trees that were defoliated to more than 50% were depleted of nutrient reserves in the spring following defoliation and grew shorter needles with an increasing raw fiber content that might reach approximately 18% (Baltensweiler & Fischlin 1988). Simultaneously, protein concentration decreased for several years (Asshoff & Hattenschwiler 2006). This decrease in tree foliage quality for the larch budmoth resulted in heavy larval and pupal mortality, reduced weight of pupae and adults, and reduced fecundity (Baltensweiler *et al.* 1977).

Regarding pines, several studies showed a delayed influence of defoliation upon the chemical content of needles. Nitrogen level was significantly higher in needles of pines previously defoliated by *T. pityocampa* (Hódar *et al.* 2004) or other defoliators (Smits & Larsson 1999; Nykänen & Koricheva 2004). Hódar *et al.* (2004) also showed a parallel connection between a lower fiber level in the needles of pines defoliated by *T. pityocampa* and phenolics, the latter being also known to be digestion inhibitors (Waterman & Mole 1994). Such data could suggest that the foliage of defoliated pine trees is of better quality for larval feeding (Mattson 1980; McMillin & Wagner 1997; Hódar *et al.* 2002). However, *A. isabellae* larvae fed with the foliage of pines defoliated by *T. pityocampa* presented a significantly lower RGR than those fed with the foliage of undefoliated trees. Hódar *et al.* (2004) also noticed that the most abundant terpenes of Scots pine foliage in Sierra Nevada Mountains had lower concentrations in trees previously defoliated by *T. pityocampa*. In contrast, β -pinene increased in pines defoliated the year before but not in those defoliated 2 years before or having faced 2 consecutive defoliations. They concluded that terpenes might be more constitutive than inducible in Scots pine. The foliage of Scots pine from the Hagueneau stand, from which clone 872 originated, was also observed to present a particular terpenic composition with high levels in β -pinene and low levels in Δ^3 -carene. However, Barre (2003) did not find any relationship between foliage monoterpene profiles and larva development and survival in *A. isabellae*. As pointed out by Hódar *et al.* (2004), a lack of agreement between the chemical profile of a plant and the response of the insects feeding on that plant is common. Indeed, the effect on the herbivore is “the sum of the plant’s responses plus the herbivore’s response to the plant’s responses” (Karban & Baldwin 1997), and in any case, the integrated response of the insect is to be inferred from the feeding experiments.

More importantly, the relationships between defoliation by processionary moths and change in food quality for the Spanish moon moth appeared somewhat different from the cases detailed above because *A. isabellae* larvae only feed on mature needles and reject juvenile foliage. Winter defoliation by *T. pityocampa* is known to directly affect the quality of the juvenile foliage to be produced the following spring (Battisti 1988). However, the effects on the different cohorts of mature needles are not well documented for Scots pines. Simulating defoliation by pine sawflies, Roitto *et al.* (2003) showed an increased activity of a defense compound, guaiacol peroxidase, in mature needles left on branches of 2 m tall Scots pine trees. In ponderosa pine (*Pinus ponderosa*), Wagner and Evans (1985) also noticed that the number of phenolic compounds quickly doubled in mature foliage of seedlings, only 8 weeks following a manual defoliation. In contrast, Watt *et al.* (1991) observed that the nitrogen and tannin content of mature needles in lodgepole pine (*Pinus contorta*) in Scotland was not significantly affected by severe defoliation in the previous autumn due to the pine beauty moth, *Panolis flammea* Schiffermüller 1776 (Lepidoptera: Noctuidae). Thus, more research is necessary to precisely assess the changes induced by winter defoliation due to *T. pityocampa* on the chemical content of the mature needles left untouched on the tree.

Pupa weight is considered to be correlated with adult performances and reproductive potential by influencing flight capabilities of males and the mating process (Wigglesworth 1972) as well as female fecundity. *A. isabellae* does not feed during the adult stage and, therefore, the resources to be used during this stage for reproduction have to be obtained during the larval stage (Heisswolf *et al.* 2009). In females, egg mass is a part of the adult body and so is related to female size. In a number of species, smaller females are likely to present a smaller number of eggs and, therefore, reduced fecundity (Honek 1993; Pimentel *et al.* 2011). Defoliation was already shown to negatively influence the reproductive potential. Thus, Benz (1974) observed that pupae of larch budmoth found on heavily defoliated larch trees were significantly lighter than those found on partially defoliated larches, and that female fecundity correlatively dropped from an average number of 130 eggs per female fed on undefoliated larch to an average of 20 eggs per female in a defoliated larch forest. *A. isabellae* pupae developing from larvae fed with the foliage of trees defoliated by *T. pityocampa* showed a reduced weight, in addition to a longer larval development time. In a few lepidopterans, low growth rate can be fully compensated by an increased development time to reach the same adult size and fecundity as individuals showing higher growth rates (Lederhouse *et al.* 1992). However, Pimentel *et al.* (2011) observed that the compensation for low growth rates via a

prolonged larval period was incomplete for *T. pityocampa* larvae developing in Portugal during cloudy winters and subsequent low larval temperatures. Their final mass was still lower despite the increased development time, similarly in *A. isabellae* which were fed on the foliage of partly defoliated pines. This behavior of pupating at a small size, rather than extending the duration of development, might occur to decrease exposure time to natural enemies (Benrey & Denno 1997). Van Asch & Visser (2007) also hypothesized that environmental factors, such as an increase in CO₂ levels and the resulting decrease in leaf nitrogen content, might favor herbivore genotypes that limit the development time.

However, when the pupae were screened for sex, the only significant difference in weight observed in both males and females was between the pupae developing from larvae fed with foliage of undefoliated pines and those developing from larvae fed with foliage of trees defoliated at 25–50%, which were lighter. Pupae developing from rearings on foliage of heavily defoliated trees did not differ in weight from both groups. It remained difficult to explain this by reasons other than the size of the test being too small, with a limited number of trees in each defoliation group.

The current penetration of *T. pityocampa* into the natural range of *A. isabellae* might affect this protected moth in ways other than a simple change in needle chemical content. A possible indirect effect of *T. pityocampa* defoliation might be a larger vulnerability of *A. isabellae* larvae to natural enemies through the increase in development time. The ‘slow-growth, high-mortality’ hypothesis (Williams 1999; Cornelissen & Stiling 2006) considers that herbivores feeding on plants with low nutritional quality are likely to increase their development time, and so the window of vulnerability to natural enemies attack is enlarged (Cornelissen & Stiling 2006). The natural enemies of *A. isabellae*, especially those attacking the larval stages, are quite unknown, but tachinid and ichneumonid larval parasitoids were observed on other saturniid species (Boettner *et al.* 2000). Predation of larvae by birds or other insects can also occur. The natural enemies of *T. pityocampa* are likely to accompany its expansion, even if their rate of expansion is lower than that of the moth (Robinet *et al.* 2011). There is a risk that the generalist parasitoids of *T. pityocampa* switch on other species, especially lepidopterans, in the newly colonized areas such as Kenis *et al.* (2009) hypothesized for the invasive horse-chestnut leafminer, *Cameraria orchidella* Deschka & Dimic, 1986, and its parasitoid complex (‘apparent competition’ phenomena). In the Alps, *T. pityocampa* has 4 species of egg parasitoids, of which 3 are generalists, and several species of

larval parasitoids (Biliotti 1958). The risk of apparent competition that can bring new natural enemies for *A. isabellae* must be tested in the future.

In conclusion, these results suggest that the invasion by *T. pityocampa* of the natural Alpine range of *A. isabellae* might constitute a threat for the latter species in the future because large *T. pityocampa* outbreaks are to be expected during the initial phase of colonization (Klapwijk *et al.* 2012).

ACKNOWLEDGMENTS

We greatly acknowledge support from the URTICLIM project *Anticipation des effets du changement climatique sur l'impact écologique et sanitaire d'insectes forestiers urticants* of the French Agence Nationale de la Recherche (ANR 07BDIV 013). We gratefully thank the French Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable for the authorization to work with the protected moth *Actias isabellae*. The authors are also indebted to Joël Giraud and the local authorities of L'Argentière-la-Bessée (05), to Agnès Vivat and the NATURA 2000 staff of the Vallon du Fournel-Les Bans, to the technicians of the National Forestry Office (ONF) of Briançon and L'Argentière-la-Bessée, and to the Parc Régional du Queyras for their support during the field work. We thank Jacques Garcia and Patrick Pineau for their field assistance and insect rearing.

REFERENCES

- Amalraj DD, Sivagnaname N, Das PK (2005). Effect of food on immature development, consumption rate, and relative growth rate of *Toxorhynchites splendens* (Diptera : Culicidae), a predator of container breeding mosquitoes. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* **100**, 893–902.
- Andrewartha HG, Birch C (1984). *The Ecological Web: More on the Distribution and Abundance of Animals*. University of Chicago Press, Chicago.
- Asshoff R, Hattenschwiler S (2006). Changes in needle quality and larch bud moth performance in response to CO₂ enrichment and defoliation of treeline larches. *Ecological Entomology* **31**, 84–90.

- Auger MA, Geri C, Jay-Allemand C, Bastien C (1990). Comestibilité de différents clones de pin sylvestre pour *Diprion pini* L. (Hym., Diprionidae). *Journal of Applied Entomology* **110**, 489–500.
- Auger-Rozenberg MA, Géri C, Quencez C, Bastien C (1996). Noxious effect of Scots pine foliage for *Diprion pini* L (Hym, Diprionidae) and other defoliators. Specificity and prospects for use in forest management. Proceedings of the International IUFRO Scientific Symposium on Population Dynamics, Impacts, and Integrated Management of Forest Defoliating Insects; 18–23 Aug 1996, Banská Štiavnica, Slovakia. USDA Forest Service Northeastern Research Station, General Technical Report NE-247.
- Baltensweiler W, Benz G, Bovey P, Delucchi V (1977). Dynamics of larch bud moth populations. *Annual Review of Entomology* **22**, 79–100.
- Baltensweiler W, Fischlin A (1988). The larch bud moth in the Alps. In: Berryman AA, ed. *Dynamics of Forest Insect Populations: Patterns, Causes, Implications*. Plenum Press, New York and London, pp. 331–51.
- Barre F, Goussard F, Geri C (2003). Variation in the suitability of *Pinus sylvestris* to feeding by two defoliators, *Diprion pini* (Hym., Diprionidae) and *Graellsia isabellae galliaegloria* (Lep., Attacidae). *Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie* **127**, 249–57.
- Battisti A (1988). Host–plant relationships and population-dynamics of the pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* (Denis and Schiffermuller). *Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie* **105**, 393–402.
- Battisti A, Stastny M, Buffo E, Larsson S (2006). A rapid altitudinal range expansion in the pine processionary moth produced by the 2003 climatic anomaly. *Global Change Biology* **12**, 662–71.
- Battisti A, Stastny M, Netherer S *et al.* (2005). Expansion of geographic range in the pine processionary moth caused by increased winter temperatures. *Ecological Applications* **15**, 2084–96.
- Benrey B, Denno RF (1997). The slow-growth-high-mortality hypothesis: A test using the cabbage butterfly. *Ecology* **78**, 987–99.
- Benz G (1974). Negative Rückkoppelung durch Raum-und Nahrungskonkurrenz sowie zyklische Veränderung der Nahrungsgrundlage als Regelprinzip in der Populationsdynamik des Grauen Larchenwicklers, *Zeiraphera diniana* (Guenee). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* **76**, 196–228.

- Biliotti E (1958). Les parasites et prédateurs de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera). *Entomophaga* **3**, 23–34.
- Boettner GH, Elkinton JS, Boettner CJ (2000). Effects of a biological control introduction on three nontarget native species of saturniid moths. *Conservation Biology* **14**, 1798–806.
- Buffo E, Battisti A, Stastny M, Larsson S (2007). Temperature as a predictor of survival of the pine processionary moth in the Italian Alps. *Agricultural and Forest Entomology* **9**, 65–72.
- Chefaoui RM, Lobo JM (2007). Assessing the conservation status of an Iberian moth using pseudo-absences. *Journal of Wildlife Management* **71**, 2507–16.
- Collectif O.P.I.E (1998). Contribution à la connaissance de *Graellsia isabellae galliaegloria* Oberthur (Lépidoptère, Attacidae), connu uniquement en France. *Rapport d'étude de l'OPIE* **3**, 1–36.
- Cornelissen T, Stiling A (2006). Does low nutritional quality act as a plant defence? An experimental test of the slow-growth, high-mortality hypothesis. *Ecological Entomology* **31**, 32–40.
- Goussard F, Roques A (2007). Définition d'indicateurs de suivi des populations d'Isabelle de France *Graellsia isabellae galliaegloria* (Oberthür, 1922). *Revue Scientifique Bourgogne Nature* **5**, 109–12.
- Haukioja E (1990). Induction of defenses in trees. *Annual Review of Entomology* **36**, 25–42.
- Heisswolf A, Klemola T, Andersson T, Ruohomaki K (2009). Shifting body weight-fecundity relationship in a capital breeder: Maternal effects on egg numbers of the autumnal moth under field conditions. *Bulletin of Entomological Research* **99**, 73–81.
- Hódar JA, Zamora R (2004). Herbivory and climatic warming: A Mediterranean outbreaking caterpillar attacks a relict, boreal pine species. *Biodiversity and Conservation* **13**, 493–500.
- Hódar JA, Zamora R, Castro J (2002). Host utilisation by moth and larval survival of pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* in relation to food quality in three *Pinus* species. *Ecological Entomology* **27**, 292–301.
- Hódar JA, Castro J, Zamora R (2003). Pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* as a new threat for relict Mediterranean Scots pine forests under climatic warming. *Biological Conservation* **110**, 123–9.

- Hódar JA, Zamora R, Castro J, Baraza E (2004). Feast and famine: Previous defoliation limiting survival of pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* in Scots pine *Pinus sylvestris*. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology* **26**, 203–10.
- Hoffmann WA, Poorter H (2002). Avoiding bias in calculations of relative growth rate. *Annals of Botany* **90**, 37–42.
- Honek, A. (1993). Intraspecific variation in body size and fecundity in insects – A general relationship. *Oikos* **66**, 483–92.
- Huchon H, Démolin G (1971). La bioécologie de la processionnaire du pin. Dispersion potentielle. Dispersion actuelle. *Phytoma* **23**, 11–20.
- IPCC (2007). Climate Change 2007: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. IPCC, Geneva, Switzerland
- Karban R, Baldwin R (1997). *Induced Responses to Herbivory*. University of Chicago Press, Chicago, pp 104-7.
- Kenis M, Auger-Rozenberg MA, Roques A *et al.* (2009). Ecological effects of invasive alien insects. *Biological Invasions* **11**, 21–45.
- Klapwijk MJ, Ayres MP, Battisti A *et al.* (in press). Assessing the impact of climate change on outbreak potential. In: Barbosa P, ed. *Insect Outbreaks Revisited*. Academic, New York.
- Lederhouse RC, Ayres MP, Nitao JK, Scriber JM (1992) Differential use of lauraceous hosts by swallowtail butterflies, *Papilio troilus* and *P. palamedes* (Papilionidae). *Oikos*, **63**, 244–52.
- Louda SM (2000). Negative ecological effects of the musk thistle biocontrol agent, *Rhinocyllus conicus* Fröl. In: Follett PA, Duan JJ, eds. *Nontarget Effects of Biological Control*. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands, pp. 215–43.
- Louda SM, Kendall D, Connor J *et al.* (1997). Ecological effects of an insect introduced for the biological control of weeds. *Science* **277**, 1088–90.
- Mattson WJ (1980). Herbivory in relation to plant nitrogen-content. *Annual Review of Ecology and Systematics* **11**, 119–61.
- McClure MS (1984). Influence of cohabitation and resinosis on site selection and survival of *Pineus boernerii* Annand and *P. coloradensis* (Gillette) (Homoptera: Adelgidae) on Red Pine *Environmental Entomology* **13**, 657–63.

- McMillin JD, Wagner MR (1997). Chronic defoliation impacts pine sawfly (Hymenoptera: Diprionidae) performance and host plant quality. *Oikos* **79**, 357–62.
- Moss RH, Edmonds JA, Hibbard KA *et al.* (2011). The next generation of scenarios for climate change research and assessment. *Nature* **463**, 747–53.
- Nykanen H, Koricheva J (2004). Damage-induced changes in woody plants and their effects on insect herbivore performance: A meta-analysis. *Oikos* **104**, 247–68.
- Ossipov V, Haukioja E, Ossipova S *et al.* (2001). Phenolic and phenolic-related factors as determinants of suitability of mountain birch leaves to an herbivorous insect. *Biochemical Systematics and Ecology* **29**, 223–40.
- Parmesan C (2006). Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* **37**, 637–69.
- Pimentel C, Calvao T, Ayres MP (2011). Impact of climatic variation on populations of pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* in a core area of its distribution. *Agricultural and Forest Entomology* **13**, 273–81.
- Poykko H, Rautio P, Hyvarinen M *et al.* (2005). Differential performance of two geometrids on previously defoliated Scots pine. *Annales Zoologici Fennici* **42**, 497–503.
- Procter D, Harding PT (2005). *Red Lists for Invertebrates: Their Application at Different Spatial Scales – Practical Issues, Pragmatic Approaches*. Report 367, Joint Nature Conservation Committee, Peterborough, U.K .
- R Development Core Team (2010). R: A language and environment for statistical computing, reference index version 2.12.1. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Robinet C, Baier P, Pennerstorfer J, Schopf A, Roques A (2007). Modelling the effects of climate change on the potential feeding activity of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Notodontidae) in France. *Global Ecology and Biogeography* **16**, 460–71.
- Robinet C, Imbert C-E, Rousselet J *et al.* (2011). Human-mediated long-distance jumps of the pine processionary moth in Europe. *Biological Invasions* (online) 1–13.
- Roitto M, Markkola AM, Julkunen-Tiitto R *et al.* (2003). Defoliation-induced responses in peroxidases, phenolics, and polyamines in scots pine (*Pinus sylvestris* L.) needles. *Journal of Chemical Ecology* **29**, 1905–18.
- Scriber JM, Slansky F (1981). The nutritional ecology of immature insects. *Annual Review of Entomology* **26**, 183–211.
- Smits A, Larsson S (1999). Effects of previous defoliation on pine looper larval performance. *Agricultural and Forest Entomology* **1**, 19–26.

- Trenberth KE, Jones PD (2007). *Observations: Surface and Atmospheric Climate Change*. Cambridge University Press, New York.
- van Asch, M. & Visser, M.E. (2007) Phenology of forest caterpillars and their host trees: the importance of synchrony. *Annual Review of Entomology* **52**, 37–55.
- Vila M, Auger-Rozenberg MA, Goussard F, Lopez-Vaamonde C. (2009). Effect of non-lethal sampling on life-history traits of the protected moth *Graellsia isabellae* (Lepidoptera: Saturniidae). *Ecological Entomology* **34**, 356–62.
- Vose RS, Easterling DR, Gleason B (2005). Maximum and minimum temperature trends for the globe: An update through 2004. *Geophysical Research Letters* **32**.
- Wagner MR, Evans PD (1985). Defoliation increases nutritional quality and allelochemicals of pine seedlings. *Oecologia* **67**, 235–37.
- Walther GR, Roques A, Hulme PE *et al.* (2009). Alien species in a warmer world: Risks and opportunities. *Trends in Ecology & Evolution* **24**, 686–93.
- Waterman PG and S Mole (1994) *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Watt AD, Leather SR, Forrest GI, (1991). The effect of previous defoliation of pole-stage lodgepole pine on plant chemistry, and on the growth and survival of pine beauty moth (*Panolis flammea*) larvae. *Oecologia* **86**, 31–5
- Wigglesworth VB (1972). *The Principles of Insect Physiology*. Chapman and Hall, London.
- Williams IS (1999). Slow-growth, high-mortality – A general hypothesis, or is it? *Ecological Entomology* **24**, 490–95.
- Zalucki MP, Clarke AR, Malcolm SB (2002). Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* **47**, 361–93.

Tree No.	Nest density	Realized defoliation (%)	Defoliation group
1	0	0	C
2	4	8	LD
3	4	10	LD
4	16	60	HD
5	8	37	MD
6	16	70	HD
7	4	30	MD
8	0	0	C
9	8	27	MD
10	8	10	LD
11	16	25	MD
12	8	17	LD
13	0	0	C
14	16	15	LD
15	4	10	LD
16	0	0	C

Table 1 Design of the experiment of implantation of *Thaumetopoea pityocampa* nests on 16 Scots pine ramets of clone 872 in Orleans in October 2010 and its resulting defoliation in spring 2011. Defoliation degrees: C: no defoliation; LD: 5–25% defoliation; MD: 25–50%; HD: >50% defoliation.

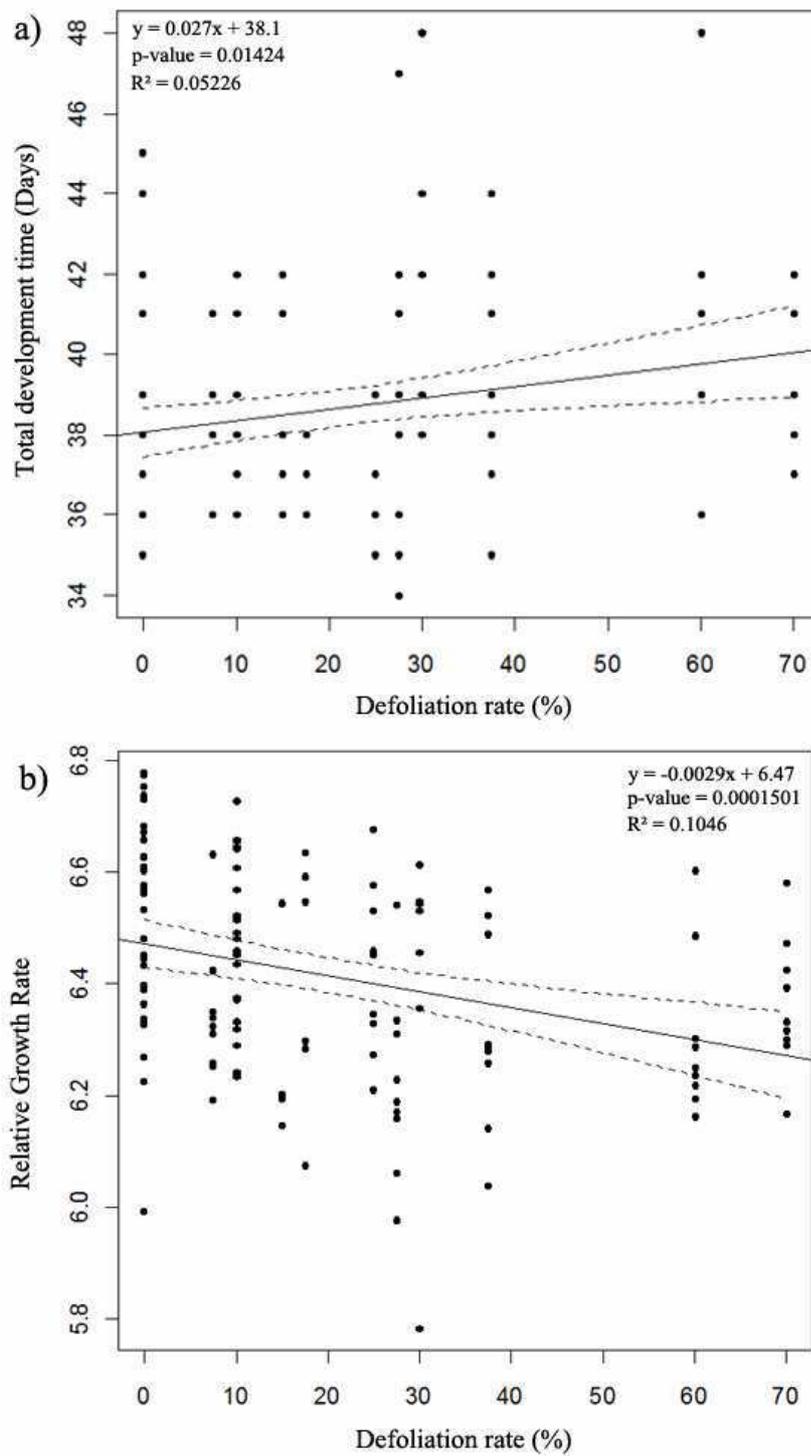


Figure 1 Relation between tree defoliation rate and individual performances of the larvae of *Actias isabellae* that successfully reached the pupal stage ($n = 132$): (a) total development time from first instar to pupa and (b) relative growth rate.

