



HAL
open science

Caractérisation des traits biologiques du moustique invasif *Aedes japonicus japonicus* (Theobald) (Diptera: Culicidae) dans le Nord-Est de la France

Eva Krupa

► **To cite this version:**

Eva Krupa. Caractérisation des traits biologiques du moustique invasif *Aedes japonicus japonicus* (Theobald) (Diptera: Culicidae) dans le Nord-Est de la France. Médecine humaine et pathologie. Université de Strasbourg, 2021. Français. NNT : 2021STRAJ058 . tel-03719538

HAL Id: tel-03719538

<https://theses.hal.science/tel-03719538>

Submitted on 11 Jul 2022

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 des Sciences de la Vie et de la Santé

UR 7292 : Dynamique des interactions hôtes pathogènes (DIPH)

THÈSE présentée par :

Eva KRUPA

Soutenue le : 25 novembre 2021

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Strasbourg**

Discipline/ Spécialité : Sciences de la vie et de la santé / Entomologie médicale

**Caractérisation des traits biologiques du
moustique invasif *Aedes japonicus japonicus*
(Theobald) (Diptera : Culicidae) dans le Nord-
Est de la France.**

THÈSE dirigée par :

M. MATHIEU Bruno

Ingénieur d'études, Université de Strasbourg

RAPPORTEURS :

Mme. DESPRES Laurence

Professeur, Université de Grenoble

Mme. SUPPO Christelle

Professeur, IRBI, CNRS, Université de Tours

AUTRES MEMBRES DU JURY :

M. MAROIS Éric

Chargé de recherche, INSERM, Université de Strasbourg

M. DEPAQUIT Jérôme

Professeur, Université de Reims

Mme. DUSFOUR Isabelle

Chargée de recherche, Institut Pasteur

À Jeanne et Ermanno, partis trop tôt

Remerciements

Ma première pensée vient au Pr Ermanno CANDOLFI qui m'a accueilli au sein de l'Institut de Parasitologie et de Pathologie Tropicale (IPPTS) qu'il a dirigé passionnément jusqu'à son dernier souffle en Mai 2019. Merci à M. Alexander PFAFF d'avoir pris la relève et d'avoir été attentif. Enfin, je remercie le Pr Didier MENARD, actuel directeur, pour son intérêt pour l'entomologie.

Remerciement au programme Interreg V Rhin Supérieur dont le projet n°11.7 TIGER a permis le financement de l'ensemble de ces travaux.

Un immense merci à M. Bruno MATHIEU, directeur de thèse, qui, avant même le début de la thèse, m'a intégré au projet TIGER. Merci pour la confiance accordée pour mener à bien cette thèse et toutes les autres missions. Je le remercie pour sa disponibilité, sa bienveillance, tous ses bons conseils avisés et pour tout ce qu'il m'a transmis. Merci également pour tout le travail de relecture. Ces années ont été formidables grâce à toi et tous les bons moments partagés.

Je tiens ensuite à remercier l'ensemble des membres du jury de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail. Pour toute leur attention et les riches échanges lors de cette journée de soutenance de thèse, dans un contexte particulier, je remercie vivement Jérôme DEPAQUIT pour avoir présidé ce jury, mesdames Laurence DESPRES et Christelle SUPPO, mes deux rapporteurs, ainsi que Éric MAROIS, Isabelle DUSFOUR et Thierry BALDET, membre invité. Je les remercie pour tous leurs conseils avisés, et notamment pour la révision de ce manuscrit, conseils qui ont grandement contribué à son amélioration.

Je voudrais remercier toutes les personnes que j'ai pu côtoyer à l'Institut de Parasitologie et Pathologie Tropical de Strasbourg et qui m'ont si bien accueilli, et particulièrement Mme Lydia ARNOUX, Mme Julie BRUNET, Mme Estérina HOFFMANN et Mme Cécile LANG.

Mes remerciements à M. Guillaume LACOUR et M. Pie MULLER, membres du comité de suivi de thèse, qui m'ont aiguillé pendant ces 3 ans, ainsi qu'à Mme Myriam MAUMY-BERTAND et Frédéric BERTRAND, pour leur aide pour la partie de modélisation.

Merci à tous les membres de l'équipe TIGER et du laboratoire d'entomologie médicale, et en particulier :

À Anaïs KOPF, ma partenaire de thé, ma collègue, mon amie.

À Nicolas HENON, pour avoir passé autant de temps à l'insectarium avec moi. Tes photographies sont toujours un régal pour les yeux.

À Alexa-Lou GRÉHAL, que j'ai eu la joie d'encadrer. Merci de t'être aventurée avec nous sur l'étude de la dispersion. À ce fameux moustique qui ne voulait jamais s'arrêter.

À Anne-Sophie SOSSON, qui m'a permis de lire autre chose que des articles scientifiques.

Ainsi qu'à toutes les personnes qui sont venues travailler dans notre cher laboratoire d'entomologie médicale : Alexis BERGERON, Emilie DRECHSLER, Mélinda FRANCOIS, Anna GRAFFMANN et Cloé PORTAL. J'ai été ravie de partager cette aventure avec vous, merci pour vos coups de mains et votre bonne humeur.

Je remercie chaleureusement tous mes collègues du SLM67 du bureau d'à côté. J'ai été ravie de travailler avec vous, et notamment sur le terrain. Vous avez grandement contribué à la bonne ambiance que j'ai ressentie pendant ma thèse. Je les remercie également de m'autoriser à présenter leurs données et leurs cartes qui ont réalisés et qui sont présentés dans ce manuscrit. Christelle BENDER, Ophélie ADIER, Tristan CORNEN, Christophe DEIS, Olivia RENOUX, Lucas VOGEL mais aussi Julien BRUN, Emilie BUSSON, Laura DA SILVA, Jérémy ESNAULT, Arnaud GOEPP, Jean-Martin HECK, Pauline MOMOT, Olivier POMPIER et Françoise PFIRSCH, vous êtes formidables.

Mes remerciements enfin à mes amis et à l'ensemble de ma famille, toujours d'un immense soutien, merci pour vos encouragements et l'intérêt que vous avez porté sur cette thèse.

Table des matières

Chapitre I. Introduction	1
Partie A : Généralités.....	1
1. Les moustiques.....	1
a. Cycle de vie.....	1
b. Morphologie.....	2
2. Le concept des traits d’histoire de vie et leur utilité	3
a. Les traits biologiques.....	3
b. Description des principaux traits	4
c. Syndrome des traits d’histoire de vie.	4
3. Les espèces invasives	5
a. Définition.....	5
b. Facteurs favorables à l’invasion	5
c. Les moustiques invasifs en Alsace.....	7
Partie B : Espèces invasives dans l'espace du Rhin supérieur.....	7
1. Situation des moustiques invasifs dans l'espace du Rhin supérieur.....	7
2. Les moustiques invasifs en Alsace	8
3. Distribution des moustiques invasifs dans le Bas-Rhin.....	9
Partie C : <i>Aedes japonicus</i> , une espèce encore à caractériser	12
1. Sous-espèces et description de l’espèce.....	12
2. De son aire d’origine à la colonisation du monde.....	13
3. La biologie d’ <i>Aedes japonicus</i>	17
a. Influence de la température	17
b. Préférences trophiques	18
c. Préférence de gîtes de repos	20
d. Préférence de sites de pontes.....	20
e. Fécondité.....	21
f. Compétition.....	22
g. Passage de l’hiver	24
h. Dispersion.....	25
i. Rôle vecteur d’ <i>Ae. japonicus</i>	26

j. Conclusion	27
Partie D. Objectifs.....	28
Objectif principal	28
Objectifs spécifiques et structure de cette thèse	28
Références.....	30
Chapitre II. Caractérisation moléculaire d' <i>Ae. japonicus</i> présente dans le Bas-Rhin.	51
Introduction.....	51
Matériel et Méthodes	52
Résultats.....	54
1. Barcoding.....	54
2. Analyse du COII et de NAD4	56
Discussion	59
Références.....	61
Chapitre III. Caractérisation des capacités de dispersion d' <i>Ae. japonicus</i>	64
Introduction.....	64
Matériel et méthodes	65
Résultats.....	67
Synthèse et perspectives.....	67
Références.....	69
Chapitre IV. Caractérisation des stades immatures d' <i>Ae. japonicus</i>	81
Introduction.....	81
Matériel et méthodes	81
Résultats.....	82
Synthèse et perspectives.....	83
Références.....	84
Chapitre V. Modélisation de la dynamique de population d' <i>Ae. japonicus</i>	100
Caractérisation des traits d'histoire de vie	100
Introduction.....	100
Matériel et méthodes	100
Résultats.....	101
1. Stades immatures.....	101
2. Imagos	105

Discussion	106
Références.....	107
Une approche mécanistique	108
Introduction.....	108
Matériel et méthodes	108
Résultats.....	110
1. Ajustement des valeurs des paramètres.....	110
2. Exploration de l'influence de la diapause dans la modélisation	113
Discussion	115
Références.....	117
Chapitre VI. Discussion et conclusion	119
Bioécologie de l'invasion.....	119
Paramètres importants du succès d'invasion	120
1. Dispersion.....	120
Encart informatif n°1 : captivité en laboratoire.....	124
2. Diapause.....	125
3. Traits d'histoire de vie.....	127
4. Dynamique de population et modélisation	129
Conclusion objectif principal	130
Bibliographie	202

Liste des tableaux

Tableau 1. Durée de développement d' <i>Ae. japonicus</i> en fonction de la température.....	18
Tableau 2. Liste des hôtes sur lequel <i>Ae. japonicus</i> a pris ses repas de sang.....	19
Tableau 3. Nombre d'œufs produits par femelle d' <i>Ae. japonicus</i>	21
Tableau 4. Mesure de la veine R1 d'ailes d' <i>Ae. japonicus</i> et lien avec la fécondité.....	22
Tableau 5. Haplotypes observés pendant notre étude	58
Tableau 6. Nombre de jours d'immersion nécessaire à l'éclosion des larves L1 d' <i>Ae. j. japonicus</i>	102
Tableau 7. Durée de développement larvaire d' <i>Ae. j. japonicus</i> entre les stades L1 et L4 inclus.....	103
Tableau 8. Durée de développement aquatique d' <i>Ae. j. japonicus</i> jusqu'au stade nymphale.....	103
Tableau 9. Taux de mortalité des stades immatures d' <i>Ae. j. japonicus</i>	105

Liste des tableaux présentés en annexes :