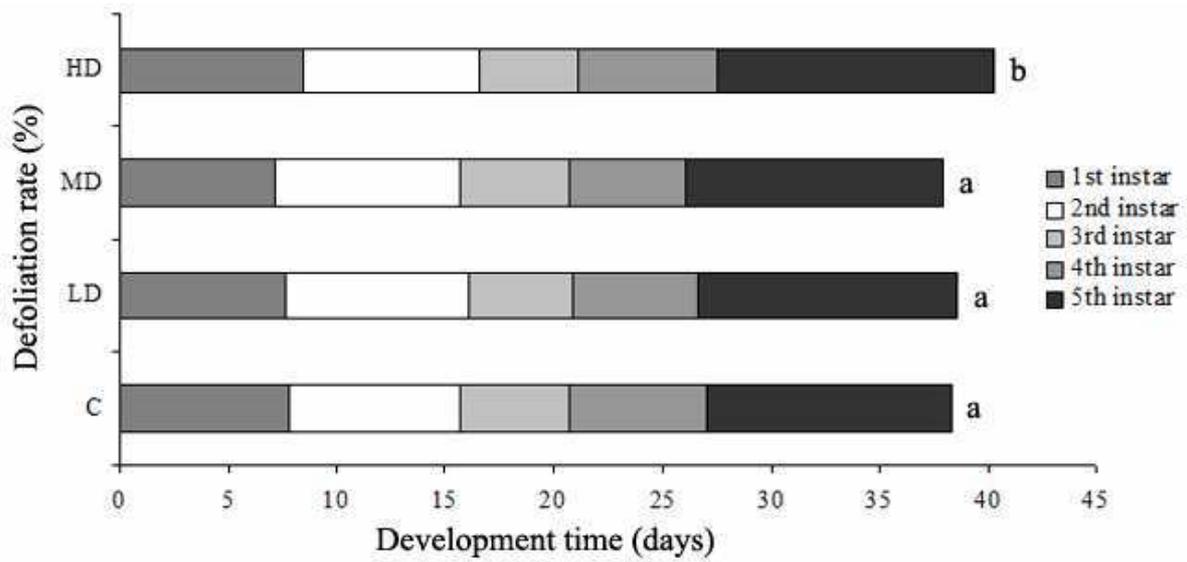


Figure 2 Mean time of the 5 larval instars of *Actias isabellae* with regard to the degree of previous defoliation by *Thaumetopoea pityocampa* of the pine trees on which they are reared. Defoliation degrees: C: no defoliation; LD: 5–25% defoliation; MD: 25–50%; HD: >50% defoliation. Letters on the right indicate the differences in total development time according to defoliation degrees at $\alpha_B = 0.008$ using multiple pairwise Mann–Whitney tests.

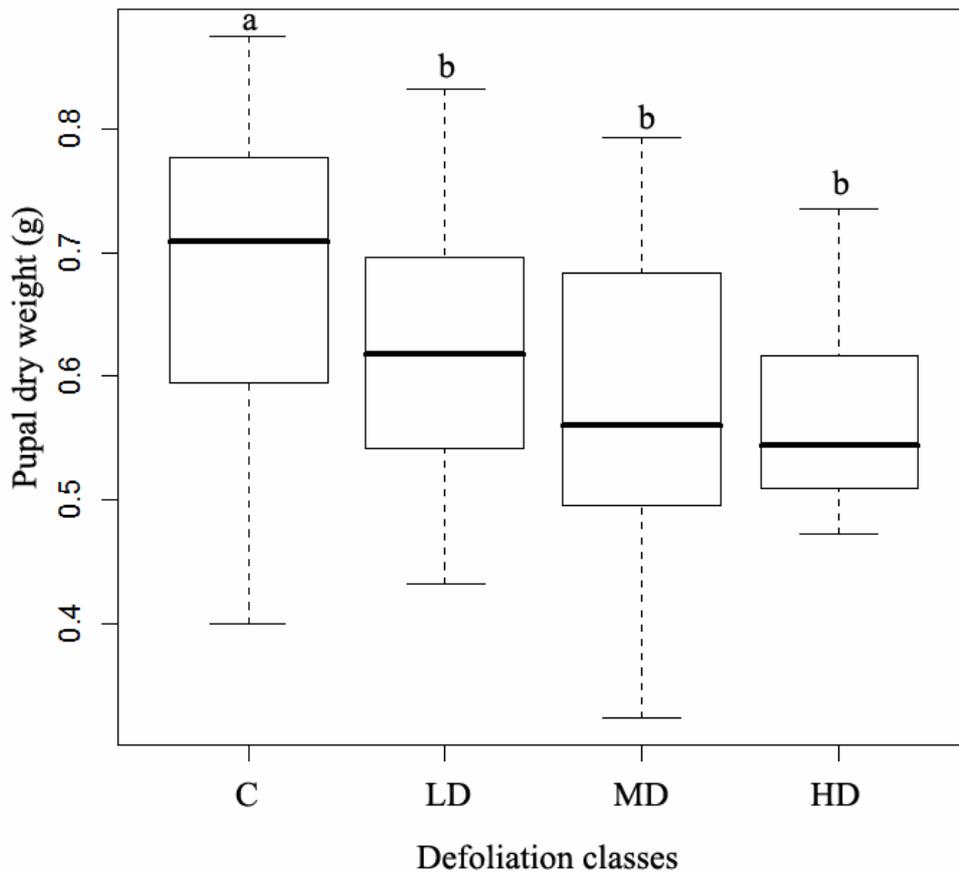


Figure 3 Effect of the degree of previous defoliation of Scots pine trees by *Thaumetopoea pityocampa* on the dry weight of pupae of *Actias isabellae* issued from larvae fed with needles from these pines. Defoliation degrees: C: no defoliation; LD: 5–25% defoliation; MD: 25–50%; HD: >50% defoliation. Boxes topped with the same letter are not significantly different at $\alpha_B = 0.008$ using multiple pairwise Mann–Whitney tests.

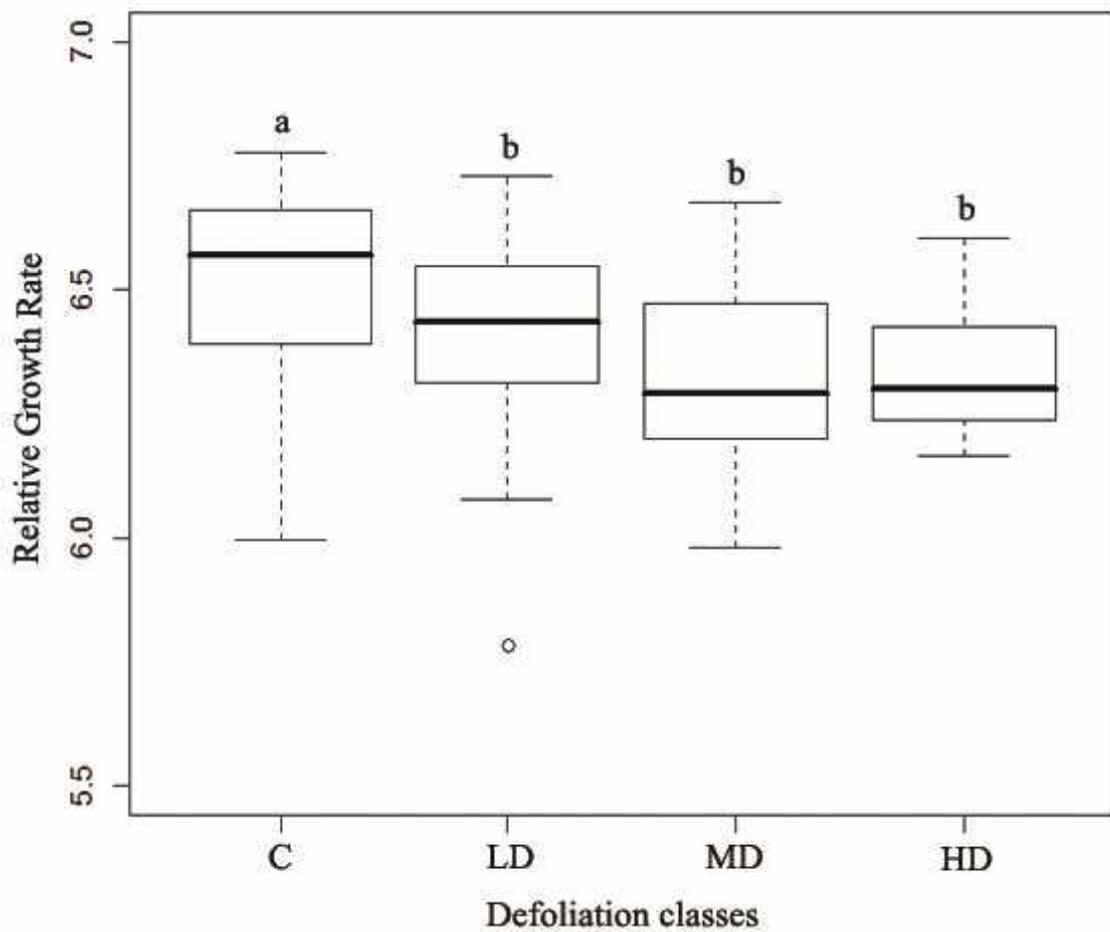


Figure 4 Relative growth rate of larvae of *Actias isabellae* reared on Scot pines with different degrees of defoliation by *Thaumetopoea pityocampa*. Defoliation degrees: C: no defoliation; LD: 5–25% defoliation; MD: 25–50%; HD: >50% defoliation. Boxes topped with the same letter are not significantly different at $\alpha_B = 0.008$ using multiple pairwise Mann–Whitney tests.

III.4. Les parasitoïdes des oeufs de processionnaire du pin peuvent-ils parasiter *Actias isabellae* dans la zone de contact ?

III.4.1. Introduction

L'étude des invasions biologiques traite souvent d'espèces qui ont été transportées sur de longues distances par les humains et qui ont laissé une partie, ou même la totalité, de leurs ennemis naturels dans leur zone d'origine (Torchin et al., 2003). Ces espèces invasives sont souvent assez éloignées de par leur biologie et/ou leur taxonomie des espèces natives de la zone envahie et de ce fait, les ennemis naturels potentiels présents dans cette zone nouvellement colonisée mettront plus de temps à basculer sur ce nouvel hôte ((Menendez et al., 2008). Par contre, l'expansion de l'aire de répartition due au réchauffement climatique n'implique pas de saut à longue distance, ce qui peut permettre aux ennemis naturels de suivre leur hôte plus facilement (Menendez et al., 2008).

Durant son expansion, la processionnaire du pin est suivie, avec un certain retard, par ses parasitoïdes oophages (cf Chapitre II). Ainsi, on les retrouve au niveau du front d'expansion, où ils sont arrivés après leur hôte. Sur les quatre espèces de parasitoïdes des œufs de processionnaire du pin retrouvées dans les Alpes du sud, l'une est spécialiste et donc uniquement associée à la processionnaire du pin. Les trois autres espèces sont des généralistes (cf Chapitre 1), donc susceptibles de parasiter des œufs d'autres espèces d'insectes.

Les ennemis naturels de l'Isabelle de France sont très peu documentés. Les adultes sont chassés la nuit par les chiroptères. Plusieurs espèces de parasitoïdes sont connues pour s'attaquer aux larves dans les populations espagnoles, les hyménoptères *Pimpla robusta* Rondani (Hyménoptère, Ichneumonidae) et *Ichneumon microsticus* Wsm. (Hyménoptère, Ichneumonidae) et les diptères *Compsilura concinnata* (Meigen) (Diptère, Tachinidae), *Masicera silvatica* (Fallén) (Diptère, Tachinidae) et *Drino inconspicua* (Meigen) (Diptère, Tachinidae) (Peigler, 1996). Ces espèces ne sont pas retrouvées chez la processionnaire du pin et n'ont donc pas été transmises par elle à l'Isabelle de France. En ce qui concerne les parasitoïdes des œufs, aucune espèce n'est documentée chez *A. isabellae*, bien que l'on retrouve plusieurs espèces de Pteromalidae parasitant les œufs de *Saturnia pyri* (Denis & Schiffermuller), un saturnidae que l'on retrouve aussi en France (Peigler, 1996). Une expérimentation en conditions de laboratoire a déjà réussie à faire parasiter des œufs de *Graellsia isabellae* par le parasite généraliste *O. pityocampae* (Lopez-Sebastian et al., 2004).

Cette espèce, déjà observée chez la processionnaire du pin, est donc capable de se développer dans les œufs d'Isabelle de France en conditions forcées.

Dans les populations de processionnaires du pin que l'on retrouve dans la zone de front des vallées de la Durance et du Guil, les parasitoïdes généralistes *O. pityocampae* sont les premiers à émerger, on les retrouve dans la nature à partir du mois de Juin (cf Fig II.10, Chap II.2). Ceci correspond à la fin de la période de vol de l'Isabelle de France et donc à la période où des œufs sont présents dans les pins. Les œufs d'*A. isabellae* sont très différents de ceux de la processionnaire du pin, ils sont plus gros, de couleur gris-bleu et sont pondus par petits groupes sur les branches des pins et non pas regroupés en une seule ponte comme chez la processionnaire du pin.

L'objectif de cette expérimentation a été d'observer le parasitisme des œufs d'Isabelle de France à partir d'œufs exposés en conditions naturelles en tentant de préciser si des parasitoïdes associés à la processionnaire du pin pouvaient y être retrouvés. Nous nous sommes intéressés aux parasitoïdes des œufs pour leur facilité d'échantillonnage, l'exposition de pontes vierges dans la nature pouvant être réalisée facilement.

III.4.2. Matériel et Méthodes

- **Site d'étude**

L'étude a été réalisée dans trois sites le long des vallées de la Durance et du Guil. Le premier site (Site 1) se situe dans la vallée du Guil au cœur de la population d'Isabelle de France dans le parc naturel régional du Queyras (06° 46' 08,7'' E ; 44° 44' 15,8' N). Ce site n'est pas encore colonisé par la processionnaire du pin. Le second site (Site 2) est une zone de contact entre l'Isabelle de France et la processionnaire du pin (06° 41' 52,8'' E ; 44° 40' 33,8'' N). Il se situe également dans la vallée du Guil près de la commune de Maison du Roy et est colonisé par la processionnaire du pin depuis une dizaine d'années. Le dernier site (Site 3) se situe le long de la Durance, près de Savines-le-lac (06° 20' 11,3'' E ; 44° 31' 38,7'' N), dans la zone cœur de la processionnaire du pin et n'est pas colonisé par l'Isabelle de France (Figure III.9). Ce dernier site peut être considéré comme témoin permettant d'apprécier le potentiel des parasites de la processionnaire à coloniser les œufs d'Isabelle dans des conditions d'abondance de la processionnaire.

- **Matériel biologique**

Les œufs utilisés pour cette expérimentation proviennent d'accouplements réalisés dans la nature entre des femelles provenant de l'élevage produit à l'INRA d'Orléans et des mâles sauvages (protocole OPIE). Les accouplements ont été réalisés entre le 20 et le 30 Mai 2009. Une fois l'accouplement terminé les femelles sont placées par quatre dans des cages souples en toile de 20cm par 20cm en présence de branches fraîches de pin sylvestre afin de leur faciliter la ponte. Trois séries de 20 œufs pondues sur ces mêmes branches ont été exposées sur chacun des sites soit un total de 60 œufs par site et 180 œufs au total. Chaque groupe de 20 œufs a été attaché sur une branche de pin sylvestre sur des arbres différents. Les œufs, installés au plus tard 24 heures après la ponte et laissés 10 jours dans la nature ont été retirés ensuite pour éviter toute émergence de chenilles d'*A. isabellae* d'élevage dans la nature. Passés 10 jours, les œufs ont été rapportés au laboratoire et chaque lot de 20 œufs a été isolé dans une boîte d'émergence humidifiée une fois tous les deux jours et placée à température ambiante. Les contrôles d'émergences ont été réalisés trois fois par jour. Les chenilles émergées ont été conservées pour l'élevage.

Les analyses ont été réalisées avec le logiciel R version 2.12.1 (R Development Core Team 2010). Les taux d'éclosion des chenilles et les taux de parasitismes ont été comparés entre les 3 sites à l'aide d'un test de χ^2 .



Figure III.9 : Carte représentant les trois sites d'exposition des œufs d'Isabelle de France. Le site 1 se situe dans une zone uniquement colonisée par *A. isabellae*, le site 2 se situe dans une zone de contact entre *A. isabellae* et *T. pityocampa* et le site 3 est une zone colonisée seulement par *T. pityocampa*.

III.4.3. Résultats

Le taux d'éclosion des chenilles de *A. isabellae* a été pour les sites 1, 2 et 3 respectivement de 63,3%, 68,3% et 56,7%. Les taux d'éclosion sont similaires et ne dépendent pas du site sur lequel les œufs ont été exposés (χ^2 : X-squared = 1.7593, df = 2, p-value = 0.4149).

Quel que soit le site d'étude, aucun parasitoïde d'œufs n'a émergé des œufs d'Isabelle de France exposés (Tab. III.1).

	Oeufs exposés	Chenilles ecloses	Parasites émergés	Taux d'éclosion chenilles
Site 1	60	38	0	63,33
Site 2	60	41	0	68,33
Site 3	60	34	0	56,67

Tableau III.1 : Récapitulatif des émergences de chenilles et de parasitoïdes

III.4.4. Discussion

Nous n'avons pas mis en évidence de parasitisme des œufs chez *A. isabellae*, que ce soit par une espèce qui lui serait inféodé ou par une espèce qui serait issue du complexe parasitaire de la processionnaire du pin.

L'importance des parasitoïdes est reconnue pour leur rôle en tant que source principale de mortalité chez les insectes herbivores et en tant que principal acteur pour la lutte biologique contre des ravageurs. Les parasitoïdes généralistes qui ont une gamme d'hôtes recouvrant plusieurs espèces sont souvent utilisés pour de la lutte biologique contre des ravageurs. La lutte contre le papillon invasif *Lymantria dispar* aux Etats-Unis a mené à l'introduction de plus de 60 espèces de parasitoïdes (Kenis et al., 2009). Parmi ces espèces le diptère *Compsilura concinnata* (Meigen), qui parasite les chenilles, est responsable de l'extinction de plusieurs espèces de Saturniidae qui n'étaient pas ciblées par cette lutte (Boettner et al., 2000). D'une manière plus générale, il peut être envisagé que la présence de nombreux parasitoïdes exotiques observés sur plusieurs continents résulte d'une introduction plus ou moins récente avec leur hôte ou la plante hôte associée ; plusieurs d'entre eux pourraient avoir des effets encore non détectés sur les populations natives (Kenis et al., 2007). Ceci illustre la capacité des espèces généralistes à changer d'hôtes et le risque qui peut résulter d'une introduction incontrôlée de ce genre d'organisme.

Les connaissances à propos des parasitoïdes de l'Isabelle de France sont très limitées et ne concernent que des diptères et hyménoptères parasitant les chenilles et les chrysalides dans les populations espagnoles (Peigler, 1996). Aucune de ces espèces n'est par ailleurs apparentée à la processionnaire du pin. Les connaissances sur les parasitoïdes des œufs sont nulles. Cette méconnaissance peut être expliquée par l'extrême difficulté à trouver des œufs d'*A. isabellae* dans la nature. Notre expérimentation consistait à la fois à identifier les parasitoïdes d'œufs d'*A. isabellae* et à étudier la possibilité de retrouver des parasitoïdes associés à la processionnaire du pin dans les œufs d'Isabelle de France.

L'élevage de parasitoïdes de l'espèce *O. pityocampae* sur des œufs d'*A. isabellae* n'a été réussie qu'en condition contrôlée, en ne présentant aucun œuf d'une autre espèce simultanément (Lopez-Sebastian et al., 2004). Même si ce généraliste est présent maintenant dans le milieu de l'Isabelle de France, il peut ne pas parasiter les œufs de cet hôte potentiel à cause d'une incompatibilité comportementale et/ou physiologique (Menendez et al., 2008). Il peut être incapable de repérer les œufs d'*A. isabellae* dans le milieu naturel. Battisti (1989) a montré que *O. pityocampae* était attiré par la phéromone sexuelle de *T. pityocampa* et semblait s'en servir pour repérer les pontes de son hôte. Cependant, le fait qu'il ait été observé dans la nature sur d'autres hôtes, lépidoptères comme pentatomidés (Lopez-Sebastian et al., 2004), montre bien qu'il est capable d'en repérer les œufs.

L'arrivée de la processionnaire du pin dans le milieu de l'Isabelle de France ne semble pas enrichir le cortège parasitaire de l'Isabelle de France et donc la pression sur ses populations. Les parasitoïdes de la processionnaire du pin ne se limitent pas à des parasites des œufs. Les stades larvaires et nymphaux sont également attaqués par plusieurs espèces des parasitoïdes diptères et hyménoptères (Biliotti, 1958). Bien que les chenilles ne se rencontrent pas simultanément, les deux espèces ont une partie de leur stade nymphal en même temps et toutes les deux forment un cocon dans le sol. Une étude des parasitoïdes attaquant d'autres stades de développement semble nécessaire pour mieux connaître les acteurs de la régulation des populations d'*A. isabellae* et leur impact sur la dynamique de cette espèce.

III.5. Conclusion générale

Dans ce chapitre, nous avons essayé de mettre en évidence les impacts possibles de la présence de la processionnaire du pin sur le papillon protégé *A. isabellae* suite à l'observation de sa disparition de son milieu naturel après l'invasion par la processionnaire du pin. La processionnaire du pin n'étant pas un prédateur, elle ne va pas directement affecter les populations de l'Isabelle de France comme on pourrait le retrouver avec d'autres espèces considérées comme invasives. Son action va être indirecte, via le partage d'une ressource alimentaire commune, le pin sylvestre. Le stade larvaire des deux espèces se développe sur le pin sylvestre, avec cependant un décalage temporel qui implique que les chenilles ne se retrouvent pas sur l'arbre au même moment. Pour étudier l'impact de la processionnaire du pin via son hôte sur l'Isabelle de France, nous avons testé trois approches complémentaires qui ont permis d'apprécier les conséquences de cette nouvelle interaction.

Nous avons en premier lieu testé si la présence de chenilles de processionnaire du pin sur un arbre pouvait influencer la présence de chenilles d'Isabelle de France. Cette première expérimentation n'a pas démontré d'impact de la présence de processionnaire du pin. Les chenilles d'Isabelle de France sont présentes dans des arbres ayant subi une défoliation, comme dans ceux n'ayant eu aucun nid de processionnaire du pin. La présence de chenilles signifie qu'une ou plusieurs femelles d'*A. isabellae* ont pondu sur l'arbre. Le comportement de ponte des femelles ne semble alors pas affecté par la précédente présence de chenilles de processionnaire du pin. Toutefois, nous n'avons pas pu tester l'effet de la présence des nids d'hiver tissés par les chenilles de processionnaire du pin. Les nids modifient l'aspect de l'arbre et restent de nombreux mois après le départ des chenilles. L'effet de leur présence sur le comportement d'oviposition des femelles d'*A. isabellae* doit être testé. Le choix du site de ponte pour un herbivore est déterminant pour la survie de sa progéniture qui, à la sortie de l'œuf, ne sera pas capable d'aller chercher un nouvel hôte si celui sur lequel elle se trouve est défavorable à son développement. Cependant, chez plusieurs espèces de lépidoptères, il a été montré que les femelles n'étaient pas spécialement sélectives pour le site d'oviposition (Hodar et al., 2004; Tammaru et al., 1995). Ceci nous a donc mené à notre seconde hypothèse de travail qui a consisté à tester la survie et le développement des chenilles d'Isabelle de France se développant sur des pins ayant été précédemment défoliés par la processionnaire du pin.

Cette expérimentation réalisée en conditions semi-naturelles dans une pépinière clonale de l'INRA d'Orléans a montré un impact de la défoliation des pins par *T. pityocampa* sur les chenilles d'*A. isabellae* se nourrissant par la suite sur les mêmes arbres. Les chenilles ont à la fois un temps de développement plus long et un poids final plus faible, ce qui leur confère un taux de croissance relatif plus faible que des chenilles s'étant nourries sur des arbres qui n'étaient pas défoliés. La consommation d'aiguilles provenant d'arbres défoliés peut à terme affecter les populations d'*A. isabellae* à plusieurs niveaux. Tout d'abord une diminution du poids des chrysalides peut traduire chez les femelles une diminution de la fécondité. Cette relation a déjà été montrée à plusieurs reprises et notamment chez les lépidoptères (Honek, 1993; Pimentel et al., 2011; Wigglesworth, 1972). La processionnaire du pin est présente en limite du milieu colonisé par l'Isabelle de France depuis maintenant une quinzaine d'années mais la disparition du papillon protégé n'a été observée que récemment. Il est possible qu'une diminution de la fécondité sur plusieurs années successives ait affecté les populations présentes en limite d'aire de répartition et pourrait expliquer ce manque d'observation. Le deuxième facteur affecté par la consommation d'aiguilles d'arbres défoliés est le temps de développement qui est allongé pour les chenilles se nourrissant de ces aiguilles. Ce temps de développement plus important peut affecter les populations d'Isabelle de France en offrant aux prédateurs et parasites plus d'opportunités d'attaquer les chenilles et augmente aussi la probabilité de subir des événements climatiques exceptionnels. Cet effet est connu sous le terme de "slow-growth high mortality hypothesis" (Clancy & Price, 1987).

Les données récoltées permettent de mieux préciser le taux de fécondité réel de l'Isabelle de France. Dans notre troisième expérimentation, nous avons mesuré un taux d'éclosion des œufs d'*A. isabellae* d'environ 62%, ce qui fait que sur les 90 œufs pondus en moyenne par les femelles d'Isabelle de France (Chefaoui & Lobo, 2007) seules 56 chenilles éclorement. Durant la seconde expérimentation, nous avons mesuré un taux de survie des chenilles d'environ 75% en moyenne. Cette donnée est équivalente à celle mesurée par Barre *et al.* (2003) dans l'élevage qu'ils ont réalisé. Donc sur les 56 chenilles sorties de l'œuf, 42 termineront leur développement et arriveront au stade de chrysalide. Cependant, ces données ne prennent pas en compte l'action d'ennemis naturels et/ou de conditions climatiques extrêmes pouvant accentuer la mortalité. Bien que quelques ennemis naturels de l'Isabelle de France soient connus, leur impact sur les populations n'a jamais été mesuré. Nous ne pouvons donc réellement quantifier combien de femelles appartenant à ces 90 œufs de départ arriveront à pondre à leur tour. De plus, la diminution de la qualité du feuillage par la défoliation de la

processionnaire du pin entraînant une diminution de la fécondité et un temps de développement plus long va réduire ce nombre d'individus arrivant au stade adulte et risque donc d'affecter les populations d'Isabelle de France sur le long terme.

Si, comme nous l'avons exposé, les femelles accouplées d'Isabelle de France n'ont pas de préférence pour la ponte et déposent leurs œufs indifféremment sur des arbres défoliés ou non, elles peuvent exposer leur progéniture à un hôte de qualité inférieure qui affectera leur développement. Nous n'avons pas eu de preuves formelles pour expliquer l'observation de la disparition de l'Isabelle de France des milieux colonisés par la processionnaire du pin. Cependant, les effets observés de la défoliation sur le développement des chenilles d'Isabelle de France peuvent, sur le long terme, affecter les populations. Ceci pourrait être d'autant plus accentué avec l'augmentation de la densité de processionnaire du pin et donc de la défoliation engendrée sur les arbres. Pour apprécier au mieux l'évolution de cette interaction, une meilleure connaissance de l'écologie d'*A. isabellae* serait bénéfique.

Chapitre IV

Conclusion générale

IV.1. Synthèse

Ce travail de thèse s'est inscrit dans la problématique de l'expansion d'un ravageur forestier avec le réchauffement climatique en se focalisant sur l'aspect de l'impact de la colonisation de ce ravageur sur les communautés d'insectes dans les zones nouvellement colonisées. Nous avons développé deux axes de recherche liés à l'expansion de ce ravageur : (1) comment les ennemis naturels vont répondre à l'expansion de leur hôte ? ; (2) comment ce ravageur va interagir avec les autres espèces inféodées à la ressource pin dans les zones nouvellement colonisées ?

Les résultats obtenus sur l'ensemble des études réalisées dans ce travail de thèse confirment l'échappement de la processionnaire du pin à ses ennemis naturels durant son expansion. Cet échappement favorisera la processionnaire du pin dans les zones nouvellement colonisées où elle sera susceptible d'avoir un impact négatif sur les autres espèces associées à la ressource pin.

1.1. Amélioration des capacités d'expansion

Les espèces invasives ont été particulièrement étudiées pour leur forte capacité d'expansion dans les milieux nouvellement colonisés et pour leur capacité à éliminer les espèces locales par leur forte compétitivité. Lors de l'introduction d'une espèce dans un nouveau milieu, ses ennemis naturels ne sont pas transportés avec elle ce qui contribue grandement à augmenter ses capacités de colonisation et d'expansion. Cette relation a été largement étudiée chez les plantes invasives qui, dans leur nouveau milieu subissent une pression moins forte de la part des herbivores et des pathogènes ce qui leur permet d'être plus compétitives que les espèces locales (Keane & Crawley, 2002; Mitchell & Power, 2003; Adams et al. 2009).

Chez les espèces dont l'aire de répartition est en progression il n'y a pas de grandes distances parcourues lors de la colonisation de nouveaux milieux, c'est pourquoi leurs ennemis naturels sont aptes à les suivre du moment que leur propre répartition n'est limitée que par celle de leur hôte. Cependant, il a été observé dans plusieurs cas chez des espèces en expansion, une diminution du parasitisme dans les zones les plus récemment colonisées. Menendez et al (2008) ont proposé trois causes pouvant expliquer la réduction du parasitisme dans les zones nouvellement colonisées. i) Si les parasitoïdes ne sont pas présents avant leur

hôte, ce qui est envisageable pour des parasites spécialistes, alors leur expansion nécessitera une première migration de leur hôte. ii) Si les parasites sont présents dans le milieu nouvellement colonisé avant leur hôte, ils peuvent être adaptés localement à d'autres hôtes potentiels et ils ne seront donc pas capables d'attaquer ce nouvel hôte à cause d'une incompatibilité comportementale ou physiologique. iii) Des parasitoïdes peuvent trouver leur hôte grâce à la plante hôte de ce dernier. Si le nouvel hôte se développe sur des plantes différentes des autres hôtes potentiels de la zone nouvellement colonisée, ils pourraient être incapables de trouver ce nouvel hôte.

Chez la processionnaire du pin, nous avons montré une diminution du taux de parasitisme liée à l'expansion, tant vers le nord qu'en altitude. Le complexe parasitaire ne change pas avec l'expansion, comme cela a été observé chez *A. agestis* au Royaume-Uni (Grobler & Lewis, 2008), on retrouve les mêmes espèces dans la zone cœur et au niveau du front d'expansion de l'espèce. Le taux de parasitisme plus bas observé au niveau du front d'expansion serait dû à une densité de populations des parasitoïdes plus faible. Les données génétiques obtenues dans notre étude montrent que le parasitoïde spécialiste a suivi son hôte durant la recolonisation post-glaciaire depuis les mêmes refuges glaciaires et en empruntant les mêmes voies de colonisation, alors que la présence du généraliste semble indépendante de la présence de son hôte. Les parasitoïdes auraient alors soit un retard géographique, soit un retard adaptatif lors de l'expansion de leur hôte. Il y aura donc un laps de temps où la processionnaire du pin ne subira plus la pression de ses ennemis naturels, lui permettant d'avoir un meilleur taux de survie et donc une densité de population qui augmenterait plus rapidement dans ces zones nouvellement colonisées. En introduisant ce ravageur au-delà de son aire de répartition, les humains pourraient encore accélérer ce processus. Comme nous l'avons exposé précédemment, plusieurs de ces colonies isolées sont dépourvues de parasitoïdes oophages, certainement à cause du stade de développement où elles ont été introduites (Robinet et al., 2011). Dans ce cas, l'avance prise par la processionnaire du pin sur ses ennemis naturels est encore plus importante que dans le cas de l'expansion uniquement due à la capacité de vol des femelles.

La forte vitesse d'expansion de la processionnaire du pin observée ces deux dernières décennies pourrait directement être liée à ce relâchement de la pression des ennemis naturels. Le transport de cette espèce au delà de ses limites naturelles peut avoir encore accentué le phénomène.

1.2. Impact sur les autres espèces en zone nouvellement colonisée

L'expansion de ravageurs forestiers peut avoir de graves conséquences pour le milieu et provoquer la mort de nombreux arbres. Les conséquences de ces fortes mortalités sur les autres espèces se développant sur ces essences sont un sujet qui reste grandement inexploré. La présence de la processionnaire du pin sur un arbre ne provoque généralement pas sa mort, mais elle engendre une défoliation qui dans certains cas peut être particulièrement importante avec plus de 90% des aiguilles défoliées dans certains cas. Mais la défoliation aura également un impact sur les propriétés physico chimiques des aiguilles qui repousseront les saisons suivantes (Honkanen et al., 1999; Kaitaniemi et al., 1999). De ce fait, la processionnaire du pin va pouvoir avoir un impact sur les espèces associées aux pins et notamment sur celles qui se nourrissent de leurs aiguilles. Il y aura un impact intra-spécifique de cette défoliation affectant ainsi les générations suivantes de processionnaire du pin (Hodar et al., 2004). Mais il y aura également un impact inter-spécifique. Nous avons montré que la défoliation par la processionnaire du pin pouvait affecter le développement des chenilles d'une autre espèce de lépidoptère se nourrissant sur pin sylvestre. Les chenilles d'Isabelle de France se nourrissant sur un pin qui a précédemment été défolié par la processionnaire du pin verront leurs temps de développement s'allonger et leurs poids final diminuer, ce qui pourra avoir des conséquences à la fois sur leur survie et sur leur fécondité. De plus, le comportement de ponte de cette espèce ne semble pas influencé par l'état de l'hôte. Les femelles pondent indifféremment sur des arbres comportant des traces de défoliations de la processionnaire du pin que sur des arbres non défoliés. Elles exposeraient ainsi involontairement leur progéniture à un hôte de moins bonne qualité. Si de fortes défoliations par la processionnaire du pin sont observées, la qualité de la nourriture pour les autres espèces ne sera pas le seul facteur pouvant limiter leur survie mais la quantité pourra également jouer.

Dans les zones nouvellement colonisées, la processionnaire du pin est partiellement libérée de la pression de ses ennemis naturels, ce qui lui permet d'avoir une densité de population plus importante. Une forte densité de population de la processionnaire du pin se traduit par une grande densité de nids sur les arbres et donc une défoliation plus importante. Ainsi, l'impact de la processionnaire du pin sur les autres espèces inféodées au pin, via le partage de la ressource alimentaire pourra être d'ordre qualitatif avec l'altération des composés chimiques des aiguilles suite à la défoliation, mais aussi quantitatif, les chenilles de processionnaire du pin pouvant en effet défolier une grande partie des aiguilles d'un arbre.

En favorisant l'expansion de la processionnaire du pin en latitude et en altitude, le réchauffement climatique pourra également avoir un impact négatif indirect sur les espèces inféodées au pin dans les zones nouvellement colonisées par le ravageur.

1.3. Autres apports scientifiques de l'étude

Outre les aspects présentés ci-dessus, notre étude a mis en lumière d'autres résultats intéressants notamment à propos de la relation entre la processionnaire du pin et ses parasitoïdes oophages. L'étude génétique sur les parasitoïdes de processionnaire du pin a révélé que les parasitoïdes spécialistes émergés de pontes prélevées sur pin d'Alep étaient différents de ceux prélevés sur pin sylvestre le long d'une même voie d'expansion de la processionnaire du pin. Chez le parasitoïde *B. servadeii*, les composés chimiques émis par la plante hôte semblent jouer sur sa capacité à trouver les pontes de processionnaire du pin (Battisti, 1989). Le fait d'avoir des parasitoïdes génétiquement différents sur deux hôtes distincts de la processionnaire du pin pourrait mettre en évidence une structuration des populations de parasitoïdes reliée à l'essence hôte de leur hôte. *Ostrinia nubilalis* Hübner, se développe principalement sur deux espèces de plantes, l'armoise (*Artemisia vulgaris* L.) et le maïs (*Zea mays* L.). Il a été montré que, bien que l'on retrouve dans un même milieu les populations se nourrissant sur armoise et sur maïs, il n'y a pas de flux de gène entre ces populations inféodées chacune à une plante hôte (Martel et al., 2003). On pourrait chez *B. servadeii* avoir le même pattern de races d'hôtes avec des populations de parasitoïdes ne se développant que dans des pontes pondues sur une essence particulière.

A propos de la phénologie des parasitoïdes, nous avons trouvé que le parasitoïde spécialiste émerge, dans la nature, environ une semaine avant son hôte, alors que *O. pityocampae* émerge 15 jours à trois semaines avant. Cette synchronie, obligatoire pour *B. servadeii* qui ne se développe que dans les œufs de processionnaire du pin, n'est pas altérée par le climat. Une température moyenne plus basse a un effet similaire sur les deux espèces en retardant leur émergence. Ainsi au niveau du front d'expansion de la processionnaire du pin, l'hôte, comme son parasitoïde spécialiste, émergera plus tard que dans la zone cœur. Une diminution de la température aura également le même effet sur le parasitoïde généraliste *O. pityocampae*. De plus, que ce soit pour *B. servadeii* ou *O. pityocampae*, nous n'avons pas retrouvé de mortalité naturelle plus importante des parasitoïdes, ils semblent donc tolérer les températures plus rudes au niveau du front d'expansion de la processionnaire du pin. Les

parasitoïdes semblent avoir une tolérance aux températures hivernales au moins équivalente à leur hôte et de plus sont capables de répondre à une modification de la température de la même manière que leur hôte.

Notre étude a également montré que les femelles d'*A. isabellae* ne semblent pas être sélectives en ce qui concerne leur site d'oviposition. Dans notre expérimentation, elles ont pondues aussi bien sur des arbres ayant subi une défoliation par la processionnaire du pin que sur des arbres intacts. Le comportement de prospection de l'hôte n'est pas connu chez *A. isabellae*, nous ne savons pas comment les femelles vont repérer l'arbre sur lequel elle vont pondre. Il serait intéressant de savoir si, en l'absence de processionnaire du pin, les femelles d'Isabelle de France pondraient sur un arbre affaibli. La ponte observée sur des arbres précédemment défoliés pourrait être due à une méconnaissance de cette espèce, la processionnaire du pin n'ayant pénétré que récemment le milieu de l'Isabelle de France.

1.4 Conclusion

L'expansion de la processionnaire du pin, avec le réchauffement climatique va avoir différents impacts sur la biodiversité entomologique dans les zones nouvellement colonisées. Ainsi, nous avons vu qu'elle peut menacer, via la réponse induite des arbres face à la défoliation engendrée par ses chenilles, les populations d'un autre lépidoptère dépendant de la même ressource alimentaire. Elle va également apporter avec elle de nouvelles espèces comme son parasitoïde spécialiste *B. servadeii* qui suit l'expansion de son aire de répartition. Elle va aussi avoir un impact sur la structuration génétique de ses parasitoïdes, provoquant une diminution de la diversité génétique de ces espèces lors de son expansion. Mais ces espèces ne sont pas les seules à partager l'écosystème de la processionnaire du pin et son expansion pourrait toucher d'autres populations.

IV.2. Perspectives

Tant à propos des parasitoïde de la processionnaire du pin et de leur relation avec leur hôte qu'à propos de l'écologie de l'Isabelle de France et de sa réponse au changement climatique, notre étude a ouvert plusieurs perspectives qu'il pourrait être intéressant d'étudier à l'avenir.

La processionnaire du pin subit la pression de prédateurs et de parasitoïdes à tous les stades de son développement. Nous avons montré l'existence d'un phénomène d'ERH chez la processionnaire du pin pour les parasitoïdes oophages. Afin d'estimer la proportion exacte d'embryons qui donneront des adultes aptes à se reproduire dans les zones nouvellement colonisées, il faudrait également quantifier l'impact des autres ennemis naturels

Dans deux des quatre colonies isolées de processionnaire du pin étudiées nous avons retrouvé des parasitoïdes. Robinet et al (2011) ont montré que ces colonies avaient été introduites artificiellement par l'homme et qu'elles étaient génétiquement proches de populations autres que les populations du front. Il serait intéressant de réaliser la même étude sur les parasitoïdes retrouvés dans ces populations afin de savoir si, comme les processionnaires du pin, ils ont été introduits artificiellement ou alors s'ils proviennent des populations au niveau du front qui se trouve à une trentaine de kilomètres au sud.

Nous avons montré un impact d'une défoliation par la processionnaire du pin sur le développement des chenilles d'Isabelle de France. Cependant, nous n'avons pas réalisé de dosage des composés chimiques des aiguilles de pin dont se sont nourries les chenilles. Une telle étude pourrait nous renseigner d'abord sur les modifications physico-chimiques engendrées par la défoliation mais aussi sur les composés chimiques affectant le développement de l'Isabelle de France.

Nous avons montré que la présence de la processionnaire du pin pouvait à terme affecter les populations d'Isabelle de France. Cependant, nous n'avons trouvé aucune preuve pouvant expliquer sa disparition récente des milieux colonisés par le ravageur. Il serait intéressant de connaître l'impact propre du réchauffement climatique sur les populations d'Isabelle de France afin de mieux quantifier et prévoir l'effet de la colonisation du milieu par la processionnaire du pin. Cette espèce vivant en altitude, on peut donc penser que l'augmentation des températures moyennes aura un effet de rétraction au niveau de sa limite inférieure et une expansion au niveau de sa limite supérieure. Un phénomène équivalent de décalage de l'aire de répartition avec une rétraction au niveau de la limite sud et une

expansion de la limite nord a déjà été observée chez plusieurs espèces de lépidoptères (Parmesan et al., 1999). Un effet de ce type chez l'Isabelle de France pourrait expliquer sa disparition au niveau de sa limite inférieure qui ne serait alors pas dû à l'impact de la défoliation par la processionnaire du pin.

Enfin, l'Isabelle de France, n'est pas la seule espèce d'insectes inféodées aux pins. D'autres espèces telles que *Diprion pini* L. ou le sphinx du pin (*Sphinx pinastri* L.) ont également des chenilles qui se développent sur les aiguilles de pin. Cependant ces espèces sont déjà présentes dans le même milieu que la processionnaire du pin. Mais il serait intéressant de savoir comment la défoliation par la processionnaire du pin impacte les populations de ces espèces, d'autant plus si une partie se trouve encore hors de l'aire de répartition du ravageur. La possibilité de pouvoir comparer chez une même espèce des populations présentes dans l'aire de répartition de la processionnaire du pin et des populations hors de cette aire pourrait permettre de mieux comprendre comment l'expansion de la processionnaire du pin affecte le fonctionnement des écosystèmes.