Tableau 10. Première détection d' <i>Ae. japonicus</i> dans les différents états d'Amérique du Nord.....	155
Tableau 11. Première détection d' <i>Ae. japonicus</i> dans les différents pays d'Europe.....	163
Tableau 12. Amorces utilisées	170
Tableau 13. Numéro d'accession des séquences utilisées	174
Tableau 14. Haplotype de NAD4 et leur présence dans le monde	178
Tableau 15. Additional file 1 – Table 1. Sample size for morphological measurement, hatching success rate, mortality rate and diapause incidence.....	184
Tableau 16. Additional file 1 – Table 2. Morphological parameters on two groups of eggs.....	189
Tableau 17. Additional file 2. Table 1. Details of morphological metrics measured on <i>Ae. japonicus</i> eggs.....	192

Tableau 18. Additional file 2 – Table 2. Sample size for morphological measurements, hatching success rate, mortality rate and diapause incidence.....	193
Tableau 19. Matrice reportant la significativité des tests de Wilcoxon (ajustés par la méthode de Bonferroni) entre les températures.....	194
Tableau 20. Significativité des tests de Wilcoxon (ajustés par la méthode de Bonferroni) entre les semaines de récoltes des œufs	195
Tableau 21. Tableau de synthèse des avantages et inconvénients.....	196

Liste des figures

Figure 1. Cycle biologique du moustique, exemple d' <i>Aedes albopictus</i>	2
Figure 2. Présence du moustique tigre dans le Bas Rhin en 2019.....	10
Figure 3. Présence d' <i>Ae. japonicus</i> dans le Bas Rhin en 2021.....	11
Figure 4. Imago d' <i>Ae. j. japonicus</i>	13
Figure 5. Présence d' <i>Ae. japonicus</i> sur le continent Nord-américain.....	14
Figure 6. Présence d' <i>Ae. japonicus</i> en Europe.....	16
Figure 7. Oeufs d' <i>Ae. japonicus</i>	25
Figure 8. Traits d'histoire de vie classés selon le stade qu'ils impactent	27
Figure 9. Photographie de la révélation de la migration des produits PCR.....	53
Figure 10. Arbre bayésien issu de l'analyse phylogénétique pour le marqueur COI.....	55
Figure 11. Arbre phylogénétique bayésien du COII	56
Figure 12. Arbre phylogénétique bayésien du NAD4	57
Figure 13. Arbre phylogénétique bayésien issu de l'analyse du jeu de données concaténé du COII et du NAD4	58
Figure 14. Diagramme du protocole d'enregistrement du vol sur flight mill.....	66
Figure 15. Résumé graphique de l'article.....	67
Figure 16. Résumé graphique de l'article	82
Figure 17. Durée de développement larvaire en fonction de la semaine calendaire de récolte des œufs.....	103
Figure 18. Durée de développement entre l'éclosion et la nymphose en fonction de la température du milieu	104
Figure 19. Représentation graphique du modèle à compartiments adapté à partir de Wieser <i>et al.</i> (2019)	110
Figure 20. Variation de la durée de développement des œufs sur l'année type.....	111
Figure 21. Variation de la durée de développement larvaire sur l'année type.....	112
Figure 22. Variation de la durée de développement nymphal sur l'année type.....	112
Figure 23. Modélisation de la dynamique de population d' <i>Ae. japonicus</i> dans le Bas-Rhin, sans prise en compte de la diapause	113
Figure 24. Saisonnalité des œufs dans le Bas-Rhin.....	114

Figure 25. Modélisation de la dynamique de population d'*Ae. japonicus* dans le Bas-Rhin, en prenant en compte un taux fixe de diapause114

Liste des figures présentées en annexes :

Figure 26. Larve d'*Ae. japonicus*. Stade L1.....151

Figure 27. Larve d'*Ae. japonicus*. Stade L4.....152

Figure 28. Nymphe d'*Ae. japonicus*.....153

Figure 29. Emergence d'un *Ae. japonicus*..... 153

Figure 30. Femelle d'*Ae. japonicus* en train de prendre son repas de sang sur un humain.....154

Figure 31. Pattes issues de la troisième paire de pattes de différents mâles d'*Ae. japonicus*.....154

Figure 32. Programmation des cycles de PCR des marqueurs COI, COII et NAD4.....171

Figure 33. Additional file 1 – Figure 1. Environmental parameters PCA.....185

Figure 34. Additional file 1 – Figure 2. Mortality rate of *Aedes japonicus* eggs.....187

Figure 35. Additional file 1 – Figure 3. Example of two linear regressions between the width of eggs and the week of collection.....188

Figure 36. Additional file 2. Figure 1. Diapause incidence in *Ae. japonicus* eggs..... 190

Figure 37. Additional file 2. Figure 2. Evolution of morphological parameters of *Ae. japonicus* eggs throughout the year.....191

Liste des annexes

Annexe 1. Posterprésenté à l'E-SOVE (2018).....	141
Annexe 2. Article scientifique : Krupa et al. (2018). Progression du moustique tigre [...].	142
Annexe 3. Photographies d' <i>Aedes japonicus</i>	151
Annexe 4. Références bibliographiques de la colonisation de l'Amérique du Nord d' <i>Ae. japonicus</i>	155
Annexe 5. Colonisation de l'Europe par <i>Ae. japonicus</i>	163
Annexe 6. Protocole détaillée des extractions d'ADN et des PCR réalisées pour la phylogénie d' <i>Ae. japonicus</i>	169
Annexe 7. Arbres phylogénétiques : Liste des séquences utilisées et détail des paramètres.	173
Annexe 8. Localisations et références des haplotypes de NAD4 d' <i>Ae. j. japonicus</i> décrits ou cités dans la littérature.	178
Annexe 9. Fichiers additionnels 1	183
Annexe 10. Fichiers additionnels 2	190
Annexe 11. Matrice des tests statistiques réalisés sur les THV.	194
Annexe 12. Tableau de synthèse des avantages et inconvénients des différentes méthodes utilisées pour déterminer les capacités de dispersions.	196

Liste des valorisations

ARTICLES :

Krupa E., Henon N. & Mathieu B. *Diapause characterization and seasonality of Aedes japonicus japonicus (Theobald, 1901) (Diptera: Culicidae) in the northeast of France.* Parasites. 2021. 28, 45. 10.1051/parasite/2021045

Krupa E., Schaffner F., Bender C., & Mathieu B. 2020. *Progression du moustique tigre en France : surveillance transfrontalière dans le Grand-Est.* Revue Francophone des Laboratoires. 2020. 53-61. 10.1016/S1773-035X(20)30231-8.

Krupa E., Gréhal A-L., Esnault J., Bender C. and Mathieu B. *Laboratory evaluation of flight capacities of Aedes japonicus (Theobald, 1901) (Diptera: Culicidae) using a flight mill device.* Journal of insect science (Online), 21(6), 18. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieab093>

Martinet J-P., Ferté H., Sientzoff P., **Krupa E.**, Mathieu B. & Depaquit J. *Wing Morphometrics of Aedes Mosquitoes from North-Eastern France.* Insects. 2021. 341. 10.3390/insects12040341.

POSTER :

Krupa E., Augsten X., Becker N., Bender C., Bindler P., Gschwind M., Hoffmann K., Honnen A.C., Jöst A., Kopf A., Müller P., Pfirsch F., Pfitzner W.P., Pluskota B., Pompier O., Renoux O., Schaffner F., Vavassori L., Vogel G. & Mathieu B. 2018. *Updated distribution of invasive Aedes mosquitos in the Upper Rhine valley.* Poster presented at: 21st E-SOVE (European Society for Vector Ecology) Conference; 2018 Oct 21-26; Palermo, Sicilia.

PRÉSENTATIONS ORALES :

Krupa E. 2020. *Capacités des moustiques invasifs à survivre à l'hiver dans la région du Rhin supérieur.* Oral communication presented at: Colloque scientifique du projet TIGER ; 2020 November 13; Basel, Switzerland.

Mathieu B., Augsten X., Becker N., Bender C., Bindler P., Da-Silva L., Graffmann A., Gschwind M., Hénon N., Hoffmann K., Honnen A.C., Jöst A., Krebs T., **Krupa E.**, Müller P., Pfitzner W.P., Pluskota B., Pompier O., Renoux O., Schaffner F., Vavassori L., Vogel G. & Kopf A. 2019. *The INTERREG TIGER project: main outcomes of the tri-national surveillance network in 2018.* Oral

communication presented at: IXth International Conference EMCA (European Mosquito Control Association); 2019 March 11-14; La Rochelle, France.

PRÉSENTATION GRAND PUBLIC :

Krupa E. 2020. *La progression du moustique tigre sous haute surveillance dans le Rhin Supérieur*. Conférence Grand public organisée par le Jardin des Sciences – Strasbourg; 2020 October 1st; Centre socio-culturel le Repère, Schirmeck, France.

Chapitre I. Introduction

Afin de comprendre l'ensemble des travaux présentés dans la thèse qui suit, nous allons tout d'abord aborder dans une première partie les généralités sur les moustiques. Nous développerons ensuite le concept des traits d'histoire de vie. La dormance et la dispersion, qui sont abordées plus tard dans la thèse, sont également détaillées dans cette introduction. De même, la notion d'espèces invasives sera détaillée. Nous présenterons ensuite dans une seconde partie les espèces de moustiques invasives dans l'espace du Rhin supérieur et le contexte dans le département du Bas-Rhin. Nous terminerons par une troisième partie concentrée sur un état des connaissances sur la biologie d'*Aedes japonicus* (Partie B : *Aedes japonicus*, une espèce encore à caractériser). L'ensemble de cette introduction nous permettra de mettre en évidence les objectifs de cette thèse dans la quatrième partie.

Partie A : Généralités

1. Les moustiques

Les moustiques sont des insectes de l'ordre des diptères (Diptera), caractérisés par la présence d'une seule paire d'ailes membraneuses, et du sous-ordre des nématocères (Nematocera), qui regroupent les diptères ayant des antennes en forme de « fil » composées de plus de trois articles. Les moustiques de la famille des Culicidae sont classés dans deux sous-familles : les Anophelinae et les Culicinae. Au total, plus de 3500 espèces valides de ces insectes hématophages sont décrites (Aberlenc, 2021; Wilkerson et al., 2021) et un catalogue en ligne est disponible (<http://www.mosquitocatalog.org/>). Certaines espèces sont des vecteurs, c'est-à-dire des arthropodes hématophages qui assurent la transmission (mécanique ou biologique) d'un agent pathogène (bactérie, virus, parasite) d'un hôte vertébré à un autre. Parmi ces 3500 espèces de moustiques, seules environ 150 sont vectrices d'agents pathogènes divers (Harbach, 2007). Dans la suite de ce manuscrit, nous nous intéresserons aux Culicidae sauf mention contraire.

a. Cycle de vie

Il s'agit d'insectes avec un développement de type holométabole, c'est-à-dire avec des stades immatures de morphologies différentes des imagos. En effet, les œufs de moustiques (*Figure 1 - 1*), pondus près ou sur l'eau, éclosent en larves (*Figure 1 - 2*), qui sont aquatiques et

mobiles. Elles respirent par un siphon dont l'observation chez les stades avancés peut servir de diagnose pour l'identification du genre, voire de l'espèce du moustique. La larve passe par 3 mues successives. Le dernier stade larvaire (L4) se métamorphose en nymphe (**Figure 1 - 3**), qui est lui aussi un stade aquatique mobile mais qui ne se nourrit plus. Après quelques jours, l'imago (**Figure 1 - 5**) émerge de l'enveloppe nymphale pour entamer sa vie aérienne. Les mâles et femelles s'accouplent en vol (ou *a minima*, initient l'accouplement en vol) et la femelle va rechercher un hôte pour prendre un repas de sang. Après celui-ci, elle cherchera un gîte de repos pour digérer le sang et amener à maturité ses œufs, avant de partir en quête d'un site de ponte où elle les déposera. Mâles et femelles se nourrissent également de jus sucrés comme le nectar (Wilkerson et al., 2021).