Références Bibliographiques

- Adams, J.M., Fang, W., Callaway, R.M., Cipollini, D., & Newell, E. (2009) A cross-continental test of the Enemy Release Hypothesis: leaf herbivory on *Acer platanoides* (L.) is three times lower in North America than in its native Europe. *Biological Invasions*, **11**, 1005-1016.
- Arnaldo, P.S., Chacim, S., & Lopes, D. (2010) Effects of defoliation by the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* on biomass growth of young stands of *Pinus pinaster* in northern Portugal. *Iforest-Biogeosciences and Forestry*, **3**, 159-162.
- Arnaldo, P.S. & Torres, L.M. (2006) Effect of different hosts on *Thaumetopoea pityocampa* populations in northeast Portugal. *Phytoparasitica*, **34**, 523-530.
- Augustin, S., Guichard, S., Heitland, W., Freise, J., Svatos, A., & Gilbert, M. (2009a) Monitoring and dispersal of the invading Gracillariidae *Cameraria ohridella*. *Journal of Applied Entomology*, **133**, 58-66.
- Augustin, S., Settele, J., Roques, A., Garcia, J., Lopez-Vaamonde, C., Kenis, M., Valade, R., & Gilbert, M. (2009b). A stowaway species probably arriving from the Balkans, the horse chestnut leafminer, *Cameraria ohridella*. In Atlas of Biodiversity Risks - from Europe to the globe, from stories to maps. Pensoft, Sofia & Moscow.
- Baltensweiler, W. (1993) Why the larch bud-moth cycle collapsed in the sub-alpine larch-cembra pine forests in the year 1990 for the 1st time since 1850. *Oecologia*, **94**, 62-66.
- Baltensweiler, W. & Rubli, D. (1999) Dispersal: an important driving force of the cyclic population dynamics of the larch bud moth, *Zeiraphera diniana* Gn. *Forest Snow and Landscape Research*, **74**.
- Bando, K.J. (2006) The roles of competition and disturbance in a marine invasion. *Biological Invasions*, **8**, 755-763.
- Barbaro, L., Couzi, L., Bretagnolle, V., Nezan, J., & Vetillard, F. (2008) Multi-scale habitat selection and foraging ecology of the eurasian hoopoe (*Upupa epops*) in pine plantations. *Biodiversity and Conservation*, **17**, 1073-1087.
- Barre, F., Goussard, F., & Geri, C. (2003) Variation in the suitability of *Pinus sylvestris* to feeding by two defoliators, *Diprion pini* (Hym., Diprionidae) and *Graellsia isabellae galliaegloria* (Lep., Attacidae). *Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie*, **127**, 249-257.

- Battisti, A. (1988) Host–plant relationships and population dynamics of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Denis and Schiffermüller). *Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie*, **105**, 393-402.
- Battisti, A. (1989) Field Studies on the Behavior of 2 Egg Parasitoids of the Pine Processionary Moth *Thaumetopoea-Pityocampa*. *Entomophaga*, **34**, 29-38.
- Battisti, A., Bernardi, M., & Ghirardo, C. (2000) Predation by the hoopoe (*Upupa epops*) on pupae of *Thaumetopoea pityocampa* and the likely influence on other natural enemies. *Biocontrol*, **45**, 311-323.
- Battisti, A., Colazza, S., Roversi, P.F., & Tiberi, R. (1988) Alternative Hosts of *Ooencyrtus-Pityocampae* Mercet Hymenoptera Encyrtidae in Italy. *Redia*, **71**, 321-328.
- Battisti, A., Holm, G., Fagrell, B., & Larsson, S. (2011). Urticating Hairs in Arthropods: Their Nature and Medical Significance. In *Annual Review of Entomology*, Vol 56 (ed. by M.R.C.R.T.R.G.E. Berenbaum), Vol. 56, pp. 203-220.
- Battisti, A., Stastny, M., Buffo, E., & Larsson, S. (2006) A rapid altitudinal range expansion in the pine processionary moth produced by the 2003 climatic anomaly. *Global Change Biology*, **12**, 662-671.
- Battisti, A., Stastny, M., Netherer, S., Robinet, C., Schopf, A., Roques, A., & Larsson, S. (2005) Expansion of geographic range in the pine processionary moth caused by increased winter temperatures. *Ecological Applications*, **15**, 2084-2096.
- Bellin, S., Schmidt, G.H., & Doumapetridou, E. (1990) Structure, Ooparasitoid Spectrum and Rate of Parasitism of Egg-Batches of *Thaumetopoea-Pityocampa* (Den and Schiff) (Lep *Thaumetopoeidae*) in Greece. *Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie*, **110**, 113-120.
- Benrey, B. & Denno, R.F. (1997) The slow-growth-high-mortality hypothesis: A test using the cabbage butterfly. *Ecology*, **78**, 987-999.
- Berg, E.E., Henry, J.D., Fastie, C.L., De Volder, A.D., & Matsuoka, S.M. (2006) Spruce beetle outbreaks on the Kenai Peninsula, Alaska, and Kluane National Park and Reserve, Yukon Territory: Relationship to summer temperatures and regional differences in disturbance regimes. *Forest Ecology and Management*, **227**, 219-232.
- Bertheau, C., Salle, A., Roux-Morabito, G., Garcia, J., Certain, G., & Lieutier, F. (2009) Preference-performance relationship and influence of plant relatedness on host use by *Pityogenes chalcographus* L. *Agricultural and Forest Entomology*, **11**, 389-396.

- Biliotti, E. (1956) Biologie de *Phryxe caudata* Rondani. (Dipt. Larvaevoridae) parasite de la chenille processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.). *Revue de Pathologie Vegetale d'Entomologie Agricole de France*, **1**, 51-65.
- Biliotti, E. (1958) Les parasites et prédateurs de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepideptora). *Entomophaga*, **3**, 23-34.
- Boettner, G.H., Elkinton, J.S., & Boettner, C.J. (2000) Effects of a biological control introduction on three nontarget native species of saturniid moths. *Conservation Biology*, **14**, 1798-1806.
- Bohn, T., Amundsen, P.A., & Sparrow, A. (2008) Competitive exclusion after invasion? *Biological Invasions*, **10**, 359-368.
- Brown, P.M.J., Adriaens, T., Bathon, H., Cuppen, J., Goldarazena, A., Hagg, T., Kenis, M., Klausnitzer, B.E.M., Kovar, I., Loomans, A.J.M., Majerus, M.E.N., Nedved, O., Pedersen, J., Rabitsch, W., Roy, H.E., Ternois, V., Zakharov, I.A., & Roy, D.B. (2008) *Harmonia axyridis* in Europe: spread and distribution of a non-native coccinellid. *Biocontrol*, **53**, 5-21.
- Bruchim, Y., Ranen, E., Saragusty, J., & Aroch, I. (2005) Severe tongue necrosis associated with pine processionary moth (*Thaumetopoea wilkinsoni*) ingestion in three dogs. *Toxicon*, **45**, 443-447.
- Buffo, E., Battisti, A., Stastny, M., & Larsson, S. (2007) Temperature as a predictor of survival of the pine processionary moth in the Italian Alps. *Agricultural and Forest Entomology*, **9**, 65-72.
- Callaghan, T.V., Bjorn, L.O., Chernov, Y., Chapin, T., Christensen, T.R., Huntley, B., Ims, R.A., Johansson, M., Jolly, D., Jonasson, S., Matveyeva, N., Panikov, N., Oechel, W., Shaver, G., Elster, J., Henttonen, H., Laine, K., Taulavuori, K., Taulavuori, E., & Zockler, C. (2004) Biodiversity, distributions and adaptations of arctic species in the context of environmental change. *Ambio*, **33**, 404-417.
- Chefaoui, R.M. & Lobo, J.M. (2007) Assessing the conservation status of an Iberian moth using pseudo-absences. *Journal of Wildlife Management*, **71**, 2507-2516.
- Clancy, K.M. & Price, P.W. (1987) Rapid herbivore growth enhances enemy attack: sublethal plant defenses remain a paradox. *Ecology*, **68**, 733-737.
- Clement, M., Posada, D., & Crandall, K.A. (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, **9**, 1657-1659.

- Colautti, R.I., Ricciardi, A., Grigorovich, I.A., & MacIsaac, H.J. (2004) Is invasion success explained by the enemy release hypothesis? *Ecology Letters*, **7**, 721-733.
- Cornell, H.V. & Hawkins, B.A. (1993) Accumulation of Native Parasitoid Species on Introduced Herbivores - a Comparison of Hosts as Natives and Hosts as Invaders. *American Naturalist*, **141**, 847-865.
- Démolin, G. (1969) Comportement des adultes de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff.: dispersion spatiale, importance écologique. *Annales des Sciences Forestières*, **26**, 81-102.
- Démolin, G. & Delmas, J. (1967) Les éphippigères (Orthoptères Tettigonidae) prédateurs occasionnels, mais importants de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Entomophaga*, **12**, 399-401.
- Diegisser, T., Tritsch, C., Seitz, A., & Johannesen, J. (2009) Infestation of a novel host plant by *Tephritis conura* (Diptera: Tephritidae) in northern Britain: host-range expansion or host shift? *Genetica*, **137**, 87-97.
- Dorcas, M.E., Willson, J.D., Reed, R.N., Snow, R.W., Rochford, M.R., Miller, M.A., Meshaka, W.E., Andreadis, P.T., Mazzotti, F.J., Romagosa, C.M., & Hart, K.M. (2012) Severe mammal declines coincide with proliferation of invasive Burmese pythons in Everglades National Park. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Dulaurent, A.M., Rossi, J.P., Deborde, C., Moing, A., Menassieu, P., & Jactel, H. (2011) Honeydew feeding increased the longevity of two egg parasitoids of the pine processionary moth. *Journal of Applied Entomology*, **135**, 184-194.
- European Environment Agency (2008) Impact of Europe changing climate – 2008 indicator-based assessment. European Environment Agency report, EEA Report 4/2008. Available from URL : http://www.eea.europa.eu/publications/eea_report_2008_4
- Evans, E.W. (2004) Habitat displacement of North American ladybirds by an introduced species. *Ecology*, **85**, 637-647.
- Garcia-Serrana, H., Sans, F.X., & Escarre, J. (2007) Interspecific competition between alien and native congeneric species. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology*, **31**, 69-78.
- Geervliet, J.B.F., Verdel, M.S.W., Snellen, H., Schaub, J., Dicke, M., & Vet, L.E.M. (2000) Coexistence and niche segregation by field populations of the parasitoids *Cotesia*

- glomerata and C-rubecula in the Netherlands: predicting field performance from laboratory data. *Oecologia*, **124**, 55-63.
- Géri, C. (1980) Application des méthodes d'études démécologiques aux insectes défoliateurs forestiers. Cas de *Diprion pini* L. (Hyménoptère Diprionidae). Dynamique des populations de la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* (Lépidoptère Thaumetopoeidae) dans l'île de Corse. Ph.D Thesis, Université Paris-sud Centre d'Orsay, Paris.
- Gomi, T. (2007) Seasonal adaptations of the fall webworm *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera : Arctiidae) following its invasion of Japan. *Ecological Research*, **22**, 855-861.
- Grabenweger, G., Kehrlí, P., Zweimueller, I., Augustin, S., Avtzis, N., Bacher, S., Freise, J., Girardoz, S., Guichard, S., Heitland, W., Lethmayer, C., Stolz, M., Tomov, R., Volter, L., & Kenis, M. (2010) Temporal and spatial variations in the parasitoid complex of the horse chestnut leafminer during its invasion of Europe. *Biological Invasions*, **12**, 2797-2813.
- Grobler, B.C. & Lewis, O.T. (2008) Response of native parasitoids to a range-expanding host. *Ecological Entomology*, **33**, 453-463.
- Gurevitch, J. & Padilla, D.K. (2004) Are invasive species a major cause of extinctions? *Trends in Ecology & Evolution*, **19**, 470-474.
- Halperin, J. (1990) Life history of *Thaumetopoea* spp (Lep, Thaumetopoeidae) in Israel. *Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie*, **110**, 1-6.
- Haukioja, E. (1990) Induction of Defenses in Trees. *Annual Review of Entomology*, **36**, 25-42.
- Hebertson, E.G. & Jenkins, M.J. (2008) Climate factors associated with historic spruce beetle (Coleoptera : Curculionidae) outbreaks in Utah and Colorado. *Environmental Entomology*, **37**, 281-292.
- Hellmann, J.J., Pelini, S.L., Prior, K.M., & Dzurisin, J.D.K. (2008) The response of two butterfly species to climatic variation at the edge of their range and the implications for poleward range shifts. *Oecologia*, **157**, 583-592.
- Hernández-López, A., Rougerie, R., Augustin, S., Lees, D.C., Tomov, R., Kenis, M., Çota, E., Kullaj, E., Hansson, C., Grabenweger, G., Roques, A., & López-Vaamonde, C. (2011) Host tracking or cryptic adaptation? Phylogeography of *Pediobius saulius* (Hymenoptera, Eulophidae), a parasitoid of the highly invasive horse-chestnut leafminer. *Evolutionary Applications*, no-no.

- Hersteinsson, P. & Macdonald, D.W. (1992) Interspecific competition and the geographical distribution of red and arctic foxes *Vulpes vulpes* and *Alopex lagopus*. *Oikos*, **64**, 505-515.
- Hewitt, G. (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, **405**, 907-913.
- Hewitt, G.M. (1999) Post-glacial re-colonization of European biota. *Biological Journal of the Linnean Society*, **68**, 87-112.
- Hewitt, G.M. (2004) Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **359**, 183-195.
- Hickling, R., Roy, D.B., Hill, J.K., Fox, R., & Thomas, C.D. (2006) The distributions of a wide range of taxonomic groups are expanding polewards. *Global Change Biology*, **12**, 450-455.
- Hill, A.M. & Lodge, D.M. (1999) Replacement of resident crayfishes by an exotic crayfish: The roles of competition and predation. *Ecological Applications*, **9**, 678-690.
- Hoch, G., Toffolo, E.P., Netherer, S., Battisti, A., & Schopf, A. (2009) Survival at low temperature of larvae of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* from an area of range expansion. *Agricultural and Forest Entomology*, **11**, 313-320.
- Hodar, J.A., Castro, J., & Zamora, R. (2003) Pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* as a new threat for relict Mediterranean Scots pine forests under climatic warming. *Biological Conservation*, **110**, 123-129.
- Hodar, J.A. & Zamora, R. (2004) Herbivory and climatic warming: a Mediterranean outbreaking caterpillar attacks a relict, boreal pine species. *Biodiversity and Conservation*, **13**, 493-500.
- Hodar, J.A., Zamora, R., Castro, J., & Baraza, E. (2004) Feast and famine: previous defoliation limiting survival of pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* in Scots pine *Pinus sylvestris*. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology*, **26**, 203-210.
- Holt, R.D. (2003) On the evolutionary ecology of species' ranges. *Evolutionary Ecology Research*, **5**, 159-178.
- Honek, A. (1993) Intraspecific variation in body size and fecundity in insects - a general relationship. *Oikos*, **66**, 483-492.

- Honkanen, T., Haukioja, E., & Kitunen, V. (1999) Responses of *Pinus sylvestris* branches to simulated herbivory are modified by tree sink/source dynamics and by external resources. *Functional Ecology*, **13**, 126-140.
- Huchon, H. & Démolin, G. (1971) La bioécologie de la processionnaire du pin. Dispersion potentielle. Dispersion actuelle. *Phytoma*, **23**, 11-20.
- IPCC. (2007) Climate Change 2007: Synthesis report Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Jansen, E., J. Overpeck, K.R. Briffa, J.-C. Duplessy, F. Joos, V. Masson-Delmotte, D. Olago, B. Otto-Bliesner, W.R. Peltier, S. Rahmstorf, R. Ramesh, D. Raynaud, D. Rind, O. Solomina, R. Villalba and D. Zhang. (2007) Palaeoclimate. In: Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor and H.L. Miller (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Kaartinen, R., Stone, G.N., Hearn, J., Lohse, K., & Roslin, T. (2010) Revealing secret liaisons: DNA barcoding changes our understanding of food webs. *Ecological Entomology*, **35**, 623-638.
- Kaitaniemi, P., Ruohomaki, K., Tammaru, T., & Haukioja, E. (1999) Induced resistance of host tree foliage during and after a natural insect outbreak. *Journal of Animal Ecology*, **68**, 382-389.
- Keane, R.M. & Crawley, M.J. (2002) Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution*, **17**, 164-170.
- Kenis, M., Auger-Rozenberg, M.A., Roques, A., Timms, L., Pere, C., Cock, M., Settele, J., Augustin, S., & Lopez-Vaamonde, C. (2009) Ecological effects of invasive alien insects. *Biological Invasions*, **11**, 21-45.
- Kenis, M., Rabitsch, W., Auger-Rozenberg, M.A., & Roques, A. (2007) How can alien species inventories and interception data help us prevent insect invasions? *Bulletin of Entomological Research*, **97**, 489-502.
- Kerdelhue, C., Magnoux, E., Lieutier, F., Roques, A., & Rousselet, J. (2006) Comparative population genetic study of two oligophagous insects associated with the same hosts. *Heredity*, **97**, 38-45.

- Khai Tran, J., Ylioja, T., Billings, R.F., Regniere, J., & Ayres, M.P. (2007) Impact of minimum winter temperatures on the population dynamics of *Dendroctonus frontalis*. *Ecological Applications*, **17**, 882-899.
- Kolar, C.S. & Lodge, D.M. (2001) Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**, 199-204.
- Leblond, A., Martin, J.C., Napoléone, C., Geniaux, G., Robinet, C., Provendier, D., & Gutleben, C. (2010) La processionnaire du pin vue par ses gestionnaires : Une enquête auprès des communes françaises donne un nouveau regard sur ce ravageur. *Phytoma*, **633**, 18-23.
- Liu, H. & Stiling, P. (2006) Testing the enemy release hypothesis: a review and meta-analysis. *Biological Invasions*, **8**, 1535-1545.
- Lopez-Sebastian, E., Selfa, J., & Ylla, J. (2004) Primeros datos del parasitismo de *Ooencyrtus pityocampae* (Mercet, 1921) sobre *Graellsia isabellae* (Graells, 1849) en condiciones de laboratorio. *Graellsia*, **60**, 121-123.
- Luethi, D., Le Floch, M., Bereiter, B., Blunier, T., Barnola, J.-M., Siegenthaler, U., Raynaud, D., Jouzel, J., Fischer, H., Kawamura, K., & Stocker, T.F. (2008) High-resolution carbon dioxide concentration record 650,000-800,000 years before present. *Nature*, **453**, 379-382.
- Martel, C., Rejasse, A., Rousset, F., Bethenod, M.T., & Bourguet, D. (2003) Host-plant-associated genetic differentiation in Northern French populations of the European corn borer. *Heredity*, **90**, 141-149.
- Masutti, L. (1964) Ricerche sui parassiti oofagi della *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Annali del Centro di Economia Montana delle Venezie*, **4**, 205-271.
- McCarty, J.P. (2001) Ecological consequences of recent climate change. *Conservation Biology*, **15**, 320-331.
- Menendez, R., Gonzalez-Megias, A., Lewis, O.T., Shaw, M.R., & Thomas, C.D. (2008) Escape from natural enemies during climate-driven range expansion: a case study. *Ecological Entomology*, **33**, 413-421.
- Menzel, A. & Fabian, P. (1999) Growing season extended in Europe. *Nature*, **397**, 659-659.
- Millar, J.G., McElfresh, J.S., Romero, C., Vila, M., Mari-Mena, N., & Lopez-Vaamonde, C. (2010) Identification of the Sex Pheromone of a Protected Species, the Spanish Moon Moth *Graellsia isabellae*. *Journal of Chemical Ecology*, **36**, 923-932.

- Mirchev, P., Schmidt, G.H., & Tsankov, G. (1998) The egg parasitoids of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Den. and Schiff.) in the Eastern Rhodopes, Bulgaria. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*, **30**, 131-140.
- Mirchev, P., Schmidt, G.H., Tsankov, G., & Avci, M. (2004) Egg parasitoids of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) and their impact in SW Turkey. *Journal of Applied Entomology*, **128**, 533-542.
- Mirchev, P., Schmidt, G.H., Tsankov, G., & Pllana, S. (1999) Egg parasitoids of the processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Den. and Schiff.) collected in Albania. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*, **31**, 152-165.
- Mirchev, P. & Tsankov, G. (2000) Parasitism of egg-batches of pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Den. et Schiff.) (Lepidoptera : Notodontidae) collected in Portugal. *Forest Science*, **4**, 65-71.
- Mitchell, C.E. & Power, A.G. (2003) Release of invasive plants from fungal and viral pathogens. *Nature*, **421**, 625-627.
- Mumm, R., Schrank, K., Wegener, R., Schulz, S., & Hilker, M. (2003) Chemical analysis of volatiles emitted by *Pinus sylvestris* after induction by insect oviposition. *Journal of Chemical Ecology*, **29**, 1235-1252.
- Musolin, D.L. (2007) Insects in a warmer world: ecological, physiological and life-history responses of true bugs (Heteroptera) to climate change. *Global Change Biology*, **13**, 1565-1585.
- Navajas, M., Lagnel, J., Gutierrez, J., & Boursot, P. (1998) Species-wide homogeneity of nuclear ribosomal ITS2 sequences in the spider mite *Tetranychus urticae* contrasts with extensive mitochondrial COI polymorphism. *Heredity*, **80**, 742-752.
- Nyabuga, F.N., Loxdale, H.D., Heckel, D.G., & Weisser, W.W. (2010) Spatial population dynamics of a specialist aphid parasitoid, *Lysiphlebus hirticornis* Mackauer (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae): evidence for philopatry and restricted dispersal. *Heredity*, **105**, 433-442.
- Nykanen, H. & Koricheva, J. (2004) Damage-induced changes in woody plants and their effects on insect herbivore performance: a meta-analysis. *Oikos*, **104**, 247-268.
- Paiva, M.R., Mateus, E., Santos, M.H., & Branco, M.R. (2011) Pine volatiles mediate host selection for oviposition by *Thaumetopoea pityocampa* (Lep., Notodontidae). *Journal of Applied Entomology*, **135**, 195-203.

- Parmesan, C. (2006) Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, **37**, 637-669.
- Parmesan, C., Ryrholm, N., Stefanescu, C., Hill, J.K., Thomas, C.D., Descimon, H., Huntley, B., Kaila, L., Kullberg, J., Tammaru, T., Tennent, W.J., Thomas, J.A., & Warren, M. (1999) Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature*, **399**, 579-583.
- Parmesan, C. & Yohe, G. (2003) A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*, **421**, 37-42.
- Peigler, R.S. (1996) Catalog of parasitoids of Saturniidae of the world. *Journal of Research on the Lepidoptera*, **33**.
- Perez-Contreras, T., Soler, J.J., & Soler, M. (2003) Why do pine processionary caterpillars *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera, Thaumetopoeidae) live in large groups? An experimental study. *Annales Zoologici Fennici*, **40**, 505-515.
- Pimentel, C., Calvao, T., & Ayres, M.P. (2011) Impact of climatic variation on populations of pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* in a core area of its distribution. *Agricultural and Forest Entomology*, **13**, 273-281.
- Pimentel, C., Ferreira, C., & Nilsson, J.-A. (2010) Latitudinal gradients and the shaping of life-history traits in a gregarious caterpillar. *Biological Journal of the Linnean Society*, **100**, 224-236.
- Pimentel, C. & Nilsson, J.-A. (2007) Response of Great Tits *Parus major* to an irruption of a Pine Processionary Moth *Thaumetopoea pityocampa* population with a shifted phenology. *Ardea*, **95**, 191-199.
- Poykko, H., Rautio, P., Hyvarinen, M., Tuomi, J., Markkola, A., Kuikka, K., & Roitto, M. (2005) Differential performance of two geometrids on previously defoliated Scots pine. *Annales Zoologici Fennici*, **42**, 497-503.
- Poyry, J., Luoto, M., Heikkinen, R.K., Kuussaari, M., & Saarinen, K. (2009) Species traits explain recent range shifts of Finnish butterflies. *Global Change Biology*, **15**, 732-743.
- PROMOTH (2005) PROMOTH - Global change and Pine Processionary Moth: a new challenge for integrated pest management. *Final Report*.
- R Development Core Team. (2010) *R: A language and environment for statistical computing, reference index version 2.12.1*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

- Rausher, M.D. (1979) Larval habitat suitability and oviposition preference in three related butterflies. *Ecology*, **60**, 503-511.
- Regniere, J., Nealis, V., & Porter, K. (2009) Climate suitability and management of the gypsy moth invasion into Canada. *Biological Invasions*, **11**, 135-148.
- Renwick, J.A.A. & Chew, F.S. (1994) Oviposition behaviour in lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, **39**, 377-400.
- Richardson, D.M., Pysek, P., Rejmanek, M., Barbour, M.G., Panetta, F.D., & West, C.J. (2000) Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and Distributions*, **6**, 93-107.
- Robinet, C., Baier, P., Pennerstorfer, J., Schopf, A., & Roques, A. (2007) Modelling the effects of climate change on the potential feeding activity of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Notodontidae) in France. *Global Ecology and Biogeography*, **16**, 460-471.
- Robinet, C., Imbert, C.-E., Rousselet, J., Sauvard, D., Garcia, J., Goussard, F., & Roques, A. (2011) Human-mediated long-distance jumps of the pine processionary moth in Europe. *Biological Invasions*, 1-13.
- Root, T.L., Price, J.T., Hall, K.R., Schneider, S.H., Rosenzweig, C., & Pounds, J.A. (2003) Fingerprints of global warming on wild animals and plants. *Nature*, **421**, 57-60.
- Roque-Albelo, L. (2003) Population decline of Galapagos endemic Lepidoptera on Volcan Alcedo (Isabela Island, Galapagos Islands, Ecuador): an effect of the introduction of the cottony cushion scale? *Bulletin de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Entomologie*, **73**, 177-180.
- Roques, A. (2010) Taxonomy, time and geographic patterns. Chapter 2. *BioRisk*, **4**, 11-26.
- Roques, A., Desprez-Loustau, M.L., & Pascal, M. (2009) Biological invasions: epiphenomena or real risks? Déjà 1 500 especes exotiques d'invertebres presentes en europe! Analyse des tendances passees et a venir. *Comptes Rendus de l'Academie d'Agriculture de France*, **95**, 71-81.
- Rousselet, J., Zhao, R., Argal, D., Simonato, M., Battisti, A., Roques, A., & Kerdelhue, C. (2010) The role of topography in structuring the demographic history of the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Notodontidae). *Journal of Biogeography*, **37**, 1478-1490.
- Roy, D.B. & Sparks, T.H. (2000) Phenology of British butterflies and climate change. *Global Change Biology*, **6**, 407-416.

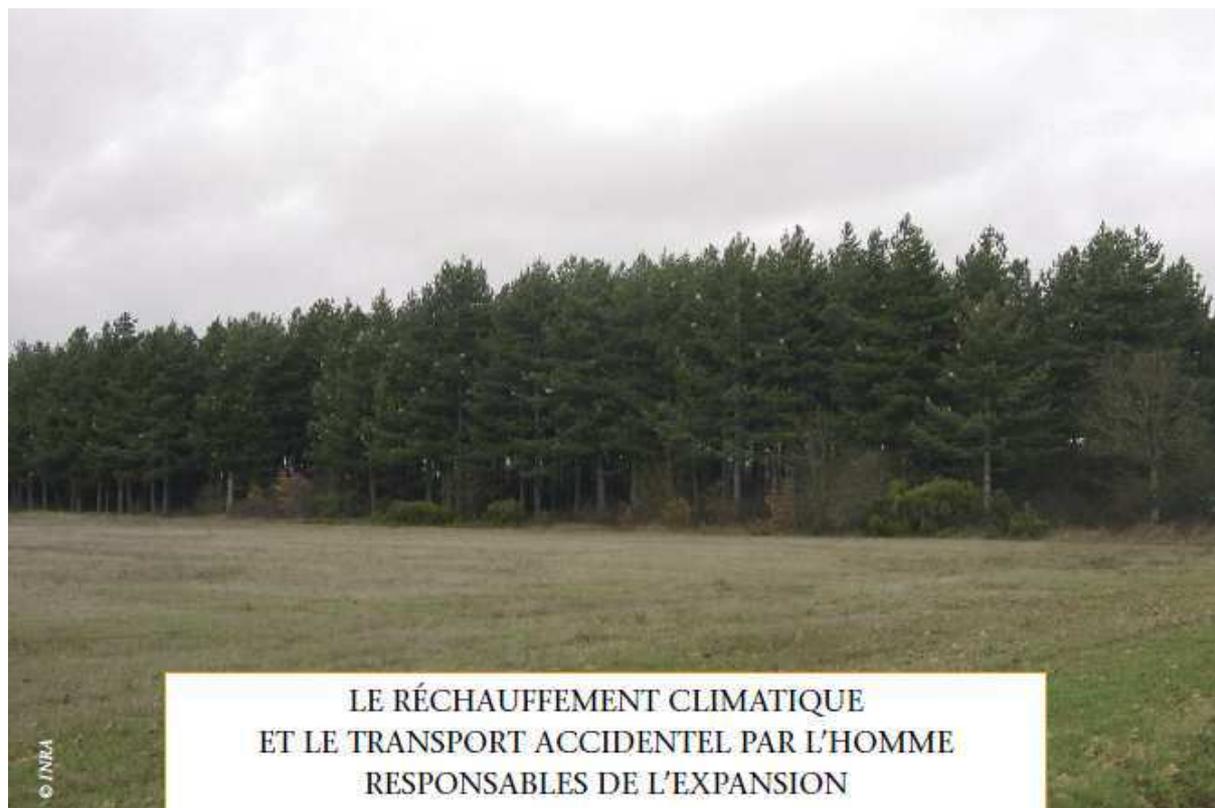
- Sauvard D. Yart A. (2011) PPM morphological and physiological adaptations in the expansion range of the Paris Basin. 4th URTICLIM meeting - International meeting on pine processionary moths. Belgodère, Corsica, France, 17-19 Octobre 2011 (Communication orale)
- Schmidt, G.H., Mirchev, P., & Tsankov, G. (1997) The egg parasitoids of *Thaumetopoea pityocampa* in the Atlas mountains near Marrakech (Morocco). *Phytoparasitica*, **25**, 275-281.
- Schmidt, G.H., Tanzen, E., & Bellin, S. (1999) Structure of egg-batches of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. and Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae), egg parasitoids and rate of egg parasitism on the Iberian Peninsula. *Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie*, **123**, 449-458.
- Schmitt, T. (2007) Molecular biogeography of Europe: Pleistocene cycles and postglacial trends. *Frontiers in zoology*, **4**, 11.
- Smits, A. & Larsson, S. (1999) Effects of previous defoliation on pine looper larval performance. *Agricultural and Forest Entomology*, **1**, 19-26.
- Smits, A., Larsson, S., & Hopkins, R. (2001) Reduced realised fecundity in the pine looper *Bupalus piniarius* caused by host plant defoliation. *Ecological Entomology*, **26**, 417-424.
- Strom, B.L., Roton, L.M., Goyer, R.A., & Meeker, J.R. (1999) Visual and semiochemical disruption of host finding in the southern pine beetle. *Ecological Applications*, **9**, 1028-1038.
- Tanmaru, T., Kaitaniemi, P., & Ruohomaki, K. (1995) Oviposition choices of *Epirrita autumnata* (Lepidoptera: Geometridae) in relation to its eruptive population dynamics. *Oikos*, **74**, 296-304.
- Tanzen, E. & Schmidt, G.H. (1995) Identification by meconia of four species of egg parasitoids of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. and Schiff.) (Insecta Lepidoptera Thaumetopoeidae). *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*, **27**, 61-70.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., & Gibson, T.J. (1994) Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, **22**, 4673-4680.
- Tiberi, R. (1990) Egg parasitoids of the pine processionary caterpillar, *Thaumetopoea pityocampa* (Den and Schiff) (Lep, Thaumetopoeidae) in Italy - Distribution and

- activity in different areas. *Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie*, **110**, 14-18.
- Torchin, M.E., Lafferty, K.D., Dobson, A.P., McKenzie, V.J., & Kuris, A.M. (2003) Introduced species and their missing parasites. *Nature*, **421**, 628-630.
- Tougou, D., Musolin, D.L., & Fujisaki, K. (2009) Some like it hot! Rapid climate change promotes changes in distribution ranges of *Nezara viridula* and *Nezara antennata* in Japan. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **130**, 249-258.
- Tsankov, G., Douma-Petridou, E., Mirchev, P., Georgiev, G., & Koutsaftikis, A. (1999) Spectrum of egg parasitoids and rate of parasitism of egg batches of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Den. and Schiff.) in the northern Peloponnes/Greece. *Journal of the Entomological Research Society*, **1**, 1-8.
- Tsankov, G. & Mirchev, P. (2003) The role of *Trichogramma embryophagum* (Hartig, 1838) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) as a natural regulator of pine processionary moth number (*Thaumetopoea pityocampa* (Denis et Schiffermueler, 1775) Lepidoptera: Notodontidae) in Bulgaria. *Forest Science*, **4**, 33-41.
- Tsankov, G., Mirchev, P., & Matova, M. (2006) Egg parasitoids, rate of parasitism and structure of egg batches of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep.: Thaumetopoeidae) from the region of Ochrid (Republic of Macedonia). *Silva Balcanica*, **7**, 77-87.
- Tsankov, G., Schmidt, G.H., & Mirchev, P. (1995) Impact of parasitoids in egg-batches of *Thaumetopoea pityocampa* (Dent. and Schiff.) in Algeria. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*, **27**, 53-60.
- Tsankov, G., Schmidt, G.H., & Mirchev, P. (1996a) Parasitism of egg-batches of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Den & Schiff) (Lep, Thaumetopoeidae) in various regions of Bulgaria. *Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie*, **120**, 93-105.
- Tsankov, G., Schmidt, G.H., & Mirchev, P. (1996b) Structure and parasitism of egg-batches of a processionary moth population different from *Thaumetopoea pityocampa* (Den. and Schiff.) (Lep. Thaumetopoeidae) found in Bulgaria. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*, **28**, 195-207.
- Tsankov, G., Schmidt, G.H., & Mirchev, P. (1998) Studies on the egg parasitism in *Thaumetopoea pityocampa* over a period of four years (1991-1994) at

- Marikostino/Bulgaria. *Anzeiger Fur Schadlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz*, **71**, 1-7.
- van Asch, M. & Visser, M.E. (2007). Phenology of forest caterpillars and their host trees: The importance of synchrony. In *Annual Review of Entomology*, Vol. 52, pp. 37-55.
- Vila, M., Auger-Rozenberg, M.A., Goussard, F., & Lopez-Vaamonde, C. (2009) Effect of non-lethal sampling on life-history traits of the protected moth *Graellsia isabelae* (Lepidoptera: Saturniidae). *Ecological Entomology*, **34**, 356-362.
- Visser, J.H. (1986) Host odor perception in phytophagous insectes. *Annual Review of Entomology*, **31**, 121-144.
- Visser, M.E. & Both, C. (2005) Shifts in phenology due to global climate change: the need for a yardstick. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **272**, 2561-2569.
- Visser, M.E. & Holleman, L.J.M. (2001) Warmer springs disrupt the synchrony of oak and winter moth phenology. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **268**, 289-294.
- Visser, M.E., van Noordwijk, A.J., Tinbergen, J.M., & Lessells, C.M. (1998) Warmer springs lead to mistimed reproduction in great tits (*Parus major*). *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **265**, 1867-1870.
- Vos, M. & Vet, L.E.M. (2004) Geographic variation in host acceptance by an insect parasitoid: genotype versus experience. *Evolutionary Ecology Research*, **6**, 1021-1035.
- Walkovszky, A. (1998) Changes in phenology of the locust tree (*Robinia pseudoacacia* L.) in Hungary. *International Journal of Biometeorology*, **41**, 155-160.
- Walther, G.R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T.J.C., Fromentin, J.M., Hoegh-Guldberg, O., & Bairlein, F. (2002) Ecological responses to recent climate change. *Nature*, **416**, 389-395.
- Walther, G.R., Roques, A., Hulme, P.E., Sykes, M.T., Pysek, P., Kuhn, I., Zobel, M., Bacher, S., Botta-Dukat, Z., Bugmann, H., Czucz, B., Dauber, J., Hickler, T., Jarosik, V., Kenis, M., Klotz, S., Minchin, D., Moora, M., Nentwig, W., Ott, J., Panov, V.E., Reineking, B., Robinet, C., Semchenko, V., Solarz, W., & Thuiller, W. (2009) Alien species in a warmer world: risks and opportunities. *Trends in Ecology & Evolution*, **24**, 686-693.
- Ware, R.L. & Majerus, M.E.N. (2008) Intraguild predation of immature stages of British and Japanese coccinellids by the invasive ladybird *Harmonia axyridis*. *Biocontrol*, **53**, 169-188.

- Wigglesworth, V.B. (1972) *The principles of insect physiology*, by V. B. Wigglesworth
Chapman and Hall, London.
- Williams, I.S. (1999) Slow-growth, high-mortality - a general hypothesis, or is it? *Ecological Entomology*, **24**, 490-495.
- Zalucki, M.P., Clarke, A.R., & Malcolm, S.B. (2002) Ecology and behavior of first instar larval Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, **47**, 361-393.

Annexes



LE RÉCHAUFFEMENT CLIMATIQUE
ET LE TRANSPORT ACCIDENTEL PAR L'HOMME
RESPONSABLES DE L'EXPANSION
DE LA CHENILLE PROCESSIONNAIRE DU PIN

CHRISTELLE ROBINET – JÉRÔME ROUSSELET – CHARLES-ÉDOUARD IMBERT
DANIEL SAUVARD – JACQUES GARCIA – FRANCIS GOUSSARD – ALAIN ROQUES

En France, la processionnaire du pin progresse vers le nord et en altitude depuis les années '90. La hausse des températures hivernales est la première cause de cette progression, mais le transport accidentel d'individus, vraisemblablement lors de la transplantation de grands arbres, permet à la chenille de progresser encore plus vite.

La processionnaire du pin, *Thaumetopoea pityocampa* (DEN. & SCHIFF.) (Lep., Notodontidae), est un insecte grégaire, ravageur des pins, présent dans la plupart des pays du pourtour méditerranéen et le long du littoral Atlantique. En se nourrissant des aiguilles, elle ralentit la croissance des arbres et provoque une perte économique importante dans les forêts de production si aucun traitement n'est appliqué. Elle constitue également un problème d'ordre paysager dans les forêts de loisir et sur les arbres

ornementaux car les chenilles tissent des nids bien visibles dans les pins et peuvent entraîner de sévères défoliations particulièrement inesthétiques (figure 1). De plus, elles peuvent provoquer des allergies plus ou moins graves en libérant des poils urticants aux derniers stades larvaires, en particulier lors des processions de nymphose au printemps. L'étude de cet insecte est donc socio-économiquement importante. Par ailleurs, la processionnaire offre aux scientifiques un modèle très intéressant pour compren-

dre l'impact du changement climatique. En effet, contrairement à la plupart des insectes, la processionnaire du pin effectue son développement larvaire durant l'hiver, ce qui la rend extrêmement sensible aux variations de températures de l'hiver, saison où le réchauffement est le plus important en Europe. La processionnaire est un très bon candidat pour déceler les premiers effets du réchauffement climatique, d'autant plus que la température affecte également son abondance, sa phénologie et ses interactions avec d'autres espèces. De plus, la modification des habitats et les effets d'autres activités humaines, indépendamment de leur potentiel d'émission de gaz à effet de serre, viennent s'ajouter au changement du climat.

LA PROCESSIONNAIRE DU PIN PROGRESSE VERS LE NORD ET EN ALTITUDE

La présence de la processionnaire du pin est relativement facile à détecter grâce aux nids que les chenilles tissent dans les arbres. À cause des problèmes qu'elle occasionne, une surveillance du territoire français a été mise en place dès 1969. Par la suite, des observations systématiques sur un réseau de plusieurs centaines de placettes, associées à des signalements spontanés, ont permis d'enregistrer chaque année les fluctuations temporelles, d'anticiper les pullulations et de mettre en place des traitements en forêt lorsque cela est nécessaire. Ce réseau,

Figure 1 – Nid de processionnaire du pin (à gauche) et pin fortement attaqué par la processionnaire (à droite).



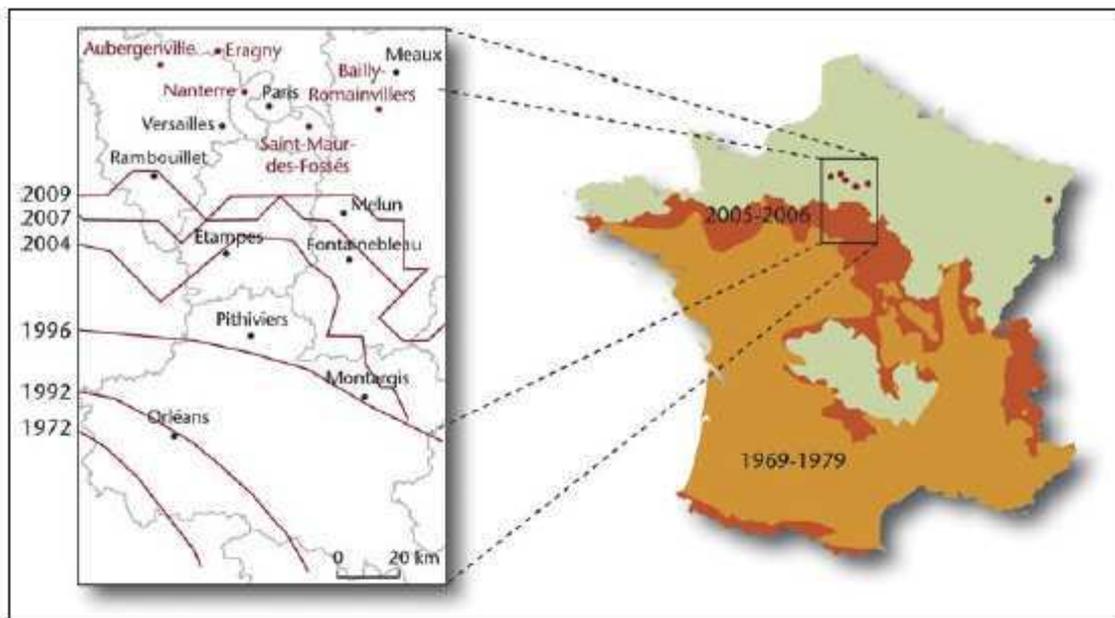


Figure 2 – Progression de la chenille processionnaire du pin en France et zoom sur les Régions Centre et Île-de-France. Les points rouges indiquent les foyers isolés.

actuellement géré par le Département de la Santé des Forêts (dépendant du Ministère de l'Agriculture en France), n'avait pas pour but de cartographier l'aire de distribution. Cependant, ces données, couplées à d'autres cartes de présence de la processionnaire, ont pu nous fournir des indications précieuses sur les changements qui ont eu lieu dans le passé. Quant à l'avancée de l'insecte en France au cours de ces dernières années, elle a été cartographiée en détail par l'INRA d'Orléans (sur une grille de 8 km × 8 km à l'échelle nationale en 2005-2006).

Jusque dans les années '90, l'aire de distribution de la processionnaire du pin était relativement stable. Elle était limitée essentiellement par une combinaison entre la moyenne des températures du mois de janvier (avec un minimum de -4 °C) et l'insolation (avec un minimum de 1 800 heures par an)^{3, 4}. Elle se rétractait lors des hivers froids comme ceux de 1986-1988 et 1994,

et elle reprenait son aire de distribution maximale lors des hivers plus doux². Dans la région d'Orléans, la limite maximale de son aire était caractérisée par la Loire. Or, dès 1992, la processionnaire a franchi la Loire et n'a cessé de progresser depuis⁵. Cette expansion est observée partout en France (figure 2), en particulier en Région Centre où cette progression a atteint 5,6 km par an dans les années '90. Elle se poursuit actuellement en Île-de-France où il semblerait que certains territoires puissent être de plus en plus communément confrontés à la fois à des dégâts de processionnaire du pin en hiver et à des dégâts de processionnaire du chêne en été.

La processionnaire progresse également en altitude, dans les Alpes, les Pyrénées et le Massif-Central. Dans la vallée Venosta/Vinschgau (Alpes italiennes), elle a progressé de 7 mètres par an en pente sud et 3 mètres par an en pente nord en moyenne entre 1975 et 2004¹.

Les principaux facteurs qui pourraient expliquer cette expansion sont : le réchauffement climatique et la plantation d'arbres hôtes. Or, les pins sont largement distribués, notamment au-delà de l'aire de distribution de la processionnaire. Ils ne pouvaient donc pas limiter la distribution de l'insecte dans le passé. De plus, dans les régions forestières de la Région Centre, leur surface n'a pas changé significativement depuis les années '70. La plantation de pins n'est donc pas le facteur expliquant la progression actuelle de l'insecte dans cette région.