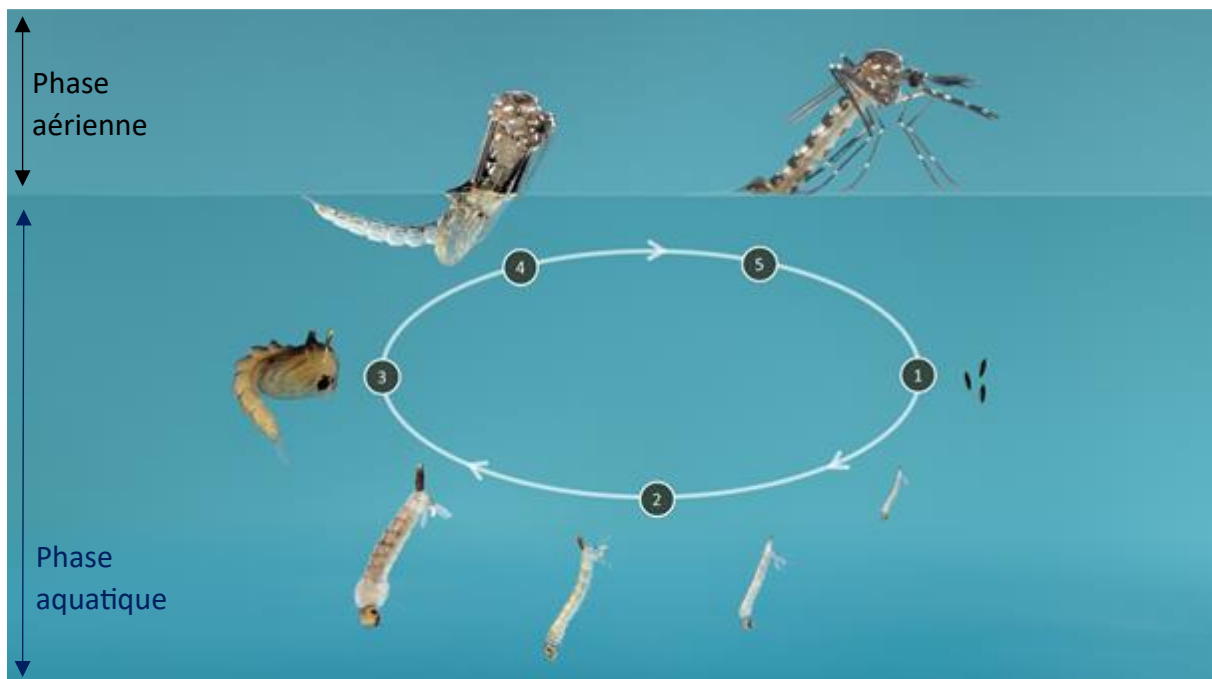


Figure 1. Cycle biologique du moustique, exemple d'*Aedes albopictus*. En phase aquatique, l'étape 1 correspond à l'œuf, qui se développe en quatre stades larvaires (étape 2), puis en nymphe (étape 3). L'étape 4 correspond à l'émergence de l'imago en phase aérienne (étape 5). ©TIGER

b. Morphologie

La forme générale des œufs et de la ponte peuvent être discriminants parmi les différents genres de moustiques. Par exemple chez les espèces du genre *Culex*, les œufs sont pondus en radeaux sur l'eau. Chez les *Aedes*, les œufs ressemblent à de petits grains de riz noirs et sont pondus individuellement. Leur couche externe, appelée exochorion, porte des ornements qui peuvent servir de critères d'identification à l'espèce.

Les larves possèdent une tête, un thorax et un abdomen segmenté. En partie postérieure de l'abdomen se trouve, face dorsale, un siphon respiratoire. La tête porte une paire d'antennes, un appareil buccal de type filtreur, ainsi que deux yeux. Des soies sont présentes sur l'ensemble du corps : leur localisation, leur taille et leur forme renseignent sur l'espèce, en particulier au dernier stade larvaire. Les nymphes possèdent une palette natatoire portée par le dernier segment abdominal. Leur céphalothorax est surmonté de deux excroissances, appelées trompettes respiratoires, servant à la respiration.

La morphologie classique des insectes est retrouvée chez les imagos avec une segmentation tête-thorax-abdomen. Les derniers segments de l'abdomen portent les organes génitaux. Le thorax porte les 3 paires de pattes ainsi qu'une paire d'ailes fonctionnelles ; la seconde paire vestigiale étant réduite à l'état de deux balanciers. Une paire d'antennes, plumeuses pour les mâles, moins ramifiées chez les femelles, est portée par la tête. Cette dernière porte aussi une paire d'yeux composés, ainsi que les pièces buccales. Celles-ci sont rassemblées sous la forme d'un appareil de type piqueur-suceur. Une paire de palpes les surmontent. Le corps de l'insecte est recouvert d'écailles qui peuvent être de différentes couleurs. Le motif qu'elles forment sur le thorax ou l'abdomen est un critère d'identification, de même que la présence et la localisation d'anneaux sur les pattes, aussi constitués d'écailles de couleurs différentes.

2. Le concept des traits d'histoire de vie et leur utilité

a. Les traits biologiques

Les traits biologiques sont des descripteurs biologiques, morphologiques ou physiologiques et comportementaux quantitatifs ou écologiques (préférences trophiques, de gîtes, de températures, etc.)(Nylin, 2001). Les traits d'histoire de vie (THV) regroupent ces traits biologiques et permettent de caractériser la reproduction, le développement et la survie d'une espèce ou d'une population, en décrivant notamment les transitions entre les différents stades du cycle de vie de l'espèce (Nylin, 2001). La dynamique des populations est déterminée par ces traits biologiques génétiquement définis et leur plasticité, c'est-à-dire leurs modulations selon les conditions environnementales, permettant l'adaptation des espèces (Michalakis & Hochberg, 1994; Nylin, 2001; Nylin & Gotthard, 1998).

b. Description des principaux traits

Les THV ont été étudiés dans divers taxons (oiseaux, mammifères, poissons, plantes, etc.). Chez les insectes, ils sont principalement évalués en conditions contrôlées en laboratoire (Stearns, 1977). Les THV peuvent être regroupés selon s'ils impactent la survie de l'individu ou de l'espèce ou s'ils impactent la reproduction. Parmi ces traits liés à la survie, nous pouvons citer : la taille à la naissance, le cycle de développement avec les différents taux de survie et taux de croissance (associés aux stades de cycle de développement ou à l'âge ou à la taille selon l'espèce considérée) ou encore la durée de vie. Les paramètres liés à la reproduction tels que l'âge ou la taille à la maturité sexuelle, l'âge de la première reproduction, le nombre, la taille et la sex-ratio de la descendance ou encore la fécondité, sont aussi des traits d'histoire de vie importants. Chez les moustiques, un proxy de la fécondité est généralement réalisé via la mesure des ailes chez les femelles (Armbruster & Hutchinson, 2002).

Ces THV ont pour intérêt de prévoir la progression spatiale et la dynamique des populations des espèces, notamment invasives, et peuvent servir à modéliser l'impact de diverses perturbations. Le réchauffement climatique est une de ces perturbations régulièrement étudiées (Peterson & Lieberman, 2012; Stocker, 2013; Wilkerson et al., 2021). En effet, les moustiques, comme les autres insectes, sont hétérothermes et leur développement dépend de la température de l'environnement : les températures ont donc un impact sur leurs THV (Ciota et al., 2014). L'étude des traits biologiques permet aussi d'identifier les espèces susceptibles d'être invasives ou d'identifier les stades critiques qui peuvent être source d'introduction dans un autre environnement ou encore de cibler un stade où la lutte et le contrôle seront plus efficaces (Sakai et al., 2001).

c. Syndrome des traits d'histoire de vie.

Selon la théorie évolutionniste du syndrome des traits d'histoire de vie, l'évolution d'un paramètre biologique entraîne alors l'évolution des autres. En effet, il est admis que les ressources de l'environnement sont des facteurs limitants, et ainsi des compromis (ou trade-off) ont lieu pour optimiser la valeur adaptative (ou fitness) des individus (Nylin, 2001; Stearns, 1977). Cette théorie amène à distinguer des espèces à stratégie R (reproduction importante et espérance de vie limitée) et des espèces à stratégie K (reproduction limitée et espérance de vie importante), liées à ces compromis entre reproduction et survie (Nylin & Gotthard, 1998).

3. Les espèces invasives

a. Définition

Plusieurs définitions sur le statut invasif d'une espèce existent. Ici, Selon Sakai et al. (2001), une espèce est dite invasive lorsqu'elle passe les 3 étapes suivantes : elle se retrouve hors de son aire de répartition originelle (espèce allogène), elle subsiste et se reproduit dans cette nouvelle zone (espèce naturalisée) et qu'elle étend par la suite sa nouvelle aire colonisée. C'est cette définition qui est entendue ici lors de l'usage du terme d'espèce invasive. Toutes les espèces allogènes ne deviendront pas invasives, de nombreux filtres environnementaux restreignent l'acclimatation et la diffusion de l'espèce, selon la règle des dix pour cent (*Ten's rules*) : seul 10% des espèces traverse un filtre environnemental, et ainsi de suite (Williamson & Fitter, 1996).

Par ailleurs, les espèces invasives génèrent un effet négatif sur la biodiversité locale et peuvent déstabiliser les structures des communautés indigènes et peuvent, de plus, avoir un coût économique (Sakai et al., 2001).

La colonisation par les espèces invasives est influencée par le mode de dispersion et par le système reproductif (Sakai et al., 2001). En général, l'introduction d'une nouvelle espèce est le résultat de l'action de l'Homme, qu'elle soit directe ou indirecte (activités humaines, sociales ou économiques) (Sakai et al. 2001; Stuart et al. 2020).

b. Facteurs favorables à l'invasion

Le système reproductif

Les introductions répétées de plusieurs individus d'une même espèce facilitent son installation. Les espèces dites auto-fertiles (par parthénogénèse, auto-fécondation ou par le stockage de sperme) sont plus facilement à même de réussir l'introduction dans un nouvel environnement et d'être à l'origine d'une nouvelle population à partir d'un seul individu (Sakai et al., 2001). Chez les moustiques, les femelles possèdent des spermathèques : ainsi une femelle fécondée peut pondre plusieurs fois de manière successives grâce à cette réserve de sperme (Pascini et al., 2012).

Les capacités de dispersion, un atout pour coloniser

En ce qui concerne les espèces invasives, deux paramètres sont importants à prendre en compte : le taux de croissance de la population et la dispersion des individus.

La dispersion peut intervenir grâce aux moyens de locomotion propres des individus ; à savoir le vol pour les moustiques. Certaines espèces de moustiques peuvent en effet disperser sur plusieurs kilomètres (Verdonschot & Besse-Lototskaya, 2014), les rendant propices à l'expansion de leur zone de répartition. Ce type de dispersion est appelé dispersion active.

Un autre phénomène est la dispersion passive, qui est une dispersion non intentionnelle, et assistée. Le vent peut être un moyen aux moustiques de disperser plus, en utilisant les courants d'air (Service, 1980; Verdonschot & Besse-Lototskaya, 2014). Il existe aussi la dispersion assistée par l'Homme : en ce qui concerne les moustiques, les stades immatures, inféodés à l'eau et donc contraints dans leur espace, peuvent être transportés avec celle-ci ; comme ce peut être le cas pour les larves de moustiques vivants au creux des arbres en raison du commerce de plantes (Lounibos, 2002). Les adultes, en particulier les femelles à la recherche d'un repas de sang, peuvent aussi suivre l'Homme et être déplacées avec lui dans divers moyens de transports, comme les voitures ou les avions (Eritja et al., 2017; Evans et al., 1963). Enfin, certaines espèces peuvent être volontairement relâchées dans une zone hors de leur aire de distribution originelle, dans un but de bio-contrôle la plupart du temps (Lounibos, 2002). C'est par exemple le cas avec la technique de l'insecte stérile (SIT), où des mâles sont relâchés pour s'accoupler avec des femelles sauvages et rendre la descendance non viable, afin de diminuer les populations (Dufourd & Dumont, 2013; Lebon et al., 2018; Zheng et al., 2019).

La dormance, un moyen de survivre lors de la saison défavorable

La dormance correspond au ralentissement ou à l'interruption de l'activité métabolique, ce qui permet la survie pendant et après un stress environnemental (Diniz et al., 2017). Elle est déclenchée par des signaux climatiques tels que les diminutions de la photopériode (durée de la phase lumineuse sur 24 heures) ou de la température (Diniz et al., 2017; Saunders, 2014). La dormance a été observée chez diverses espèces de moustiques, à différents stades de leur cycle de vie. Elle est généralement distinguée en deux notions : la quiescence (qui est levée lorsque les conditions environnementales redeviennent favorables à la poursuite du développement) et la diapause (où les individus ne répondent pas aux stimuli environnementaux et dont la durée est déterminée génétiquement) (Diniz et al., 2017).

La quiescence est plutôt une dormance non saisonnière, liée à la diminution de l'humidité ambiante ou aux augmentations de températures (Clements, 1992) et n'est ni programmée génétiquement ni soumise à un contrôle hormonal. Un stimulus induit la quiescence, qui cesse en même temps que le stimulus disparaît. Chez les œufs de moustiques, la quiescence est associée à la résistance à la dessiccation : elle cesse lorsque les œufs sont à nouveau soumis à une forte humidité (voir à une immersion complète) ou lors de fortes modifications de températures (Clements, 1992).

La diapause est plutôt saisonnière. Le phénomène de diapause peut être distingué en 3 phases successives. La première phase, appelée pré-diapause, correspond à l'exposition d'un individu à un environnement qui va induire l'état de diapause dans la descendance. Cette exposition est généralement associée à un stockage de lipides (Diniz et al., 2017). Cette phase est suivie de la diapause en elle-même, caractérisée par un développement réduit ou interrompu et une absence de réponse aux conditions environnementales (Denlinger & Armbruster, 2014). Enfin la phase de post-diapause correspond à la réactivation du métabolisme suite à des conditions environnementales favorables (augmentation de la photopériode ou des températures par exemple) et peut être associée à de la quiescence post-diapause non-distinguable (Diniz et al., 2017).

Pour les œufs d'insectes, la diapause et la quiescence inhibent toutes les deux l'éclosion alors que l'embryon est complètement développé. Toutefois, les œufs en diapause sont réfractaires aux stimuli d'éclosions contrairement à ceux en quiescence (Denlinger & Armbruster, 2014). Chez les larves et les adultes, seule la diapause a lieu sous contrôle hormonal (Diniz et al., 2017). La diapause est commune chez les insectes soumis à des hivers rigoureux et est alors indispensable pour coordonner le développement, la croissance et la reproduction des espèces en zones tempérées (Denlinger & Armbruster, 2014). Associée à la transmission verticale de certains pathogènes (transmission du pathogène de la femelle à sa descendance), elle peut être la clef dans le maintien des épidémies.

Partie B : Espèces invasives dans l'espace du Rhin supérieur

1. Situation des moustiques invasifs dans l'espace du Rhin supérieur

L'espace du Rhin supérieur est une région transfrontalière traversée par le Rhin. Cet espace est constitué des départements du Bas-Rhin et du Haut-Rhin, présents au nord-est de la

France, du Palatinat du Sud et du Pays de Bade, au sud-ouest de l'Allemagne et des cinq cantons de Bâle-Ville, Bâle-Campagne, Argovie, Jura et Soleure, tous situés au nord-ouest de la Suisse.

Un état des lieux a été réalisé en 2018, où trois espèces de moustiques invasives étaient détectées dans cette région : *Ae. albopictus*, *Ae. japonicus* et *Ae. koreicus*, cette dernière espèce ayant fait l'objet d'une détection erratique. Depuis 2018, les deux premières espèces ont dispersé dans l'espace du Rhin supérieur, tandis que *Ae. koreicus* n'a pas fait l'objet de nouvelles détections dans cet espace, malgré la présence de populations proches en Allemagne ou en France. Les localités connues ont été présentées sous forme de poster (**annexe 1**) à la 21^{ème} conférence E-SOVE en 2018 :

Krupa E., Augsten X., Becker N., Bender C., Bindler P., Gschwind M., Hoffmann K., Honnen A.C., Jöst A., Kopf A., Müller P., Pfirsch F., Pfitzner W.P., Pluskota B., Pompier O., Renoux O., Schaffner F., Vavassori L., Vogel G. & Mathieu B. 2018. *Updated distribution of invasive Aedes mosquitoes in the Upper Rhine valley*. Poster presented at: 21st E-SOVE (European Society for Vector Ecology) Conference; 2018 Oct 21-26; Palermo, Sicilia.

2. Les moustiques invasifs en Alsace

Le nord-est de la France n'est pas indemne de colonisation par des moustiques invasifs. Depuis la mise en place du Règlement Sanitaire International (Organization, 2009), les points d'entrées du territoire tels que les ports et aéroports sont surveillés pour l'introduction d'espèces invasives. Ainsi en 2013, *Ae. japonicus* est détecté en France dans le Haut-Rhin (68) (Krebs et al., 2014) et l'année suivante dans le Bas-Rhin (Krupa et al., 2021). En parallèle, un autre moustique *Ae. albopictus*, aussi appelé le moustique tigre, est détecté en 2014 dans le Bas Rhin (67)(Krupa et al., 2020).

Le succès d'invasion du moustique tigre repose notamment sur des descripteurs biologiques et comportementaux, ou THV, favorables à son expansion en zone tempérée. En effet, cette espèce compétitrice (Allgood & Yee, 2014; Carrieri et al., 2003; Hobbs et al., 1991; Leisnham & Juliano, 2012), qui pond des œufs résistants à la sécheresse (Sota, 1993) (dessiccants) et survivants à l'hiver (diapausants) (Kreß et al., 2016; Mori et al., 1981), est plutôt généraliste quant à ses préférences trophiques (Delatte et al., 2009; Kamgang et al., 2012) et à ses sites de pontes (Bonizzoni et al., 2013; Delatte et al., 2008; Eritja & Herreros, 2017; Hawley, 1988; Laird et al., 1994). En revanche, ses faibles capacités de dispersion active

(100 à 600 m) (Honório et al., 2009; Vavassori et al., 2019; Verdonshot & Besse-Lototskaya, 2014) auraient pu être un frein, limitant la dispersion de cette espèce. Sa proximité avec l'Homme et son anthropophilie lui a permis d'outre passer cette caractéristique, en facilitant sa dispersion passive. Ainsi les commerces de pneus ou de *lucky bamboo* (Hawley et al., 1987; Hofhuis et al., 2009; Laird et al., 1994; Madon et al., 2002; Reiter & Sprenger, 1987) lui ont permis de coloniser plusieurs dizaines de pays en 30 ans (Adhami & Reiter, 1998; Becker et al., 2017; Kutateladze et al., 2016; Medlock et al., 2015, 2017; Osório et al., 2018; Sabatini et al., 1990; Schaffner & Karch, 2000). En France, les premières détections en 1999 (Schaffner & Karch, 2000) sont suivies d'une implantation en 2004 dans le sud du pays (Delaunay et al., 2007). Dans le Nord-Est de la France, le moustique tigre a été détecté 10 ans après en 2014 (Krupa et al., 2020) suite à un signalement citoyen. L'ensemble des moustiques invasifs du genre *Aedes* font l'objet de suivi selon des recommandations de surveillance (Schaffner et al., 2013), qui préconisent notamment l'emploi de pièges pondoires. La progression des moustiques invasifs dans le nord-est de la France a fait l'objet d'un article dans le cadre d'un dossier spécial dans la *Revue francophone des laboratoires* présenté en **annexe 2** (Krupa et al., 2020) et dont la référence est :

Krupa E., Schaffner F., Bender C., & Mathieu B. 2020. Progression du moustique tigre en France : surveillance transfrontalière dans le Grand-Est. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2020. 53-61. 10.1016/S1773-035X(20)30231-8.

Résumé de l'article :

Le moustique tigre est vecteur de nombreux pathogènes tels que ceux de la Dengue, du Zika ou du Chikungunya. En tant qu'espèce invasive, ce moustique fait l'objet d'une surveillance entomologie à l'aide de réseau de pièges pondoires mais aussi de signalements citoyens. Les données recueillies permettent de suivre l'évolution de la colonisation de cette espèce. Puisque les moustiques ne connaissent pas les frontières, l'intégration du niveau européen pour la surveillance et le contrôle des moustiques invasifs est une force dans un contexte de région transfrontalière comme celle du Rhin supérieur. Ainsi en 2018, la surveillance transfrontalière a permis de mettre en évidence la distribution d'*Ae. albopictus*, mais également d'autres espèces invasives comme *Ae. japonicus* ainsi qu'une détection erratique d'*Ae. koreicus*.