L'ALIMENTATION DES LARVES EST SOUMISE À DES CONDITIONS DE TEMPÉRATURES

La température minimum létale se situe autour de -10 à -17 °C selon la taille de la colonie^{1, 3, 6}, mais ce seuil de température n'est pas le seul facteur pour expliquer la mortalité des populations. En effet, les températures agissent sur les capacités d'alimentation des larves et donc sur la survie des colonies. La température du nid durant le jour doit être supérieure à 9 °C et la température de l'air la nuit suivante doit être supérieure à 0 °C pour permettre aux larves de sortir du nid pour s'alimenter durant la nuit¹. Si l'une de ces deux conditions n'est pas vérifiée, les larves ne s'alimentent pas. Les chenilles peuvent survivre plusieurs jours consécutifs sans s'alimenter, mais au-delà d'une certaine limite, ce jeûne provoque la mort d'une partie de la colonie. Le taux de mortalité décroît lorsque le nombre d'heures d'alimentation augmente. Devant la difficulté d'obtenir ces données de température horaire de l'air mais aussi à l'intérieur du nid, une variable a été définie afin de donner une indication globale

sur les capacités d'alimentation durant la période de développement larvaire, il s'agit de la moyenne des températures minimales d'octobre à mars.

UN PREMIER MODÈLE D'EXPANSION DE LA PROCESSIONNAIRE DU PIN

Modèle bioclimatique

En utilisant les températures journalières et une estimation des températures du nid à l'aide de la température maximale et de l'insolation, nous avons pu déterminer le nombre de jours d'alimentation des larves durant la période hivernale dans le sud du Bassin-Parisien sur les périodes 1992-1996 et 2000-2004. Ce calcul montre une zone défavorable à la processionnaire du pin durant la première période faisant office de barrière à la progression, alors que la zone au sud-ouest et la région parisienne étaient favorables⁸ (figure 3). Dans la deuxième période, cette barrière s'est levée, et la processionnaire a franchi cette zone. Cette étude montre trois points importants : (1) la progression de la processionnaire était limitée par le climat dans le passé, (2) Paris et sa région étaient favorable à la survie de la processionnaire depuis longtemps, et (3) la progression de l'insecte est maintenant limitée uniquement par ses capacités de dispersion dans cette région.

Nous avons mis en place une expérience de translocation sur le terrain : des colonies prélevées dans la région d'Orléans ont été implantées le long de transects allant de la zone d'expansion jusqu'au-delà du front en région parisienne. Au printemps, nous les avons récupérées avant les processions et nous avons calculé leur taux de survie. Malgré une décroissance du taux de survie le long de ces transects, un nombre

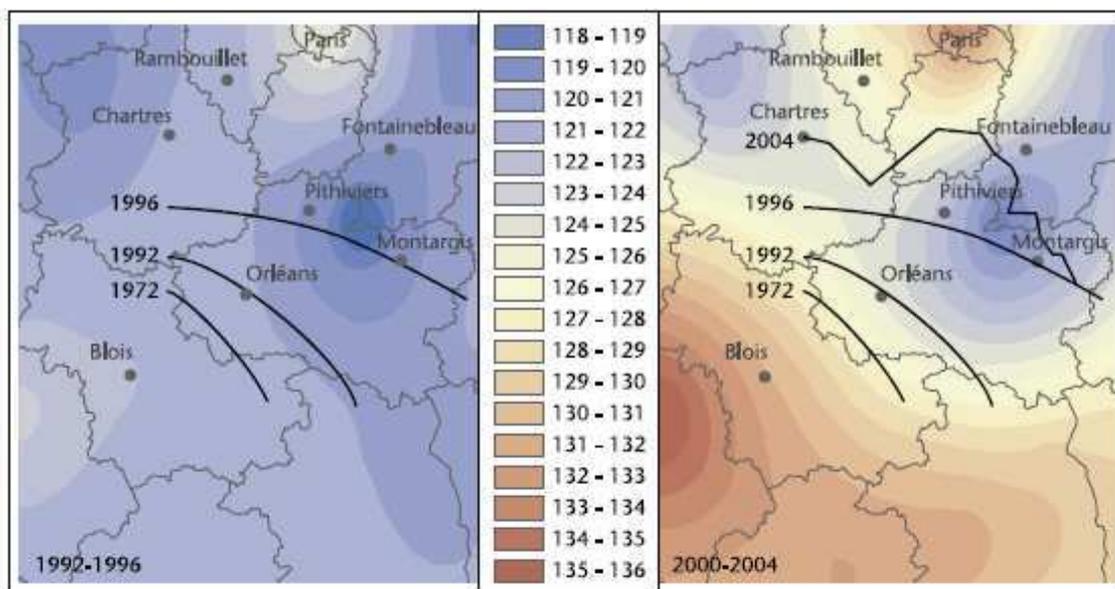


Figure 3 – Nombre moyen de jours d'alimentation durant la période de développement larvaire (octobre à mars) au cours des périodes 1992-1996 et 2000-2004 (modifié d'après ROBINET et al.⁸). Les zones rouges sont les plus favorables à l'insecte.

important de larves ont été capables de survivre largement au-delà de la limite de leur aire de distribution, confirmant ainsi les résultats du modèle bioclimatique.

Modèle d'expansion

Connaître les zones favorables à la processionnaire est un élément important pour anticiper sa progression. Toutefois, cela ne signifie pas que l'insecte pourra atteindre ces zones. Pour mieux prévoir ses capacités d'expansion, il faut considérer à la fois la contrainte climatique mais également ses capacités de dispersion. Nous avons donc développé un modèle de dynamique spatio-temporelle décrivant à la fois la mortalité due aux conditions climatiques, la dispersion des femelles (responsables de la dissémination des pontes) et la croissance de la population, tout en tenant compte de la répartition géographique des pins⁷⁻⁹. Les paramètres de ce modèle sont estimés grâce à des expériences menées sur le terrain et à la cartographie

des fronts historiques. Ce modèle appliqué au sud du Bassin-Parisien retrace bien l'évolution passée de l'aire de distribution avec une rétraction lors des hivers froids et une progression continue depuis les années '90. Le modèle prévoit une colonisation de Paris *intra-muros* en 2025 sous certaines hypothèses, qui sont notamment : une capacité de vol de 3 km, une absence de dispersion due à l'homme, et une augmentation des températures correspondant à un scénario climatique modéré.

APPARITION RÉCENTE DE FOYERS ISOLÉS LOIN DE L'AIRE DE DISTRIBUTION

Ces dernières années, des foyers isolés ont été découverts loin de l'aire de distribution naturelle de la processionnaire du pin en région parisienne (Bailly-Romainvilliers en 2003, Nanterre en 2007, Aubergenville, Eragny, et Saint-Maur-des-Fossés en 2008)

et dans l'Est de la France (Obernai en 2008) (figure 2). En utilisant différentes approches, détaillées ci-dessous, nous avons montré que des individus ont probablement été introduits au stade chrysalide lors de plantation de grands arbres¹⁰.

Provenance des individus fondateurs des foyers

La distance entre les foyers de la région parisienne et l'aire de distribution actuelle est de l'ordre de 30 à 50 km. La distance entre Obernai et l'aire de distribution est d'environ 190 km. Or, les adultes femelles ont de faibles capacités de vol³. Dans le passé, elles étaient estimées de l'ordre d'une centaine de mètres à 2 km. Le modèle d'expansion suggère une capacité légèrement supérieure (3 à 4 km) et les données de progression montrent une dispersion encore plus importante (5,6 km). Nous avons donc testé les capacités de vol des femelles sur manège de vol. Il s'avère que plus d'une femelle sur dix a parcouru au moins 5 km en 2009, mais aucune n'a dépassé 10,5 km. Par conséquent, il semble impossible que des adultes femelles aient pu parcourir la distance qui sépare les foyers isolés de l'aire de distribution.

Par ailleurs, d'un point de vue génétique, au moins trois des cinq foyers isolés dans le Bassin-Parisien ne proviennent probablement pas des populations du front le plus proche. Les individus d'Eragny et d'Aubergenville sont génétiquement plus proches de ceux des populations d'Italie et de la moitié Est de la France, et ceux de Bailly-Romainvilliers sont proches de celles de la Péninsule Ibérique et du Sud-Ouest de la France. La plupart des individus ont en effet été génétiquement assignés (pour le premier ordre) à ces régions et dans aucun cas à la zone d'expansion.

Quant aux individus provenant de Saint-Maur-des-Fossés et Nanterre, ils sont principalement assignés aux populations du Nord-Ouest de la France. D'après cette analyse génétique, on ne peut donc pas écarter que ces deux populations proviennent de la zone d'expansion.

Moyen de dispersion à longue distance

L'étude du cortège parasitaire spécifique dans la zone nouvellement infestée peut fournir des indications sur le stade d'introduction d'un insecte. Des pontes ont été prélevées dans les foyers isolés et le long de la zone d'expansion. La distance entre le front de progression et les foyers isolés est telle qu'une dispersion naturelle des parasitoïdes des oeufs dans les foyers isolés paraît peu probable. La présence d'espèces spécialistes de la processionnaire du pin ne serait alors possible que par une co-introduction dans les pontes de leur hôte, et éventuellement une co-installation. Or, le taux de parasitisme des pontes est nul dans les foyers isolés malgré un taux assez élevé dans l'aire de distribution naturelle (36 à 44 % des pontes en zone d'expansion naturelle et 100 % dans des populations du Sud-Est de la France), ce qui laisserait penser que la processionnaire du pin a été introduite à un stade autre que l'oeuf. Cette observation seule ne prouve rien, mais, en disséquant des nids, nous avons en revanche trouvé des hyménoptères tachinaires, *Phryxe caudata*, parasites spécialistes des chenilles et chrysalides de la processionnaire du pin. Ces dernières n'étant sans doute pas non plus en mesure de coloniser ces foyers par leurs propres moyens, cela suggère que la processionnaire a vraisemblablement été introduite au stade larve ou chrysalide, emmenant avec elle la partie de son

cortège parasitaire associée à l'un de ces stades. En effet, la première génération de tachinaire se développe sur les larves du 2^{ème} au 4^{ème} stade, et une deuxième génération parasite les larves du dernier stade et émerge de la chrysalide dans le sol. L'introduction au stade larve est toutefois peu vraisemblable car les larves forment des nids bien visibles dans les pins et cette caractéristique permet de repérer facilement les arbres infestés, réduisant ainsi le risque d'un transport accidentel de nids. Finalement, une introduction au stade chrysalide paraît le scénario le plus vraisemblable, même s'il n'est pas possible d'en écarter d'autres définitivement. Les adultes pourraient éventuellement être transportés, mais en raison de leur courte durée de vie et la présence de *Phryxe caudata*, ce scénario paraît moins vraisemblable.

Le transport de la processionnaire du pin au stade chrysalide est tout à fait plausible car les chrysalides peuvent être facilement transportées sans être détectées dans la motte de terre lors de la transplantation de grands arbres. D'ailleurs, ce mode de dispersion avec la terre a été démontré pour la processionnaire du chêne entre l'Europe continentale et le Royaume-Uni.

De meilleures conditions climatiques et des îlots de chaleur

Avec le réchauffement climatique, de nouveaux territoires deviennent favorables à la processionnaire du pin. L'avancée de l'insecte n'est pas une relation linéaire avec le réchauffement. Même si le climat se stabilisait, la processionnaire pourrait continuer d'avancer jusqu'à envahir l'ensemble du territoire devenu favorable les années précédentes. Par ailleurs, Paris et sa périphérie est une région particulièrement chaude, probablement dû à un

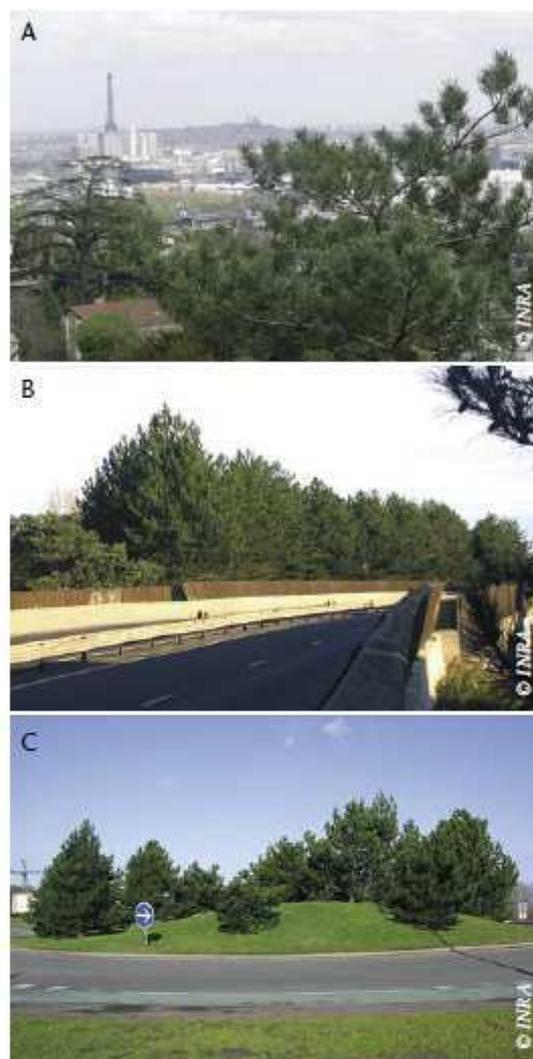


Figure 4 – Pins en zone urbaine : (A) à Paris, (B) le long d'une autoroute, et (C) sur un rond-point.

micro-climat induit par l'activité humaine. Durant les vagues de froid de janvier 2009 et janvier 2010, les foyers isolés dans le Bassin-Parisien ont ainsi mieux survécu que dans la zone naturelle d'expansion. Par ailleurs, l'absence de parasites des œufs pourrait diminuer la mortalité, augmenter la taille des colonies et ainsi favoriser encore plus la survie hivernale. Si tel était le cas, il s'agirait d'un nouvel exemple de l'importance du découplage des interactions entre espèces. En plus d'îlots de chaleur, les zones urbaines offrent un

habitat particulièrement favorable. Cet insecte forestier est ainsi devenu une nuisance urbaine colonisant les pins isolés le long des routes, des autoroutes, sur les ronds-points et dans les parcs et jardins (figure 4). Ces pins sont généralement bien exposés, et les conditions de survie hivernales sont plus favorables. De plus, la présence de sols, sans couvert et bien drainés, sont souvent propices à la phase hypogée lors du printemps.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La processionnaire du pin progresse actuellement en France et en Europe suite à la hausse des températures hivernales. Alors qu'elle semblait progresser par ses propres moyens dans les années '90, l'apparition de foyers isolés loin de l'aire d'expansion montre que des individus ont été probablement transportés accidentellement lors du transport et de la plantation de grands arbres, accélérant ainsi l'extension de son aire de distribution. Désormais, à proximité de Paris, on peut observer aisément des sites où coexistent la même année la processionnaire du pin et la processionnaire du chêne, une espèce congénérique plus septentrionale dans l'ensemble. Des études comparatives entre les deux espèces pourraient permettre de mieux comprendre leur dynamique et leur distribution. Dans le cas de la processionnaire du pin, les milieux anthropisés se sont avérés particulièrement favorables à la colonisation par l'insecte tant en termes de microclimat que d'habitat. Du fait de l'existence de milliers de pins d'alignement, de parc et de jardin disséminés dans le paysage, le rapport coût-bénéfice des méthodes de lutte traditionnelles est radicalement différent qu'en forêt. De nouvelles méthodes

adaptées à cette situation doivent être développées à présent.

Alors que de nombreux facteurs peuvent ainsi faciliter l'expansion de la processionnaire, d'autres facteurs pourraient néanmoins la limiter. Par exemple, en montant vers le nord, la durée du jour étant plus courte, le nid ne pourra peut-être pas bénéficier d'un ensoleillement suffisant pour maintenir une température convenable dans le nid durant l'hiver. Par ailleurs, l'effet du changement climatique est complexe. Pour l'instant, nous avons principalement étudié l'effet d'une hausse de la moyenne des températures minimales hivernales. Or, les scénarios climatiques prévoient une fréquence accrue des événements climatiques extrêmes. Comme leurs effets peuvent accroître ceux du réchauffement moyen ou à l'inverse être antagonistes, ils restent à ce jour difficiles à prévoir. Pour preuve, la canicule du mois d'août 2003 a entraîné une avancée dix fois plus rapide en altitude dans les Alpes italiennes et *a contrario* un effondrement des populations en Région Centre. Il faut noter que seules les limites nord et altitudinales ont été suivies en détail, et à ce jour, aucune donnée ne permet de connaître l'évolution de la limite sud de son aire de distribution en Afrique du Nord. Nous ne pouvons donc pas dire si l'aire s'étend réellement ou si elle se déplace. Enfin, une part d'incertitude sur les prévisions futures est liée aux adaptations, en particulier phénologiques, qui pourraient apparaître dans les populations de front. À travers la date d'émergence des adultes et la diapause prolongée, le cycle biologique de cet insecte peut évoluer localement et faire face à des contraintes climatiques variées. La processionnaire a en effet colonisé des milieux contrastés, soit à étés chauds (climat

méditerranéen : émergence tardive) soit à hivers froids (latitude et altitude élevées : émergence précoce, cycle biennal). En revanche, les régions où les deux pressions sont réunies conjointement (climat continental) ne sont pas propices à des populations à développement larvaire hivernal et paraissent difficilement colonisables. ■

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ BATTISTI A., STASTNY M., NETHERER S., ROBINET C., SCHOPF A., ROQUES A., LARSSON S. [2005]. Expansion of geographic range in the pine processionary moth caused by increased winter temperatures. *Ecol. Appl.* **15** : 2084-2096.
- ² BOUHOT-DELDUC L. [2005]. *Dynamique des populations de la processionnaire du pin et extension de son aire de colonisation de 1981 à 2004 en France. Bilan de la santé des forêts en 2004.* Rapport du Ministère français de l'Agriculture, 6 p.
- ³ DÉMOLIN G. [1969]. Comportement des adultes de *Thaumetopoea pityocampa* SCHIFF. Dispersion spatiale, importance écologique. *Annales des Sciences forestières* **26** : 81-102.
- ⁴ DÉMOLIN G., ABGRALL J.-F., BOUHOT-DELDUC L. [1996]. Évolution de l'aire de la processionnaire du pin en France. *Les cahiers du DSF* 1-1996, p. 26-28.
- ⁵ GOUSSARD F., SAINTONGE F.-X., GERI C., AUGER-ROZENBERG M.-A., PASQUIER-BARRE F., ROUSSELET J. [1999]. Accroissement des risques de dégâts de la processionnaire du pin, *Thaumetopoea pityocampa* DENIS & SCHIFF. en région Centre, dû au réchauffement climatique (*Lepidoptera, Thaumetopoeidae*). *Annales de la Société Entomologique de France* **35** : 341-343.
- ⁶ HOCH G., TOFFOLO E.P., NETHERER S., BATTISTI A., SCHOPF A. [2009]. Survival at low temperature of larvae of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* from an area of range expansion. *Agricultural and Forest Entomology* **11** : 313-320.
- ⁷ ROBINET C. [2006]. *Modélisation mathématique des phénomènes d'invasion en écologie : exemple de la chenille processionnaire du pin.* Thèse de l'EHESS, Paris, 210 p.
- ⁸ ROBINET C., BAIER P., PENNERSTORFER J., SCHOPF A., ROQUES A. [2007]. Modelling the effects of climate change on the potential feeding activity of *Thaumetopoea pityocampa* (DEN. & SCHIFF.) (*Lep., Notodontidae*) in France. *Global Ecology and Biogeography* **16** : 460-471.
- ⁹ ROBINET C., ROUSSELET J., GOUSSARD F., GARCIA J., ROQUES A. [2010]. *Modelling the range expansion with global warming of an urticating moth : a case study from France.* In : *Atlas of Biodiversity Risk.* Settele J. et al. (eds.), Pensoft Publishers, Sofia-Moscow, p. 86-87.
- ¹⁰ ROBINET C., IMBERT C.-E., ROUSSELET J., SAUVARD D., GARCIA J., GOUSSARD F., ROQUES A. [2010]. Warming up combined with the trade of large trees allowed long-distance jumps of pine processionary moth in Europe. *Biological Invasions* (Soumis).

CHRISTELLE ROBINET

christelle.robinet@orleans.inra.fr

JÉRÔME ROUSSELET

CHARLES-ÉDOUARD IMBERT

DANIEL SAUVARD

JACQUES GARCIA

FRANCIS GOUSSARD

ALAIN ROQUES

Unité de Recherches
de Zoologie Forestière,
INRA Orléans

2163, avenue de la Pomme de Pin
CS 40001 Ardon
F-45075 Orléans cedex 2

Human-mediated long-distance jumps of the pine processionary moth in Europe

Christelle Robinet · Charles-Edouard Imbert ·
Jérôme Rousselet · Daniel Sauvard · Jacques Garcia ·
Francis Goussard · Alain Roques

Received: 23 April 2010 / Accepted: 2 March 2011
© The Author(s) 2011. This article is published with open access at Springerlink.com

Abstract Although climate change is currently affecting the distribution of many species, insects are particularly impacted because of their high sensitivity to temperature. The pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa*, is a forest insect extending its distribution in response to climate warming. Some pioneer colonies were recently detected far beyond the main range, near Paris and in eastern France. This study tracked the origin and pathways of these pioneer colonies through a combined use of genetic markers, measurement of female flight capabilities, and comparative analyses of the natural enemy complexes. This study also aimed to determine the establishment capability beyond the main range, considering the survival rate during two recent cold periods. The larval survival rate was higher in pioneer colonies (which behave like urban heat islands) than in main range. The flight capacity of females would not have allowed them to come from the main range or the nearest established colonies, and molecular tools further showed that

individuals from at least three pioneer colonies were not assigned or similar to individuals at the edge of the main range. Egg parasitoids were absent while pupal parasitoids were present in the pioneer colonies suggesting an introduction at the pupal stage. These approaches provided strong evidence that this species has been accidentally moved near Paris and to eastern France, supporting the hypothesis of human-mediated transportation over natural dispersal. This type of dispersal was unexpected because of risks from urticating hairs and the easy detection of the species.

Keywords Climate change · Flight capacity · Genetic assignment tests · Human mediated dispersal · Invasion · Natural enemies · Urticating caterpillar

Introduction

Climate change has been shown to induce significant responses from insect species (Parmesan and Yohe 2003; Battisti et al. 2005; Parmesan 2006; Netherer and Schopf 2010; Robinet and Roques 2010). Although this change involves simultaneous and complex, non-linear variations in many environmental variables, the increase in air temperature has been the most studied and is likely to play a key role (Trenberth et al. 2007). Insects are essentially ectothermic organisms with their physiological processes highly sensitive to ambient temperatures (Beck

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s10530-011-9979-9) contains supplementary material, which is available to authorized users.