3. Distribution des moustiques invasifs dans le Bas-Rhin

Le département du Bas-Rhin est donc colonisé par *Ae. albopictus* et *Ae. japonicus* la même année en 2014 (Krupa et al., 2021, Krupa et al., 2020). Pourtant, leur distribution n'a pas évolué de la même façon.

La présence du moustique tigre est assez restreinte à certaines localités dans le Bas Rhin. Pour ce moustique, la colonisation évolue à partir des points d'introduction (*figure 2*). L'aire colonisée augmente chaque année depuis 2014, avec approximativement un doublement de cette aire entre deux années successives. Quelques nouvelles introductions ont lieu proches des zones de colonisation historiques. D'autres introductions plus lointaines pourraient être expliquées par la dispersion passive via le réseau routier.

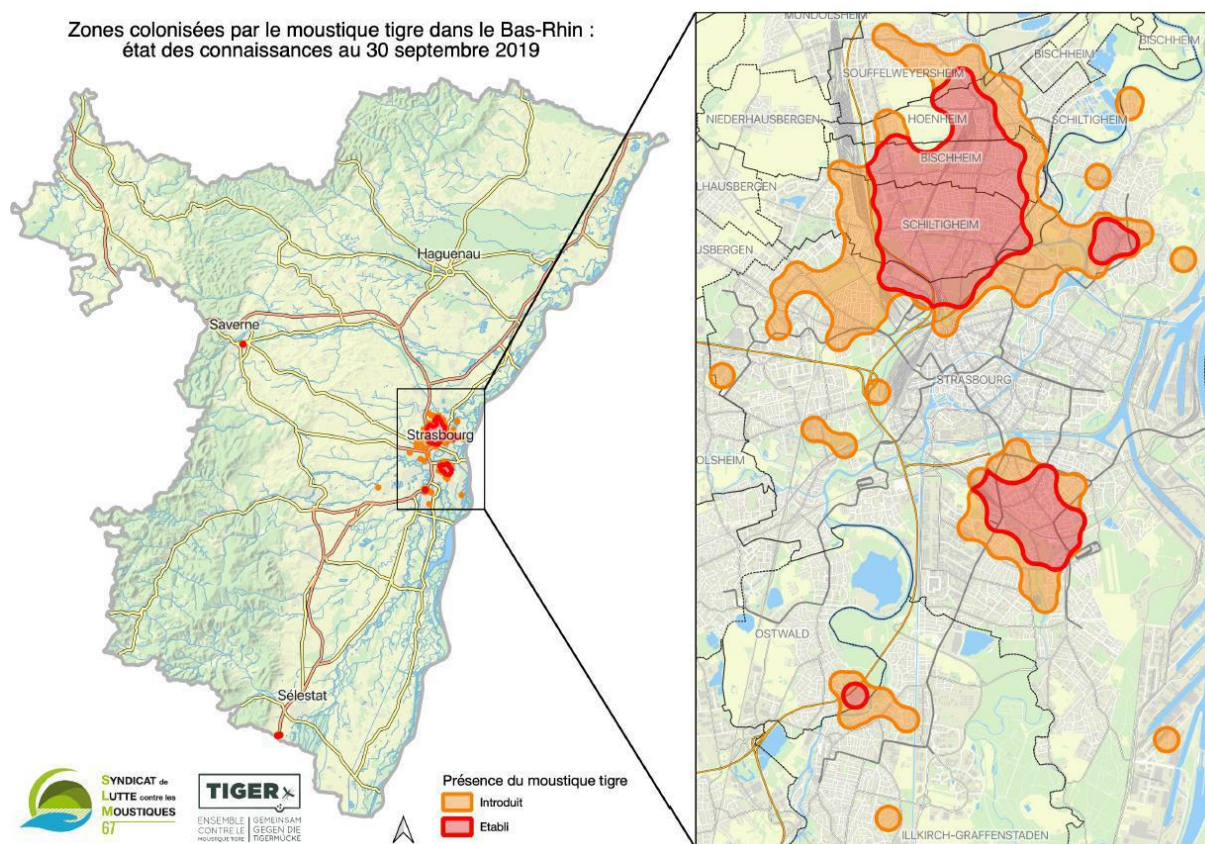
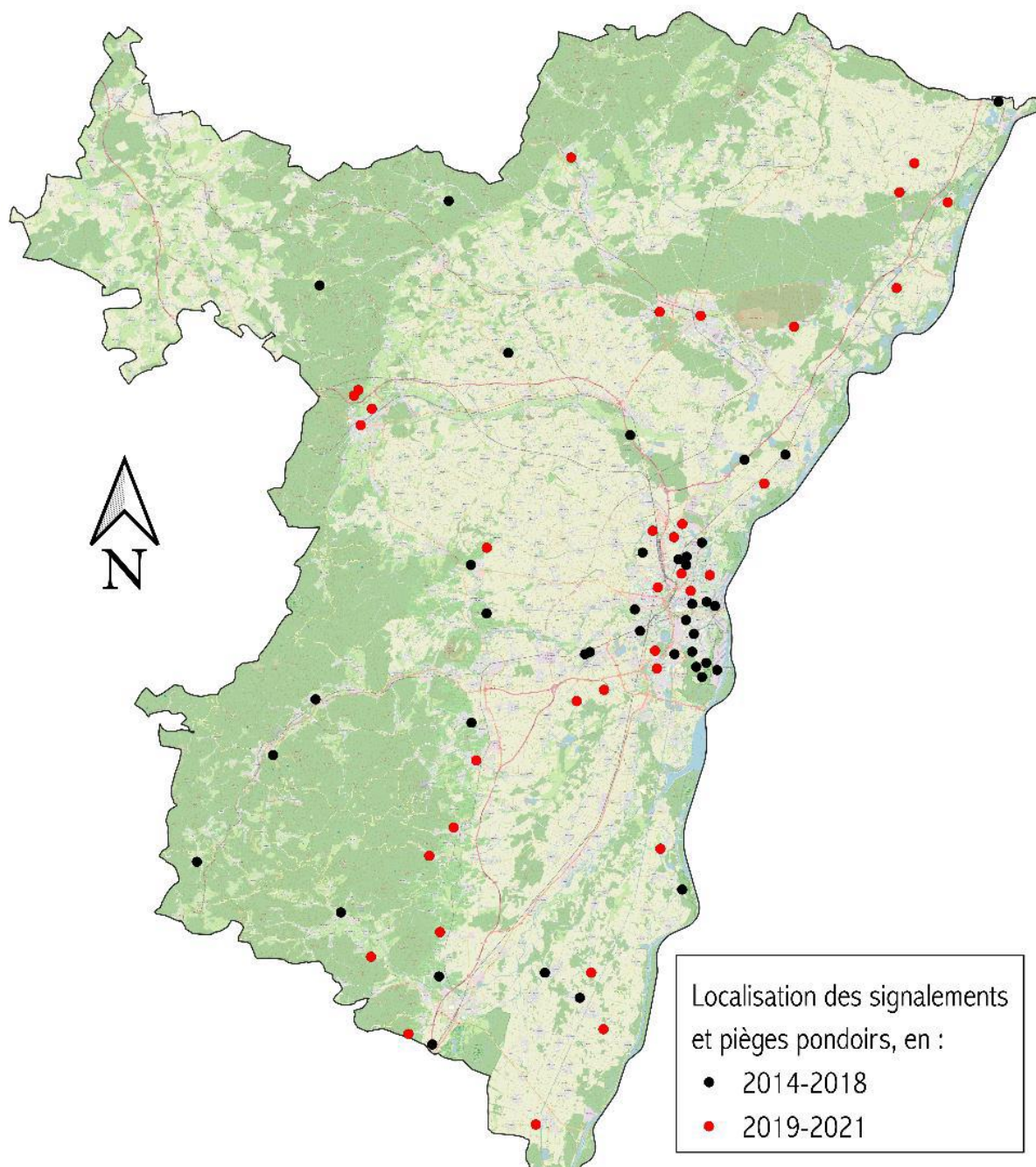


Figure 2. Présence du moustique tigre dans le Bas Rhin en 2019. Un zoom est réalisé sur l'Eurométropole de Strasbourg. La colonisation entre 2014 et 2018 est représentée en rouge, et correspond aux zones où le moustique tigre est établi. La colonisation pour la seule année 2019 est montrée en orange, ce qui correspond à la zone d'introduction de ce moustique. ©SLM67

Pour *Ae. japonicus*, sa présence est plus diffuse dans le département (*figure 3*). Les localités sont plus éloignées les unes des autres et les détections récentes ne sont pas toujours en lien avec les détections des années précédentes. On parle donc de distribution en taches.

Aedes Japonicus

Signalements et pièges pondoirs positifs
de 2014 à 2021



Christophe Deis, SLM67, 11/2021, Fond OSM

Figure 3. Présence d'*Ae. japonicus* dans le Bas Rhin en 2021. Les détections sont réalisées par le relevé d'œufs dans les pièges pondoirs du réseau de surveillance et par des signalements citoyens.

La présence d'*Ae. japonicus* entre 2014 et 2018 est montrée en noir. Les nouvelles détections entre 2019 et 2021 sont montrées en rouge. ©SLM67

Partie C : *Aedes japonicus*, une espèce encore à caractériser

La systématique, science de la classification du vivant, évolue au cours du temps et des découvertes, notamment par les approches moléculaires. Ainsi, *Ae. japonicus* (Theobald, 1901), est aussi connu sous le nom de *Ochlerotatus japonicus*, sensu Reinert et al. (2004) et de *Hulecoeteomyia japonica*, sensu Reinert et al. (2006). Nous utiliserons dans ce manuscrit la dénomination *Ae. japonicus*, comme le suggèrent Wilkerson et al. (2015).

1. Sous-espèces et description de l'espèce

Aedes japonicus est originellement décrit de Tokyo, au Japon, par Théobald en 1901. Le scutum des imagos présente une coloration de couleur bronze, en forme de lyre. Les larves ont les soies frontales alignées sur un même plan (Tanaka et al., 1979). Quatre sous-espèces ont été décrites pour *Ae. japonicus* (Tanaka et al., 1979) :

- La sous-espèce binomiale, *Ae. japonicus japonicus* (**Figure 4**). Elle est identifiée sur les îles japonaises d'Hokkaidō, de Kyūshū d'Honshū et de Shikoku.
- *Ae. j. amamiensis*, présente sur l'île d'Amami Ōshima (Japon).
- *Ae. j. yaeyamensis*, décrite par Tanaka en 1979 depuis les îles Yaeyama (comprenant les îles Ishigaki et Iriomote, Japon).
- *Ae. j. shintienensis*, décrite aussi par Tanaka (Tanaka et al., 1979) en 1979 hors du Japon. Cette sous-espèce est, en effet, décrite depuis Taïwan et la Chine continentale.

Toutes ces sous-espèces ont une morphologie très proche, notamment au stade larvaire. Au stade adulte, la zone inférieure des fémurs de la troisième paire de pattes est la plus discriminante (Cameron et al., 2010). L'**annexe 3** présente des références picturales d'*Ae. j. japonicus*. Contrairement à la sous-espèce binomiale qui possède une bande sombre sub-basale distincte et complète, *Ae. j. yaeyamensis* ne présente pas de bande sombre ; *Ae. j. shintienensis* possède la bande sombre la plus large, tandis que celle présente sur les pattes d'*Ae. j. amamiensis* est distincte mais généralement incomplète. Afin d'éviter toute erreur de discrimination entre ces sous-espèces, il est possible d'utiliser des techniques de biologie moléculaire.



Figure 4. Imago d'*Ae. j. japonicus*. Cette femelle prend un repas de sang sur Homme. Crédit photo : Nicolas Henon.

2. De son aire d'origine à la colonisation du monde

Aedes japonicus japonicus est plus largement réparti et rencontré dans son aire d'origine. En Europe, c'est également cette sous-espèce qui est présente et donc invasive dans ce territoire. C'est par la dispersion passive, via le commerce de pneus usagés, qu'*Ae. japonicus* a colonisé le monde entier (Peyton et al., 1999). Sa première introduction en dehors de son aire d'origine est la Nouvelle Zélande en 1993 (Laird et al., 1994). Cette espèce a colonisé les États-Unis dès 1998 (Andreadis et al., 2001). La carte suivante (**Figure 5**) reprend les états d'Amérique du Nord colonisés par ce moustique ainsi que la date d'introduction de l'espèce. L'**annexe 4** renvoi aux références bibliographiques utilisées pour la construction de la carte.

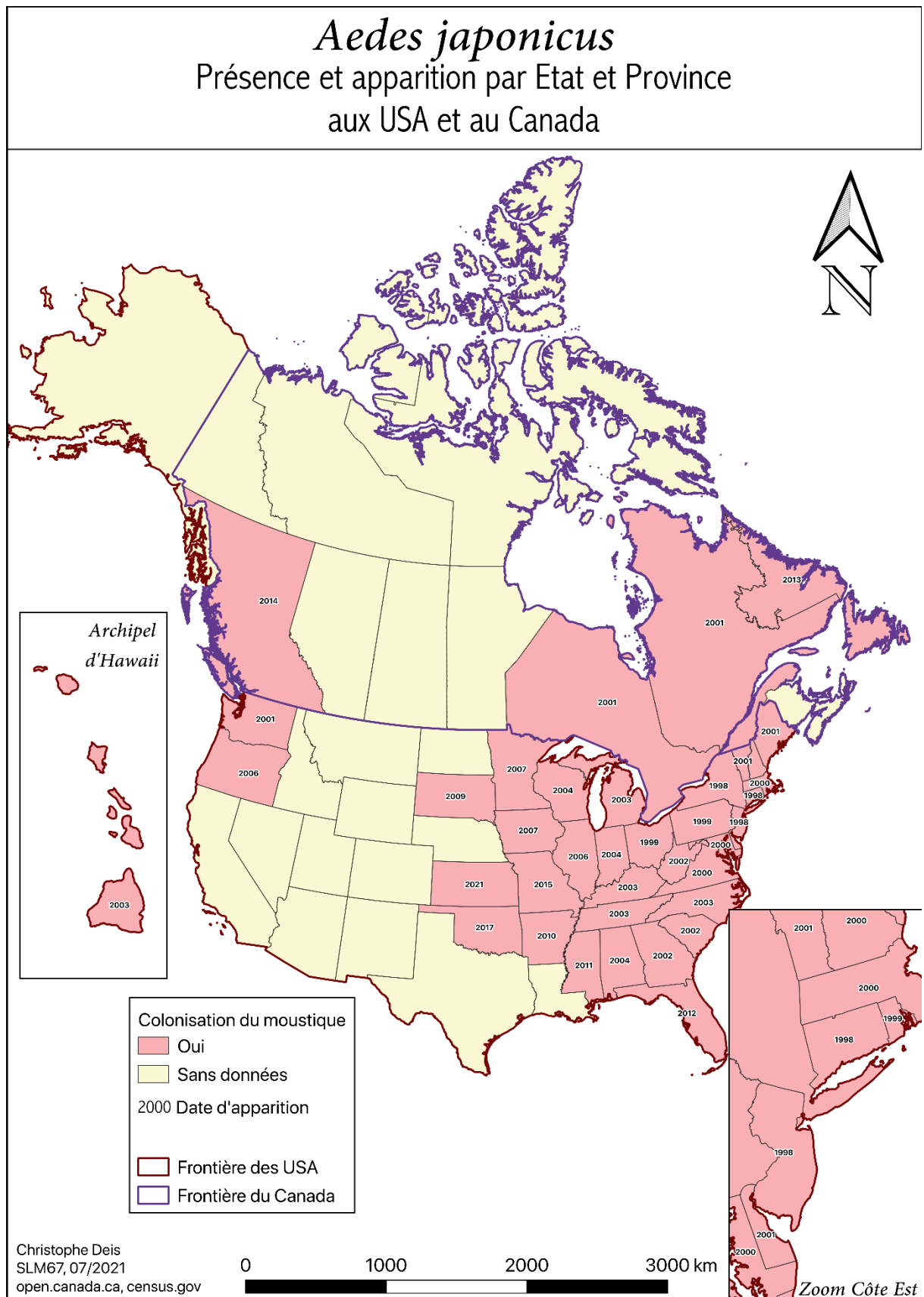


Figure 5. Présence d'*Ae. japonicus* sur le continent Nord-américain. La présence de l'espèce est reportée à l'échelle des états, ainsi que de l'année de première détection.

En 2000, ce moustique colonise l'Europe en commençant par la France (Schaffner et al., 2003), où il fut éliminé. C'est en 2002, en Belgique, qu'*Ae. japonicus* fera son retour (Versteirt et al., 2009) puis en Suisse en 2008 (Schaffner et al., 2009). Il progressera dès 2008 en Allemagne (Becker et al., 2011; Kampen et al., 2012; Werner & Kampen, 2013) et sera ensuite détecté dans de nombreux pays d'Europe, confirmant son statut d'invasif : l'Autriche et la Slovaquie en 2011 (Seidel, Montarsi, et al., 2016), la Hongrie en 2012 (Seidel, Nowotny, et al., 2016), la Croatie (Kampen & Werner, 2014) et les Pays-Bas (Ibañez-Justicia et al., 2014) en 2013, l'Italie et le Liechtenstein en 2015 (Robert et al., 2019; Seidel, Montarsi, et al., 2016), la Bosnie-Herzégovine et la Serbie, respectivement en 2017 et 2018 (Janssen et al., 2020), l'Espagne en 2018 (Eritja et al., 2019; Robert et al., 2019) et le Luxembourg en 2019 (Robert et al., 2019; Schaffner & Ries, 2019).

Pour la France, il sera détecté dans la région Grand-Est, département du Haut-Rhin, en 2013 (Krebs et al., 2014) et dans le Bas-Rhin en 2014 (Krupa et al., 2020). La **Figure 6** montre les pays d'Europe ainsi que la date de la première colonisation par *Ae. japonicus*. L'**annexe 5** renvoie aux références bibliographiques utilisées pour la conception de la carte. De plus, des cartes, régulièrement mises à jour par l'ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control and European Food Safety Authority) sont disponibles (*Mosquito Maps*, s. d.).

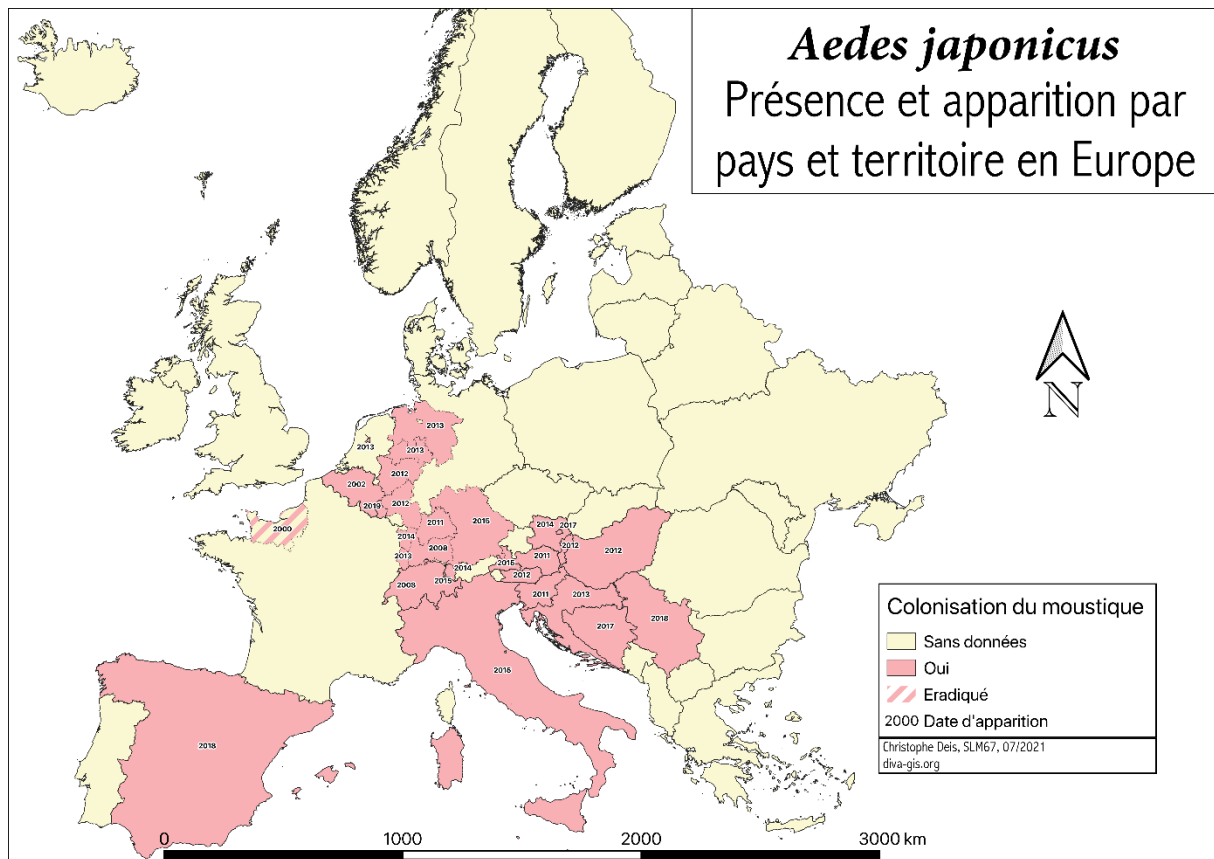


Figure 6. Présence d'*Ae. japonicus* en Europe. La présence de l'espèce est reportée à l'échelle du pays ou de la région concernée, avec la précision de l'année de la première détection.