C. Robinet · C.-E. Imbert · J. Rousselet ·
D. Sauvard · J. Garcia · F. Goussard · A. Roques (✉)
INRA UR633 Zoologie Forestière, 2163 avenue de la
pomme de pin, CS 40001 Ardon, 45075 Orléans cedex 2,
France
e-mail: alain.roques@orleans.inra.fr

Published online: 18 March 2011

 Springer

Materials and methods

Description of pioneer colonies

Hereafter the term colony refers to a set of PPM nests located in a given area rather than the nest itself where the larvae develop gregariously. The discovery of such isolated colonies was reported by phytosanitary managers and the public, because national surveys to detect small and isolated pioneer colonies are too costly (in terms of individuals and time) (Table 1). Such reports were then confirmed by INRA scientists. Prior to 2008, six pioneer colonies were found; five in the vicinity of Paris (see Appendix S1) and one in Eastern France (Obernai) (Fig. 1; Table 1). These colonies were mainly located in urban areas, where the human population density is relatively high compared to the average density in France (about 100 inhabitants per km²) (Table 1). A large media effort to inform the public of the health hazard of PPM (because of the larval urticating hairs), and a subsequent national PPM survey (Leblond et al. 2010) means it unlikely that any other pioneer population escaped detection, especially colonies that might have acted as a bridge between the main range and already detected pioneer colonies.

Dispersal mechanism

Dispersal capabilities

PPM natural dispersal is directly dependent on the flight capacity of the females. To determine whether a

female can fly from the known range to the pioneer colonies, we (1) estimated their flight capacity and (2) calculated the distance a female needed to fly to reach these pioneer colonies.

- (1) Previously the female flight capacity has been estimated as varying from between a few hundred metres to more than two kilometres without any nearby suitable host trees (Démolin 1969; Devkota et al. 1992). However, the observed rate of PPM expansion in the Paris Basin (5.6 km per year between 1972 and 2004; Battisti et al. 2005) greatly exceeds these estimates. In reality the female flight capacity is poorly understood due to the difficulty of measuring it in the field. A flight mill adapted to the size and weight of the PPM adult female was therefore used to estimate its flight capacity under laboratory conditions. In March 2009, just before larval pupation, 40 nests were collected from the northern edge of the main range in the Paris Basin (west to Chartres within ten metres of 48°27'26"N; 1°27'6"E). The nests were maintained in outdoor conditions at the INRA laboratory (Orléans), where insects pupated. The emerging females were tested using flight mill in July 2009, and the cumulated flight distance over 24 h was measured for each female.
- (2) To determine whether the females could reach the pioneer colonies by themselves, we calculated the distance from the colony to (a) the main range and (b) the nearest other pioneer

Table 1 Description of pioneer colonies beyond the PPM main range

Location	Coordinates	First detection	Source	Human density
Bailly-Romainvilliers	48.85 N; 02.80 E	2003	INRA ^a	811
Nanterre	48.91 N; 02.22 E	2007	INRA ^a	6,572
Aubergenville	48.97 N; 01.85 E	2008	FREDON ^b	655
Eragny	49.02 N; 02.10 E	2008	Private individual	2,554
Saint-Maur-Des-Fossés	48.79 N; 02.50 E	2008	Private individual	2,659
Obernai	48.46 N; 07.50 E	2008	DSF ^c	329

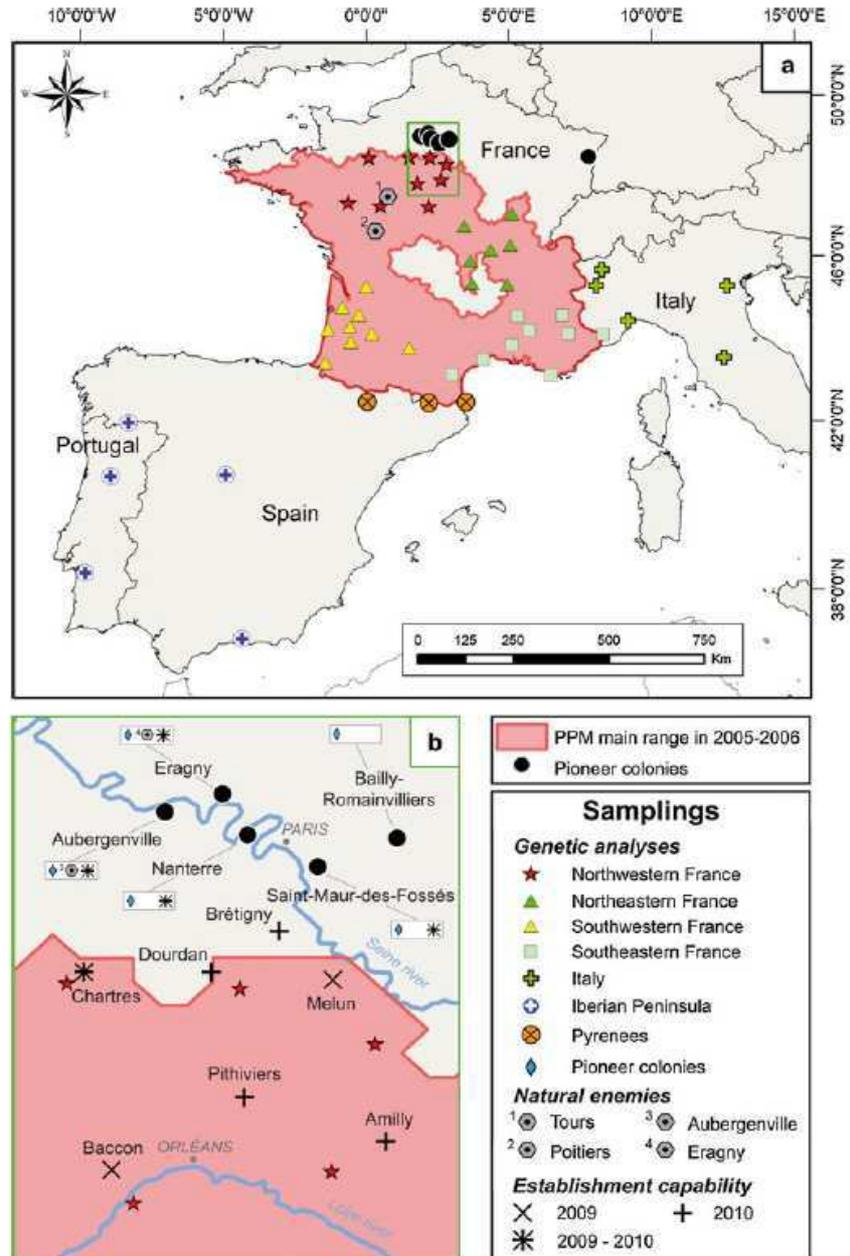
Grid references are means of infested trees at the first year of detection in decimal degrees. Establishment of these colonies may have taken place some years before their discovery. Human population density in 2005 at the given locations is expressed as the number of inhabitants per km² (source: Gridded Population of the World, <http://sedac.ciesin.columbia.edu/gpw>)

^a INRA: French National Institute for Agricultural Research

^b FREDON: French Regional Federation for the Defence against Pest Organisms

^c DSF: Forest Health Department of the French Ministry of Food, Agriculture and Fisheries

Fig. 1 a Experimental design: pioneer colonies detected up until 2008 and sampling sites for genetic analyses and investigation of natural enemies. The main range of PPM in mainland France is also represented (2005–2006 data, modified from Robinet et al. 2010). b Focus on locations near Paris and closeness of the PPM main range (delimited by the rectangle in figure (a)), with sample sites for the genetic analyses, investigation of natural enemies, and establishment capability. Where multiple symbols relate to a site these are contained in a white rectangle



colony. More precisely we calculated the distance between the edge of the main range recorded during the winter 2005–2006 (the most recent national estimate; Robinet et al. 2010) and the mean geographical coordinates of the infested trees in the first year of colony

detection. We then calculated the minimum distance between the mean geographical coordinates of the pioneer colony in the first year of detection and the coordinates of trees infested the years before in other pioneer colonies. For this purpose GIS software (ArcInfo 9.2; ESRI)

was used to transform the geographic coordinate system into the projected coordinate system 'Lambert 2 étendu' (French national grid system in metric units) and the distance calculated.

Genetic analyses

Genetic markers were used to assess whether the five pioneer colonies occurring near Paris originated from the nearest populations in the main range (i.e. the expansion area into north-western France), or came from further away. A total of 51 individuals from the pioneer colonies were genotyped for five nuclear microsatellite markers (for protocols see Rousselet et al. 2004). Three to 15 individuals were analyzed per population but only one individual per sampled tree. Furthermore, 20 individuals (four per population sample and one per tree) were sequenced for a fragment of the mitochondrial Cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene (see Rousselet et al. 2010). In order to assign these individuals to a likely source population, a total of 705 individuals were genotyped from seven areas in Western Europe for the same microsatellite loci. These seven groups were defined on the basis of the population genetic structure revealed in previous genetic studies (Salvato et al. 2002; Salvato et al. 2005; Kerdelhué et al. 2006; Santos et al. 2007; Kerdelhué et al. 2009; Rousselet et al. 2010). These groups were located in north-western France (135 individuals from nine populations), south-western France (135 individuals from nine populations), the Pyrenees (45 individuals from three populations), south-eastern France (135 individuals from nine populations), north-eastern France (105 individuals from seven populations), Italy (75 individuals from five populations), and the Iberian Peninsula (75 individuals from five populations) (Fig. 1). The Balkans and North Africa were not sampled. The coordinates of all sampling locations are given in the electronic supplementary material (Appendix S2).

In order to attribute each individual from the pioneer colonies to one of the four strongly geographically-structured maternal lineages described in Europe, mitochondrial DNA sequences were aligned using Bioedit 7.05 (Hall 1999) with the mitotype sequences previously published and deposited in Genbank (accession numbers GU385906-GU385951;

Rousselet et al. 2010). Each lineage can be characterized by the nucleotide occurring at the positions 634, 654, 724, 735, 736, 744 (see appendix S2 in Rousselet et al., 2010). Mitogroup A₁ is characterized by the combination T-T-C-C-C-C at these positions and is found in eastern France, Italy and Balkans. Mitogroup A₂ is characterized by T-T-C-C-T-C and is found in western France and in eastern Spain. Mitogroup A₃ is characterized by C-C-C-C-T-C and occurs in the Pyrenees. Mitogroup B is characterized by T-T-T-T-T-T and occurs in central and western Spain and in Portugal.

For microsatellite multilocus data, a Bayesian assignment test was carried out as implemented in GeneClass 2 software (Piry et al. 2004) to assign individuals to reference populations using the method of Rannala and Mountain (1997). Probability computations were calculated with 10,000 simulated individuals used in Monte Carlo re-sampling as recommended by Paetkau et al. (2004).

Natural enemies

The co-occurrence or disjunction between a species and its specialist natural enemies can provide additional information about the origin of pioneer colonies and, in some cases, can be helpful to discriminate between colonization pathways. Therefore, the presence/absence of natural enemies was assessed in two pioneer colonies near Paris (Eragny and Aubergenville) and compared to natural enemy populations from two colonies in the main range (Poitiers and Tours) (Fig. 1). This study focused on both egg and larval parasitoids because egg and larval parasitoids can strongly affect PPM populations. The egg parasitism rate can vary from 2 to 45% within a batch (Pimentel et al. 2010), with up to 100% of egg-masses being parasitized in a colony (Biliotti 1958), while the larval parasitism rate can reach 30% (Biliotti 1956). Egg-masses and winter nests were also relatively easy to collect compared to the short-lived adults and pupae buried in the soil.

- (1) Sixteen to twenty-five egg-masses were sampled in the four locations in September 2008 after the larvae hatched. Egg-masses were put singly in test tubes with a cotton stopper to collect emerging parasitoids. After parasitoid

emergence, the scales of the egg-masses were removed and the number of hatched larvae and emerged parasitoids was recorded (Tanzen and Schmidt 1995).

- (2) Ten to twenty PPM nests were sampled at the same four locations during winter 2009–2010 (except for Poitiers where ten nests were collected during winter 2008–2009) to compare the presence/absence of the specific larval-pupal parasitoid *Phryxe caudata* (Rondani, 1859) (Diptera: Tachinidae) between pioneer colonies and those located in the main range.

Establishment capability

PPM is sensitive to the severity and duration of the cold period, because it completes larval development in winter. The lethal temperature threshold is between approximately -10 and -16°C (Huchon and Démolin 1970; Battisti et al. 2005). Temperature thresholds associated with the larval feeding activity also contribute significantly to survival in the expansion area (Battisti et al. 2005; Robinet et al. 2007). Since the survival rate of populations decreases along the expansion gradient (Battisti et al. 2005), we explored the climatic suitability in the pioneer colony locations. More precisely, survival rates and temperatures during cold periods (which occurred in France in January 2009 and January 2010) were compared in the pioneer colonies and in the main range.

Two to five days after these cold periods (in late January), we collected some nests from the pioneer colonies (excluding Bailly-Romainvilliers because of low population density and Obernai because of access) and in the main range to compare the survival rates. In 2009, nests were collected at Eragny ($n = 5$), Aubergenville ($n = 5$), Nanterre ($n = 5$), Saint-Maur-des-Fossés ($n = 5$), but also in the main range, at Baccon ($n = 10$), Chartres ($n = 10$), Melun ($n = 10$). In 2010, nests were collected at Eragny ($n = 10$), Aubergenville ($n = 20$), Nanterre ($n = 10$), Saint-Maur-des-Fossés ($n = 5$), and also in the main range, at Amilly ($n = 10$), Brétigny ($n = 11$), Dourdan ($n = 13$), Chartres ($n = 10$), Pithiviers ($n = 10$), Tours ($n = 10$). The nests were then dissected in the laboratory and the number of living larvae and dead larvae were counted to calculate the survival rate.

The effect of these cold periods on survival rate was investigated using hourly temperatures provided by the French meteorological center, Météo-France (from January 1st to 11th, 2009 and from January 1st to 13th, 2010). For each sampling site, the nearest weather station with available information was selected to determine the absolute minimum temperature and the coldness severity (number of consecutive hours below 0°C and -10°C). Although, the survival rate was not estimated at Obernai, temperature data during these cold waves were included in the study.

Results

Dispersal mechanism

Dispersal capabilities

A total of 47 females were tested on the flight mill, but only 37 were capable of flying more than 50 m. Among these 11 (30%) flew farther than the 2 km maximum reported and 6 (16%) flew farther than 5 km (Fig. 2). The average flying distance was 1.7 km and the maximum distance recorded was 10.5 km.

The distance between pioneer colonies near Paris and the main range was 30–55 km, and even further (189 km) for Obernai (Table 2). The minimum distance from a pioneer colony near Paris to a previously established colony was 14 km. For Obernai, the minimum distance to a pioneer colony already established near Paris was 347 km.

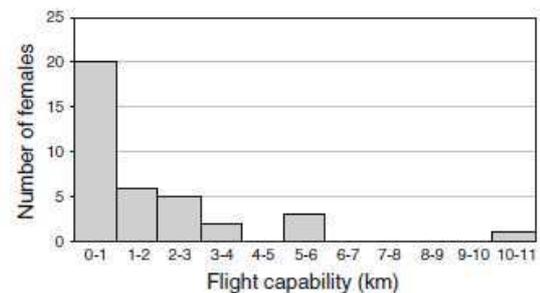


Fig. 2 Frequency distribution of the flight capabilities of females of PPM on a flight mill (24 h cumulated flight)

Genetic analyses

COI data All the sequenced individuals from Saint-Maur-des-Fossés, Nanterre and Bailly-Romainvilliers exhibited a mitotype from mitogroup A₂, which is found from south-eastern Spain to north-western France, more or less along the Greenwich meridian (see Rousselet et al. 2010). All the individuals from Eragny and Aubergenville exhibited a mitotype from mitogroup A₁, which is found from Italy to Eastern France, including the Alps, the Massif Central and the Rhône and Saône valleys.

Microsatellite data The multilocus assignment scores of each individual to the seven reference populations are given in Appendix S3 for the five pioneer colonies discovered beyond the north-western edge of PPM natural expansion near Paris. All the first rank scores were higher than 0.50, three-quarters were higher than 0.70 and more than one-third were higher than 0.90. For most individuals, they were much higher than those at the other ranks (see appendix S3), we therefore focussed on the total number of individuals assigned as first rank to each reference population (Fig. 3). In Saint-Maur-des-Fossés and Nanterre, most of the genotyped individuals were assigned to north-western France as first rank. In Eragny and Aubergenville, most of the individuals were assigned to Italy and south-eastern France, and to Italy and north-eastern France respectively. In Bailly-Romainvilliers, most of the individuals were assigned to the Iberian Peninsula and south-western France.

Natural enemies

The 84 egg-masses studied contained 19,731 eggs. Each egg-mass was wrapped around two needles of

Pinus nigra. Egg parasitoids were only found in colonies located in the main range. All the 34 egg-masses analysed from the pioneer colonies did not show any parasitoids (Table 3). In the main range, 44% of the collected egg-masses contained egg parasitoids at Poitiers and 36% at Tours, but the mean rate of parasitization of individual eggs was relatively low (around 3%). The hatching rate in the main range was slightly but not significantly lower than in pioneer colonies (94.6% vs. more than 97.5%; Mann-Whitney test $W = 589, P = 0.07$) (Table 3). After the analysis of meconium left in parasitized eggs, three species of egg parasitoids were identified. These were *Baryscapus servadeii* (Domenichini, 1965) (Hymenoptera: Eulophidae), *Ooencyrtus pityocampae* (Mercet, 1921) (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Trichogramma sp* (Hymenoptera: Trichogrammatidae).

The tachinid larval parasitoid, *Phryxe caudata*, was found in nests at all sampled sites. In the main range, 10–20% of the nests were parasitized by at least one tachinid fly compared to 15–30% in pioneer colonies.

Establishment capability

Following the cold periods, the population survival rate was generally higher in the pioneer colonies than in the main range (this result was significant in 2010: 82% compared to 54% on average, Mann-Whitney test $W = 1977, P < 0.01$, but not in 2009: 78% compared to 73%, $W = 376, P = 0.07$) (Tables 4, 5).

The absolute minimum temperature was higher in the pioneer colonies than in the main range (significant result in 2010: -7.7°C compared to -15.2°C on average, Mann-Whitney test $W = 16, P = 0.01$, but not in 2009: -10.8°C compared to -13.0°C , $W = 12, P = 0.11$). The number of consecutive hours below 0°C was not significantly different between pioneer

Table 2 Distance matrix (km) between pioneer colonies at first year of detection and the potential source of dispersers (pioneer colonies previously established and main range in 2005–2006)

Pioneer colony at first year of detection	Potential source of dispersers		
	Main range boundary	Bailly-Romainvilliers (2003)	Nanterre (2007)
Bailly-Romainvilliers (2003)	39.37		
Nanterre (2007)	42.44	43.36	
Aubergenville (2008)	50.54	71.38	27.97
Eragny (2008)	55.01	54.90	14.46
Obemai (2008)	189.36	347.55	391.83
Saint-Maur-des-Fossés (2008)	29.63	22.97	23.96

Years in brackets indicate the first PPM detection

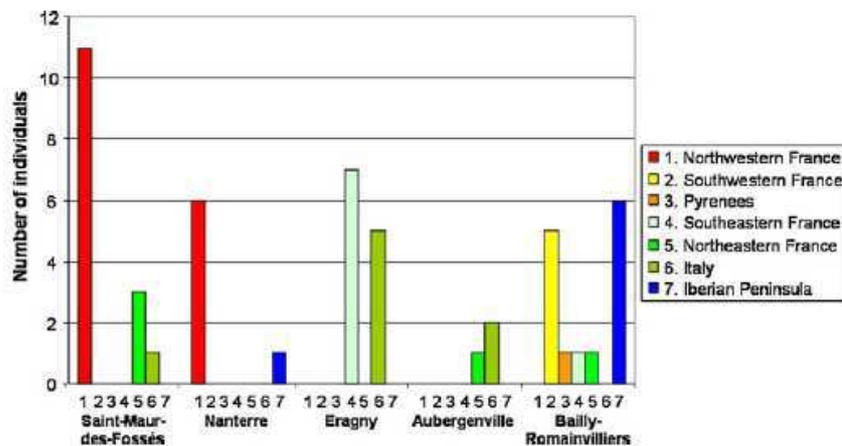


Fig. 3 Results of microsatellite assignment tests for the 51 individuals from the five pioneer colonies located near Paris to the seven western European regions. For each individual, only the reference population with the best assignment score is retained (first rank result), and, for each colony, the bars

represent the total number of individuals assigned as first rank to each reference population (see Appendix S3 for reference population scores from the second to the seventh rank for each individual)

Table 3 Parasitism of eggs and larval nests in the main range and in pioneer colonies

Sampling sites	Main range		Pioneer colonies	
	Poitiers	Tours	Eragny	Aubergenville
Number of egg-masses	25	25	16	18
Mean eggs per egg-mass	236	249	262	233
Rate of hatched larvae (%)	94.61	94.57	99.10	97.52
Rate of parasitized eggs (%)	2.84	3.33	0	0
Rate of parasitized egg-masses (%)	44	36	0	0
Number of nests	10	10	10	20
Rate of parasitized nests (%)	20	10	30	15

All samplings were carried out on *Pinus nigra*

colony locations and the main range (in 2010, 142 h on average in pioneer colonies and 195 h in the main range, and in 2009, 94.2 h compared to 114.2 h). However, the number of consecutive hours below -10°C was lower in the pioneer colony locations than in the main range (significant result in 2010: 0.2 h compared to 11.7 h on average, Mann–Whitney test $W = 0$, $P = 0.01$, and in 2009: 4.7 h compared to 12.5 h, $W = 0.5$, $P = 0.02$).

Discussion

Based on different approaches, this study provides strong evidence that pioneer colonies discovered near Paris and in Eastern France are the result of accidental human transportation of some individuals

and colony establishment was assisted by urban heated environments.