Bien que *Ae. japonicus* soit invasif dans de nombreux pays du monde, sa présence effective ne l'est que dans certaines localités de ces pays. Localement, les populations de ce moustique peuvent avoir une forte densité et des nuisances dues aux piqûres sont donc reportées. En effet, cette espèce est réputée pour prendre ses repas essentiellement sur des mammifères (espèce mammalophile) (Goodman et al., 2018; Miyagi, 1972; Molaei et al., 2009; Schöenberger et al., 2016) et également sur l'Homme (espèce anthropophile) (Goodman et al., 2018; Molaei et al., 2009; Schöenberger et al., 2016).

Sa présence diffuse peut être soutenue par différentes hypothèses :

- *Aedes japonicus* est encore en phase d'adaptation dans certains pays. Les populations nouvellement introduites doivent donc s'établir et s'adapter aux conditions locales avant d'étendre leurs aires de répartition. Cette adaptation peut être limitée par la génétique des individus fondateurs, même dans des pays colonisés depuis plusieurs années (Zielke et al., 2014).
- *Aedes japonicus* possède une niche écologique plus restreinte que d'autres moustiques invasifs tel que le moustique tigre. Une niche écologique est une représentation dans

le milieu, de la place qu'une espèce occupe (niche réalisée) et pourrait occuper (niche théorique). Elle est déterminée par les optima de divers paramètres du milieu (par exemple la température ou l'humidité), par la tolérance de l'espèce à ces mêmes paramètres, ainsi que par les interactions avec le milieu et les autres espèces présentes. *Aedes albopictus* est, en effet, décrit comme l'espèce la plus invasive au monde. Il a, de plus, une niche écologique très large (Cunze et al., 2016) lui permettant une adaptation extrêmement rapide aux nouveaux environnements, et donc une colonisation d'autant plus prompte ainsi qu'un succès d'invasion plus élevé.

3. La biologie d'*Aedes japonicus*

a. Influence de la température

Aedes japonicus est une espèce adaptée aux températures fraîches (Tanaka et al., 1979). Ainsi, elle est présente plus tôt dans la saison que d'autres espèces de creux d'arbres et son pic d'abondance est également plus précoce que celles-ci ((Murrell et al., 2015). De ce fait, sa présence est limitée par les températures élevées (Cunze et al., 2016).

Au Japon, *Ae. japonicus* est présent pendant 27 semaines consécutives, étant absent entre fin octobre et début mars (L. Chaves & Moji, 2017). Le dernier stade larvaire (L4) de ce moustique est, par ailleurs, absent de l'environnement lorsque les températures descendent sous 10°C (L. Chaves & Moji, 2017). Ces mêmes auteurs, grâce à un modèle mathématique, estime la valeur seuil à 12,41°C (L. Chaves & Moji, 2017). Enfin, selon l'étude de Reuss et al. (2018), deux jours ou plus en deçà de -9°C élimineraient les œufs. Il faut souligner que la niche écologique native peut différer de la niche écologique en zone colonisée car un processus d'adaptation se produit (Cunze et al., 2016) et les optima de températures peuvent donc varier selon les populations considérées.

Les températures ont montré une influence majoritaire sur la durée de développement, le taux de mortalité, la sex-ratio à l'émergence et la taille des ailes, ce qui influence donc la fécondité. Les températures expliquent en effet 80 % de la variance de ces variables (Reuss et al., 2018). Le **Tableau 1** rassemble des données issues de la littérature sur la durée de développement des stades aquatiques chez *Ae. japonicus* en fonction de la température ambiante. L'optimum de température pour le développement, qui correspond à la durée du cycle de vie est la plus courte, est décrit à 26°C (Reuss et al., 2018). Concernant la survie des adultes, Hoshino et al. (2010) ont montré en laboratoire que les durées de vie maximales des

imagos de 101 jours pour les femelles et de 89 jours pour les mâles étaient obtenues à une température de 25°C. Dans une autre étude, les mâles ont survécu en moyenne 67 jours et les femelles 73 jours à 10°C (Reuss et al., 2018).

Tableau 1. Durée de développement d'*Ae. japonicus* en fonction de la température.

Température (°C)	Durée du développement depuis l'œuf jusqu'à l'adulte	Référence
7	♀ : 59 jours ♂ : 57,5 jours	(Reuss et al., 2018)
25	♀ : 13,15 jours ♂ : 11,5 jours	(Hoshino et al., 2010)
29	♀ : 10,8 jours ♂ : 10 jours	(Reuss et al., 2018)
31	♀ : 11,2 jours ♂ : 12,5 jours	(Reuss et al., 2018)

b. Préférences trophiques

Les préférences trophiques des moustiques concernent l'affinité pour les hôtes sur lesquels les femelles vont prendre leur repas de sang. Pour *Ae. japonicus*, ces préférences ont été mesurées par collecte de femelles gorgées sur le terrain (Goodman et al., 2018; Molaei et al., 2009; Schönenberger et al., 2016), via des pièges à appât cheval (Schönenberger et al., 2016) ou en laboratoire par des gorgements sur divers animaux (Miyagi, 1972). Les préférences trophiques sont à dominance mammalophiles, avec également des gorgements sur oiseaux, comme le montre le **Tableau 2** ci-dessous. En revanche, il n'a pas été reporté de repas de sang sur reptiles et amphibiens (Miyagi, 1972).

Tableau 2. Liste des hôtes sur lequel *Ae. japonicus* a pris ses repas de sang. Les hôtes signalés par une étoile * correspondent à des gorgements en laboratoire.

<u>Mammifères</u>	<p>Homme (<i>Homo sapiens</i>) (Goodman et al., 2018; Molaei et al., 2009; Schönerberger et al., 2016)</p> <p>*Souris (<i>Mus musculus</i>) (Hoshino et al., 2010; Miyagi, 1972)</p> <p>Rat brun (<i>Rattus norvegicus</i>) (Goodman et al., 2018)</p> <p>Cerf de Virginie (<i>Odocoileus virginianus</i>) (Goodman et al., 2018; Molaei et al., 2009)</p> <p>Daim (<i>Dama dama</i>) (Molaei et al., 2009)</p> <p>Cheval (<i>Equus caballus</i>) (Molaei et al., 2009)</p> <p>Opossum de Virginie (<i>Didelphis virginiana</i>) (Molaei et al., 2009)</p> <p>Camélidés du Nouveau Monde (<i>Lama sp.</i>) (Schönerberger et al., 2016)</p> <p>Mouton (<i>Ovis aries</i>) (Schönerberger et al., 2016)</p> <p>Chien (<i>Canis lupus familiaris</i>) (Schönerberger et al., 2016)</p> <p>Ane (<i>Equus asinus</i>) (Schönerberger et al., 2016)</p> <p>Phoque commun (<i>Phoca vitulina</i>) (Schönerberger et al., 2016)</p> <p>Lion asiatique (<i>Panthera leo persica</i>) (Schönerberger et al., 2016)</p> <p>Antilope Nilgaut (<i>Boselaphus tragocamelus</i>) (Schönerberger et al., 2016)</p> <p>Chat (<i>Felis domesticus</i>) (Goodman et al., 2018)</p>
<u>Oiseaux</u>	<p>*Poule (<i>Gallus gallus domesticus</i>) (Miyagi, 1972; Schönerberger et al., 2016)</p> <p>Nandou de Darwin (<i>Pterocnemia pennata</i>) (Schönerberger et al., 2016)</p> <p>Moineau domestique (<i>Passer domesticus</i>) (Schönerberger et al., 2016)</p> <p>Manchot de Humboldt (<i>Spheniscus humboldti</i>) (Schönerberger et al., 2016)</p> <p>Merle noir (<i>Turdus merula</i>) (Schönerberger et al., 2016)</p> <p>*Colin de Virginie (<i>Colinus virginianus</i>)(Williges et al., 2008)</p>
<u>Mixte</u>	<p>Moineau domestique (<i>Passer domesticus</i>) & Camélidés du Nouveau Monde (<i>Lama sp.</i>) (Schönerberger et al., 2016)</p>

c. Préférence de gîtes de repos

Aedes japonicus est connu pour être une espèce opportuniste, colonisant toutes sortes d'habitats (Sunahara et al., 2002).

De manière générale, *Ae. japonicus* est principalement une espèce forestière : elle est présente plutôt en lisière de forêt (Murrell et al., 2015). Ainsi, la coupe des arbres qui fait disparaître l'habitat entraîne une diminution des populations de ce moustique (Camille Hopkins et al., 2018). De plus, *Aedes japonicus* préfère les zones couvertes (canopée fermée) et l'ombre. Il a été constaté que cette espèce avait besoin d'une humidité relative constante (L. F. Chaves, 2016), pourtant il est absent des rizières dans son aire d'origine (Tsuda et al., 1994). Dans son aire d'origine, il est présent en zone urbaine ainsi que dans les forêts de bambous et de chênes. La présence d'*Ae. japonicus* est également corrélée négativement avec l'altitude au Japon (L. F. Chaves, 2016). Dans les zones colonisées, *Ae. japonicus* est également présent en milieu rural (Bartlett-Healy et al. 2012) mais aussi en milieu urbain, où l'un des lieux favorablement colonisés sont les cimetières (Becker et al. 2011).

d. Préférence de sites de pontes

Aedes japonicus pond ses œufs dans des cavités de roche (Andreadis et al., 2001; Armistead et al., 2012; Scott, 2003; Tanaka et al., 1979), dans des creux d'arbres (Andreadis et al., 2001; Bevins, 2007; Tsuda et al., 1994) ou dans les dépressions du sol (Kaufman & Fonseca, 2014). Des gîtes artificiels, plutôt larges, peuvent aussi être colonisés : pneus stockés à l'extérieur, collecteurs d'eau de pluie, récipients, seaux et divers contenants en pierre, en béton, en plastique ou encore en métal (Andreadis et al., 2001; Bartlett-Healy et al., 2012; Kaufman & Fonseca, 2014; Murrell et al., 2015; Sáringer-Kenyeres & Kenyeres, 2019). Les collecteurs d'eau de pluie et de drainage, comme les puisards ou les bassins de rétention, sont aussi des gîtes où *Ae. japonicus* peut pondre (Kaufman & Fonseca, 2014). Ainsi, les habitats persistants sont favorisés mais les grosses collections d'eau de plus d'un mètre carré de surface, ne sont pas favorable à l'espèce (Sunahara et al., 2002). D'autres petits contenants comme les cendriers sont aussi utilisés (Kampen & Werner, 2014; Sáringer-Kenyeres & Kenyeres, 2019) car ils permettent d'éviter la prédation mais augmente la compétition entre larves de moustiques (Sunahara et al., 2002). Les divers vases présents dans les cimetières sont également des lieux de ponte d'*Ae. japonicus* (Schaffner et al., 2009).