Coming farther than the edge of the main range

The estimated dispersal capacity of the female adults (10.5 km at most) was lower than the distance an individual would have to fly from the main range to reach these isolated locations (30–55 km and 189 km to the main range; Table 2). Therefore, it is unlikely that natural dispersal from the main range gave rise to a pioneer colony. Because the distance between pioneer colonies near Paris ranged from 14 to 71 km, possible natural dispersal cannot be excluded between certain pioneer colonies (i.e. Eragny and Nanterre). This was however unlikely because this between-colony distance exceeded the estimated flight capacity by 38%

Table 4 Temperature during the cold period in 2009 (Jan 1–11) and survival rates

	Location	Tmin	H0	H10	S
Pioneer colonies	Aubergenville	-13.7	55	9	75.9
	Eragny	-11.2	46	2	75.8
	Nanterre	-8.7	49	0	81.7
	Saint-Maur-des-Fossés	-11.2	56	5	79.1
	Obernai	-12.2	226	12	*
Main range	Chartres	-11.9	106	13	75.1
	Baccon	-12.5	107	12	70.5
	Melun	-13.8	189	16	74.0

Tmin represents the absolute minimum temperature (°C), H0 the number of consecutive hours below 0°C, H10 the number of hours below -10°C and S the survival rate (%)

*not measured

Table 5 Temperature during the cold period in 2010 (Jan 1–13) and survival rates

	Location	Tmin	H0	H10	S
Pioneer colonies	Aubergenville	-5.7	46	0	75.6
	Eragny	-5.7	46	0	92.3
	Nanterre	-5.7	117	0	82.5
	Saint-Maur-des-Fossés	-8.7	164	0	85.3
	Obernai	-10.7	242	1	*
Main range	Chartres	-14.9	228	12	56.9
	Dourdan	-19.9	184	15	59.6
	Brétigny	-19.9	184	15	32.6
	Pithiviers	-14.5	182	14	40.8
	Amilly	-11.7	185	6	72.0

Tmin represents the absolute minimum temperature (°C), H0 the number of consecutive hours below 0°C, H10 the number of hours below -10°C and S the survival rate (%)

*not measured

and each populations was assigned to a different source population (Fig. 3). While caution is needed when extrapolating lab-based estimates of flight capabilities to the dispersal capabilities in natural conditions (due to different behaviours of individuals and capability to measure the spread in the field), these new estimates are more consistent with the natural spread rate observed in the south of the Paris Basin (5.6 km per year; Battisti et al. 2005) than the maximum flight capabilities previously reported in literature (around 2 km; Démolin 1969).

Three of the five pioneer colonies probably originated from populations at least 260 km distant (see Appendix S3 and S4). In Eragny, Aubergenville and Bailly-Romainvilliers, no individual was genetically assigned as first rank to the nearest north-western populations of France (Fig. 1, 3). Eragny and Aubergenville colony mitochondrial and nuclear markers were congruent and indicated a much more eastern origin, possibly from south-eastern France or Italy according to the present dataset. For Bailly-Romainvilliers, the detected mitotype is found from Eastern Spain to north-western France (i.e. both in distant and close populations to the colonies), but the microsatellite markers clearly indicated an origin from south-western France or the Iberian Peninsula. The precise origin of all these three colonies still remains unclear probably because of large unsampled areas and the too low number of microsatellites which were used. Despite this the assignment scores to the north-western group are very weak for all the studied individuals (appendix S3).

Only two of the pioneer colonies probably originated from north-western France according to the assignment tests (not contradicted by mitochondrial data). However, the present data did not indicate whether they originated from the northernmost and nearest populations along the edge of the main range or from the southernmost or westernmost populations of the Paris Basin, a further tens of kilometres distant. Some colonies, especially at Saint-Maur-des-Fossés, could have been reached by males, whose flight distances are greater than those of females (Démolin 1969). It might be difficult therefore to track with confidence the precise origin of the colonies observed in north-western France several generations after a human-mediated translocation. Moreover, weak genetic differentiation or strong allele frequency distortion after bottleneck events can also blur things.

Potential pathway for long-distance jumps

If specific parasitoids found in pioneer colonies have been co-introduced with their host, the presence/absence of different parasitoid species associated with different developmental stages can help determine the stage of introduction and identify the potential pathway of spread. Since only the tachinid *Phryxe caudata*, a specific larval-pupal parasitoid, was detected in the pioneer colonies, this suggests that PPM was introduced at the larval or pupal stage. Indeed, the first

tachinid generation develops inside the 2nd to the 4th instar of its host, and the second generation parasitizes the last instar larvae to emerge from the pupae developing in the soil (Biliotti 1956; Géri 1980; Buxton 1990). Recently planted pine trees might shelter larvae, however PPM rarely attacks trees less than 4–5 years old. Also larvae living gregariously in silk nests are easy to detect and generally removed by managers because they are pests. Consequently, this pathway of introduction is unlikely and *Phryxe caudata* was probably introduced along with PPM pupae. An accidental transportation of egg-masses can be excluded because pine trees are not usually planted during the egg stage (in summer). This is consistent with the absence of egg parasitoids in pioneer colonies contrary to the main range. An accidental transportation of adults is possible too, but the short life-span of adult females (usually around 24 h; Démolin 1969) and the presence of parasitoids associated with larval stage, would suggest otherwise. It is most likely, therefore, that the pupal stage was accidentally introduced. Pupae are not easily detectable in the soil and may have been introduced with transplanted large trees moved with a large amount of soil. PPM can enter an extended diapause at the pupal stage, staying several years in the soil, which also increases the probability of accidental movement of the insect at this stage (Géri 1980).

Pupal movement was probably responsible for the introduction of the related oak processionary moth, *Thaumetopoea processionea* (Linnaeus) (Lepidoptera: Notodontidae), from Continental Europe into the United Kingdom (Evans 2008). Evans (2010) argued that the likelihood of pests being present increases dramatically if soil remains associated with the host plant, particularly for potted plants and, especially, for large rootballed specimens. Root balling is considered as 'an ecosystem in a pot', with most of the associated organisms being also transported hidden and of unknown identity.

Better climatic conditions in urban areas

Following the cold periods recorded during the winters between 1986 and 1988 and in 1994, PPM populations crashed suddenly in the main range (Bouhot-Delduc 2005a), and PPM distribution retracted from northern and mountainous locations (Bouhot-Delduc 2005b). In contrast, the pioneer colonies located near Paris far beyond the main

range better survived the cold winters in 2009 and 2010 than those of the main range. Pioneer colony winter larval survival ranged from 76 to 92% in these years. Colony localities near Paris and to some extent at Obernai, are in urban areas of dense human population which behave like heat islands that may have enhanced the establishment success of the new colonies. Although PPM is mainly a forest insect, isolated urban trees in private gardens, in parks, along roads, or on roundabouts are exposed to the sun and highly suitable for the insect. This forest pest has therefore become an urban nuisance.

The mean temperature increase over the last few decades has made the climate more favourable for PPM establishment outside the main range in France and Italy (Battisti et al. 2005; Robinet et al. 2007), and probably in many other European countries. The Paris Basin was known to be favourable for the winter survival of the species (Robinet et al. 2007). Consequently, an accidental transportation of some individuals near Paris via human activities could have been an introduction and establishment pathway for some time. Why these pioneer colonies were only discovered in the 2000s remains unclear.

Greater dispersal capabilities

The rate of natural invasion of PPM into new areas mediated by warming climates (suggested by Kerr 2009) and urban heat islands depends on its dispersal capability. This study provides strong evidence, however, that human-mediated dispersal can create satellite populations and accelerate PPM spread. In the future, it will be important to quantify this chance of accidental transportation to predict these long-distance jumps and the expansion of the species' distribution. Furthermore, these jumps may also occur within the main range of PPM because the diffusion coefficient (rate of spread) was relatively high in the Paris Basin between 2007 and 2009 (Roques et al. 2011).

More generally, this example for PPM, where there has been a natural range shift from combined human transfer to climatically-favourable new habitats leading to continuously enlarging populations, shows that distinguishing between native and alien species may become increasingly difficult with continued climate change (Walther et al. 2009). This study also demonstrates the interest of using genetic markers and individual-based assignment tests to

separate long-distance human-assisted spread from the natural dispersal capacity of the species and for the development of more effective pest surveillance. This approach is of particular interest for species such as PPM, which via their urticating hairs can affect human health near such pioneer colonies.

Acknowledgments We greatly acknowledge support for this work from the FP7 EU project PRATIQUE KBBE-2007-212459 (*Enhancements of pest risk analysis techniques*; Baker et al. 2009; <https://secure.fera.defra.gov.uk/pratique/index.cfm>), the FP7 EU project BACCARA KBBE-2008 (*Biodiversity and climate change, a risk Analysis*; <http://www.baccara-project.eu/>), the URTICLIM project “*Anticipation des effets du changement climatique sur l’impact écologique et sanitaire d’insectes forestiers urticants*” of the French ‘Agence Nationale de la Recherche’ (ANR 07BDIV 013), the FAST project (*Analyse des évolutions régionalisées de la forêt métropolitaine face aux aléas climatiques et biotiques, avec des scénarios de gestion forestière d’atténuation et d’adaptation*) of the French Ministry of Ecology and Sustainable Development, and the DGFAR project of the French Ministry of Agriculture (N°59-02 E13/05). We thank Météo-France for providing hourly temperatures during the cold waves. The authors are indebted to Jean-Claude Martin, René Mazet, Pierre Ménassieu, Hervé Jactel, Patrick Pineau, Jean Poirot, Andrea Battisti, Helena Santos, Manuela Branco, Ramón González Ruiz, María J. Lombardero for their help in collecting samples. We are also very grateful to Emmanuelle Magnoux, Claudine Courtin, Géraldine Goupil, Sophie Delamaire, Yeliz Yildiz, Nese Kaplan, Magalie Devavry, Antoine Daunay, Ruixing Zhao, Stéphanie François, Romain Leroux, Laure Maudemain, Elisa Prat for lab technical assistance, to Olivier Denux for creating the GIS map, to Patrick Pineau and Jean-Paul Raimbault for counting the larvae collected during the cold waves, to Jean Poirot, Céline Magen, Patrick Scepti, and Mr Lalliaume for reporting the presence of a colony at Obernai, Aubergenville, Saint-Maur-Des-Fossés, and Eragny, respectively. A special thanks to Hubert Pauly and François-Xavier Saintonge (DSF) for the insect surveillance and precious help. We gratefully acknowledge Carole Kerdelhué and Marie-Anne Auger-Rozenberg for useful comments, and the guest editor and the anonymous reviewers for their suggested corrections.

Open Access This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited.

References

Andrewartha HG, Birch LC (1984) *The ecological web: more on the distribution and abundance of animals*. University of Chicago Press, Chicago

Baker RHA, Battisti A, Bremmer J et al (2009) PRATIQUE: a research project to enhance pest risk analysis techniques in the European Union. *EPPPO Bull* 39:93–97

Battisti A, Stastny M, Netherer S, Robinet C, Schopf A, Roques A, Larsson S (2005) Expansion of geographic range in the pine processionary moth caused by increased winter temperatures. *Ecol Appl* 15:2084–2096

Battisti A, Holm G, Gafrell B, Larsson S (2011) Urticating hairs in arthropods: their nature and medical significance. *Annu Rev Entomol* 56:203–220

Beck SD (1983) Insect thermoperiodism. *Annu Rev Entomol* 28:91–108

Biliotti E (1956) Biologie de *Phryxe caudata* Rondani (Dipt. Larvaevoridae) parasite de la processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff). *Rev Path Veg Entomol Agric France* 35:50–65

Biliotti E (1958) Les parasites et prédateurs de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera). *Entomophaga* 3:23–34

Bouhot-Delduc L (2005a) La gradation de la chenille processionnaire du pin a culminé sur la façade atlantique lors de l’hiver 2003–2004. La santé des forêts (France) en 2004. French Ministry of Agriculture and Fisheries, Paris

Bouhot-Delduc L (2005b) Dynamique des populations de la processionnaire du pin et extension de son aire de colonisation de 1981 à 2004 en France. La santé des forêts (France) en 2004. French Ministry of Agriculture and Fisheries, Paris

Buffo E, Battisti A, Stastny M, Larsson S (2007) Temperature as a predictor of survival of the pine processionary moth in the Italian Alps. *Agric For Entomol* 9:65–72

Buxton RD (1990) The influence of host tree species on timing of pupation of *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lep., Thaumetopoeidae) and its exposure to parasitism by *Phryxe caudata* Rond. (Dipt., Larvaevoridae). *J Appl Ent* 109:302–310

Démolin G (1969) Comportement des adultes de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. Dispersion spatiale, importance écologique. *Ann For Sc* 26:81–102

Devkota B, Breuer M, Schmidt GH (1992) Observations on the flight activity of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Den. and Schiff.) in Greece using synthetic sex-pheromone and light traps (Insecta: Lepidoptera: Thaumetopoeidae). *Boll Zool Agr Bachic* 24:147–157

Evans H (2008) Increasing global trade and climate change: co-factors increasing the international movement and establishment of forest pests. In: *Alien invasive species and international trade*, 2nd meeting of IUFRO working unit 7.03.12, 26–30 May 2008. National conservation training center, Shepherdstown, WV, USA. Available at [http://www.forestry.gov.uk/pdf/IUFRO_Shepherdstown_Evans_Trade_and_Climate_Change.pdf/\\$FILE/IUFRO_Shepherdstown_Evans_Trade_and_Climate_Change.pdf](http://www.forestry.gov.uk/pdf/IUFRO_Shepherdstown_Evans_Trade_and_Climate_Change.pdf/$FILE/IUFRO_Shepherdstown_Evans_Trade_and_Climate_Change.pdf)

Evans H (2010) Pest risk analysis—organisms or pathways? *NZ J For Sc* 40(suppl):35–44

Géri C (1980) Application des méthodes d’études démécologiques aux insectes défoliateurs forestiers. Cas de *Diprion pini* L. (Hyménoptère: Diprionidae). Dynamique des populations de la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lépidoptère: Thaumetopoeidae) dans l’île de Corse. PhD thesis, University of Paris-Sud Orsay

Gilbert M, Gregoire J-C, Freise JF, Heitland W (2004) Long-distance dispersal and human population density allow the prediction of invasive patterns in the horse chestnut leafminer *Cameraria ohridella*. *J Anim Ecol* 73:459–468

- Hall TA (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser* 41:95–98
- Huchon H, Démolin G (1970) La bioécologie de la processionnaire du pin. Dispersion potentielle—dispersion actuelle. *Rev For Fr* 22:220–233 (special issue “La lutte biologique en forêt”)
- Kerdelhué C, Magnoux E, Lieutier F, Roques A, Rousset J (2006) Comparative population genetic study of two oligophagous insects associated with the same hosts. *Heredity* 97:38–45
- Kerdelhué C, Zane L, Simonato M, Salvato P, Rousset J, Roques A, Battisti A (2009) Quaternary history and contemporary patterns in a currently expanding species. *BMC Evol Biol* 9:220
- Kerr RA (2009) What happened to global warming? Scientists say just wait a bit. *Science* 326:28–29
- Klein Tank AMG, Wijngaard JB, Können GP et al (2002) Daily dataset of 20th-century surface air temperature and precipitation series for the European Climate Assessment. *Int J Climatol* 22:1441–1453. Data and metadata available at <http://eca.knmi.nl>
- Koch FH, Yemshanov D, McKenney DW, Smith WD (2009) Evaluating critical uncertainty thresholds in a spatial model of forest pest invasion risk. *Risk Anal* 29:1227–1241
- Leblond A, Martin J-C, Napoléone C, Geniaux G, Robinet C, Provendier D, Gutleben C (2010) La processionnaire du pin vue par ses gestionnaires. Une enquête auprès des communes françaises donne un nouveau regard sur ce ravageur. *Phytoma* 633:18–23
- Liebholt AM, Tobin PC (2008) Population ecology of insect invasions and their management. *Annu Rev Entomol* 53:387–408
- Muirhead JR, Leung B, van Overdijk C et al (2006) Modelling local and long-distance dispersal of invasive emerald ash borer *Agrilus planipennis* (Coleoptera) in North America. *Divers Distrib* 12:71–79
- Netherer S, Schopf A (2010) Potential effects of climate change on insect herbivores in European forests—General aspects and the pine processionary moth as specific example. *For Ecol Manage* 259:831–838
- Neubert MG, Caswell H (2000) Demography and dispersal: calculation and sensitivity analysis of invasion speed for structured populations. *Ecology* 81:1613–1638
- Paetkau D, Slade R, Burden M, Estoup A (2004) Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Mol Ecol* 13:55–65
- Parnes C (2006) Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 37:37–69
- Parnes C, Yohe G (2003) A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* 421:37–42
- Parnes C, Ryrholm N, Stefanescu C et al (1999) Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming. *Nature* 399:579–583
- Pimentel C, Ferreira C, Nilsson J-A (2010) Latitudinal gradients and the shaping of life-history traits in a gregarious caterpillar. *Biol J Linn Soc* 100:224–236
- Piry S, Alapetite A, Comuet J-M, Paetkau D, Baudouin L, Estoup A (2004) GeneClass2: a software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *J Hered* 95:536–539
- Rannala B, Mountain JL (1997) Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 4:9197–9201
- Robinet C, Roques A (2010) Direct impacts of recent climate warming on insect populations. *Integr Zool* 5:132–142
- Robinet C, Baier P, Pennerstorfer J, Schopf A, Roques A (2007) Modelling the effects of climate change on the potential feeding activity of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Lep., Notodontidae) in France. *Glob Ecol Biogeogr* 16:460–471
- Robinet C, Roques A, Pan HY, Fang GF, Ye JR, Zhang YZ, Sun JH (2009) Role of human-mediated dispersal in the spread of the pinewood nematode in China. *PLoS One* 4(2):e4646. doi:10.1371/journal.pone.0004646
- Robinet C, Rousset J, Goussard F, Roques A (2010) Modelling the range expansion of an urticating moth with global warming: a case study from France. In: Settele J (ed) Atlas of biodiversity risks—from Europe to the globe, from stories to maps. Pensoft, Sofia, pp 82–83
- Roques L, Soubeyrand S, Rousset J (2011) A statistical-reaction-diffusion approach for analyzing expansion processes. *J Theor Biol* 274:43–51
- Rousset J, Magnoux E, Kerdelhué C (2004) Characterization of five microsatellite loci in the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera Notodontidae Thaumetopoeinae). *Mol Ecol Notes* 4:213–214
- Rousset J, Zhao R, Argal D, Simonato M, Battisti A, Roques A, Kerdelhué C (2010) The role of topography in structuring the demographic history of the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Notodontidae). *J Biogeogr*. doi:10.1111/j.1365-2699.2010.02289.x
- Salvato P, Battisti A, Concato S, Masutti L, Patarnello T, Zane L (2002) Genetic differentiation in the winter pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa*—*wilkinsoni* complex), inferred by AFLP and mitochondrial DNA markers. *Mol Ecol* 11:2435–2444
- Salvato P, Simonato M, Zane L, Patarnello T, Masutti L, Battisti A (2005) Do sexual pheromone traps provide biased information of the local gene pool in the pine processionary moth? *Agric For Entomol* 7:127–132
- Santos H, Rousset J, Magnoux E, Paiva MR, Branco M, Kerdelhué C (2007) Genetic isolation through time: allochronic differentiation of a phenologically atypical population of the pine processionary moth. *Proc R Soc London Ser B* 274:935–941
- Sharov AA, Liebhold AM (1998) Model of slowing the spread of gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) with a barrier zone. *Ecol Appl* 8:1170–1179
- Shigesada N, Kawasaki K (1997) Biological Invasions: theory and practice. Oxford University Press, New York
- Tanzen E, Schmidt GH (1995) Identification by meconia of four species of egg parasitoids of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) (Insecta, Lepidoptera, Notodontidae). *Boll Zool Agric Bachic Ser II* 27:61–70
- Trenberth KE, Jones PD, Ambenje P et al (2007) Observations: surface and atmospheric climate change. In: Solomon S

et al (eds) *Climate change 2007: the physical science basis. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the inter governmental panel on climate change*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 235–336

Walther GR, Post E, Convey P et al (2002) Ecological responses to recent climate change. *Nature* 416:389–395

Walther GR, Roques A, Hulme PE et al (2009) Alien species in a warmer world: risks and opportunities. *Trends Ecol Evol* 24:686–693

Charles-Edouard IMBERT

**Expansion d'un ravageur forestier sous l'effet du réchauffement climatique :
la processionnaire du pin affecte-t-elle la biodiversité entomologique
dans les zones nouvellement colonisées ?**

Résumé

Sous les latitudes tempérées, les aires de distribution respectives des espèces d'insectes sont généralement conditionnées par les températures hivernales au travers de seuils minimaux de tolérance pour la survie et le développement. Ainsi, le déplacement des aires de répartition est un des effets les plus notables du réchauffement climatique sur les espèces sensibles au froid. Cependant, les conséquences de la colonisation de nouveaux milieux par les espèces en expansion, notamment sur les interactions interspécifiques restent largement inexplorées. La processionnaire du pin est un ravageur d'origine méditerranéenne, dont l'aire de répartition s'est considérablement étendue vers le nord et en altitude ces deux dernières décennies. Cette expansion est liée à la hausse des températures hivernales qui permet une meilleure survie des colonies se développant durant cette période. Notre étude s'est développée autour de deux axes de recherches : (1) la réponse des ennemis naturels à l'expansion de leur hôte ; (2) l'impact de la colonisation sur une espèce protégée inféodée à la même ressource alimentaire, l'Isabelle de France. Nos résultats ont montré que dans les zones nouvellement colonisées, la processionnaire du pin est libérée de la pression de ses parasitoïdes oophages. Ainsi, au niveau du front d'expansion, une femelle de processionnaire du pin produira plus de descendants que dans le cœur de son aire de répartition. De plus, la défoliation par la processionnaire du pin a un effet négatif sur le développement des chenilles d'Isabelle de France. Nos résultats contribuent à comprendre les causes de l'expansion de ce ravageur forestier et ses conséquences sur les espèces autochtones des zones nouvellement colonisées.

Mots clés : changement climatique, expansion, *Thaumetopoea pityocampa*, *Actias isabellae*, parasitoïdes, ERH, compétition

**Expansion of a forest pest with climate warming up : does pine processionary
moth affects the entomological biodiversity in the newly- colonized areas ?**

Abstract

Under temperate latitudes, low temperature is usually a key factor constraining the distribution of insects species through minimal thresholds required for survival and development. Thus, range shift is one of the striking effects of global warming observed in a number of cold- sensitive species. However, the consequences of such range shifts on inter-specific interactions are largely unexplored. The winter-developing pine processionary moth originated from the Mediterranean Basin but expanded considerably its range distribution towards higher latitudes and altitudes over the last two decades. This range expansion is clearly associated with better winter survival and enhanced feeding activity related to climate warming. Two research topics were developed in our study : (1) the response of natural enemies to an expanding host ; (2) the impact of the colonisation of new areas on an endangered moth species exploiting the same host tree, the Spanish moon moth. Our results show that in newly- colonized areas, pine processionary moth is released from its egg-parasitoids. Thus, near the expansion front, a female pine processionary moth will have more offspring than in the core of its distribution range. Moreover, previous tree defoliation by the pine processionary moth has a negative effect on the development of Spanish moon moth larvae. Our results contribute to understand the causes of the expansion of this forest pest and its consequences on species previously inhabiting the newly- colonized areas.

Keywords : climate change, expansion, *Thaumetopoea pityocampa*, *Actias isabellae*, parasitoids, ERH, competition



Unité de Zoologie Forestière
INRA - Centre de recherche d'Orléans - 2163
Avenue de la Pomme de Pin - CS 40001 ARDON -
45075 ORLEANS Cedex 2