Les gîtes de pontes d'*Ae. japonicus* sont plutôt sombres, de couleurs noire ou grise (Bartlett-Healy et al., 2012). Les gîtes à l'ombre (Armistead et al., 2012; Bartlett-Healy et al., 2012) sont donc favorisés, d'autant que l'eau qu'ils contiennent est généralement plus fraîche qu'une eau exposée au soleil. En effet, il a été constaté une corrélation négative entre la température et la présence d'*Ae. japonicus* ; les fortes chaleurs inhibant le développement des larves (Reuss et al., 2018; Scott, 2003). *Aedes japonicus* préfère également les eaux peu riches en nutriments (L. Chaves & Moji, 2017). Les éléments solides, plutôt que ceux en suspensions, favorisent le comportement d'alimentation car les larves ont tendance à moins filtrer et plutôt à brouter les surfaces des aliments (O'Donnell & Armbruster, 2007). Les larves d'*Ae. japonicus* sont, en effet, stimulées par la présence de phagostimulants en laboratoire. Cependant, il a été constaté en conditions naturelles que les larves de ce moustique sont plus filtreuses qu'en laboratoire (O'Donnell & Armbruster, 2007).

L'utilisation d'infusions de végétaux dans les pièges pondoirs pour attirer ce moustique a des effets variables, pouvant être attractants (Andreadis et al., 2001; Bartlett-Healy et al., 2012) ou sans effet (Balestrino et al., 2016). De manière anecdotique, l'infusion de champignons ou de fécès d'élan a servi d'attractant dans des pièges pondoirs (A. Fielden et al., 2015).

e. Fécondité

Aedes japonicus est une espèce multivoltine, c'est-à-dire que plusieurs générations se succèdent par an (Kaufman & Fonseca, 2014). Une femelle peut pondre plusieurs dizaines d'œufs, comme le montre le **Tableau 3**. Certains œufs ne sont pas déposés dans le gîte larvaire et sont retenus par la femelle : Oliver et Howard ont retrouvé une moyenne de 12 œufs retenus dans leurs expériences (Oliver & Howard, 2005). Le comportement d'oviposition, c'est-à-dire de ponte des œufs, est plutôt réalisé au crépuscule ou juste avant l'aube (Lorenz et al., 2013).

Tableau 3. Nombre d'œufs produits par femelle d'*Ae. japonicus*.

Nombre d'œufs pondus par femelle	Référence
114 ± 51	(Oliver & Howard, 2005)

64 ± 23	(Armistead, Arias, et al., 2008)
185 ± 24	(Hoshino et al., 2010)

Plusieurs paramètres sont connus pour influencer la fécondité, comme la source du repas de sang, le cycle gonotrophique ou les précédents accouplements (Oliver & Howard, 2005). La longueur de la veine R1 de l'aile permet d'estimer la taille de l'adulte et donc la fécondité des individus et de l'espèce à l'aide de régressions linéaires. Des mesures sont présentées dans le *Tableau 4*.

Tableau 4. Mesure de la veine R1 d'ailes d'*Ae. japonicus* et lien avec la fécondité. Les régressions linéaires permettent d'obtenir le nombre d'œufs produits par la femelle selon la taille de la veine R1 de l'aile.

Mesure de la R1 (mm)	Régression linéaire	Référence
♀ : 3,81 ± 0,38	R1=3,22054+0.0047(Nb œuf)	(Oliver & Howard, 2005)
♀ : 3,4 ± 0,2	Nb œufs = 53,078(R1)-113,91	(Armistead, Arias, et al., 2008)
♀ à 10°C : 4,18 ± 0,14	Non déterminé	(Reuss et al., 2018)
♂ à 10°C : 3,33 ± 0,11	Non applicable	(Reuss et al., 2018)
♀ à 31°C : 3,04 ± 0,12	Non déterminé	(Reuss et al., 2018)
♂ à 31°C : 2,56 ± 0,09	Non applicable	(Reuss et al., 2018)

f. Compétition

La compétition se définit comme une interaction entre deux populations, où l'une d'elle a un impact négatif sur l'autre. La compétition peut avoir lieu entre au moins deux espèces différentes (compétition interspécifique) ou entre individus d'une même espèce (compétition intraspécifique). Les espèces de moustiques dites de creux d'arbres, sont limitées par les ressources présentes dans le site de ponte clos où se développent les larves. L'augmentation des ressources permet alors de baisser la compétition entre les larves (Lorenz et al., 2013). En ce qui concerne *Ae. japonicus*, il est avancé que la compétition intraspécifique a plus d'impact que la compétition interspécifique. Ainsi, les populations sont régulées par les densités

larvaires présentes dans le gîte larvaire (L. Chaves & Moji, 2017; Hardstone & Andreadis, 2012) ; on parle alors de régulation densité-dépendante (L. Chaves & Moji, 2017). En forte densité, le développement larvaire est plus long, la mortalité augmente et il en résulte une diminution de la longueur de l'aile chez les femelles à l'émergence, traduisant une baisse de fécondité (Hardstone & Andreadis, 2012).

La compétition larvaire a été testée avec d'autres moustiques de creux d'arbres du genre *Aedes*, comme *Ae. albopictus* (Armistead, Arias, et al., 2008), *Ae. atropalpus* (Hardstone & Andreadis, 2012), ou encore *Ae. triseriatus* (Hardstone & Andreadis, 2012) qui partagent des gîtes similaires à ceux d'*Ae. japonicus* (Kaufman & Fonseca, 2014). *Aedes albopictus*, en particulier, utilise les mêmes gîtes larvaires qu'*Ae. japonicus* (Cunze et al., 2016). Ces deux espèces peuvent coexister (Kaufman & Fonseca, 2014) et la présence de ces deux espèces dans un même gîte est liée à l'environnement avoisinant (L. F. Chaves, 2016). *Aedes japonicus* est considéré comme un moins bon compétiteur qu'*Ae. albopictus* en raison d'une survie inférieure, d'un temps de développement plus long et d'une population moins nombreuse en présence de la seconde espèce (Armistead, Arias, et al., 2008). La compétition a un effet d'autant plus important sur la taille de l'aile, et donc sur la fécondité, que la densité larvaire est forte et, par conséquent, que la compétition augmente (Armistead, Arias, et al., 2008). Cependant les interactions entre ces deux espèces peuvent être limitées par des utilisations différentes des ressources et de l'habitat (L. F. Chaves, 2016). Au Japon, où *Ae. japonicus* est autochtone tandis qu'*Ae. albopictus* est invasif, ces deux espèces sont fréquemment trouvées dans les mêmes gîtes, sans exclusion de l'une ou l'autre. Les auteurs soulignent néanmoins que le réchauffement climatique pourrait être une cause de disparition d'*Ae. japonicus*, qui préfère les températures plus froides (Nihei et al., 2014). En présence de l'espèce *Ae. atropalpus*, il a été constaté qu'*Ae. japonicus* était plus sensible à la densité larvaire et donc à la compétition intraspécifique (Armistead, Nishimura, et al., 2008). La compétition a aussi été testée avec des moustiques du genre *Culex* tels que *Cx. restuans* et *Cx. pipiens* (Hardstone & Andreadis, 2012). En effet, *Ae. japonicus* colonise également des gîtes où sont présents ces espèces (Kaufman & Fonseca, 2014). *Aedes japonicus* est aussi retrouvé dans l'environnement en présence de *Cx. pipiens* et *Ae. geniculatus* ; de la compétition peut alors aussi survenir entre toutes ces espèces (Sáringer-Kenyeres & Kenyeres, 2019). Il faut cependant noter que la compétition peut être évitée par *Ae. japonicus*, en pondant ses œufs plus tôt dans la saison que les autres compétiteurs (Murrell et al., 2015).

Étant donné qu'*Ae. japonicus* utilise une grande variété de gîtes larvaires, sa rencontre avec des prédateurs en milieu naturel est très probable (Sunahara et al., 2002). En effet, les grands espaces favorisent la présence de prédateurs aquatiques et donc la pression de prédation (Sunahara et al., 2002). Les larves peuvent alors être exposées à des prédateurs aquatiques, telles que les larves de moustiques prédatrices du genre *Toxorhynchites* dont *Tx. rutilus* (Freed et al., 2014; Kaufman & Fonseca, 2014), des punaises aquatiques de la famille des Notonectidae ou des larves du genre *Chaoborus* (Sunahara et al., 2002). Du fait de leur comportement alimentaire, les larves d'*Ae. japonicus* sont plus actives et donc plus soumises à la prédation par les larves de *Tx. rutilus* que d'autres espèces de moustiques (O'Donnell & Armbruster, 2007). Cependant, en présence d'autres larves compétitrices comme *Ae. triseriatus*, la pression de prédation permet de réduire la pression de compétition en diminuant les densités de populations des deux *Aedes* présentes (Freed et al., 2014). Il a ainsi été observé qu'*Ae. japonicus* évitait les creux de pierres, qui sont des gîtes larvaires de *Tx. rutilus*, évitant ainsi la prédation par ces dernières (Freed et al., 2014).

Il a été trouvé sur *Ae. japonicus* des parasites comme les protozoaires *Ascogregarina japonicus* dans son aire de répartition au Japon ou encore *Ascogregarina taiwanensis* en dehors du Japon, pouvant affecter sa survie et donc son expansion (Erthal et al., 2012). De même, des mites aquatiques du genre *Parathyas* (Hydryphantidae : Euthyadinae) ont été retrouvées sur les adultes, diminuant alors la fécondité et la survie des individus parasités malgré une faible proportion de parasitisme (1/3964 individus) (Manges et al., 2018).

g. Passage de l'hiver

Le passage de l'hiver en zone tempérée est un élément clef pour la survie des populations d'années en années. Bien que fortement suspectée puisque les larves et les œufs sont cités comme les stades hivernants (Armistead et al., 2012; Day et al., 2021; Tanaka et al., 1979), la diapause n'a jamais été formellement démontrée chez *Ae. japonicus* à notre connaissance. Les œufs d'*Ae. japonicus*, présentés en **Figure 7**, sont de couleur noire mate, font 591 µm de long pour 172µm de large. Ils sont allongés en forme de cigare et l'exochorion est orné de nombreux tubercules, avec un col apical bien visible. Plusieurs éléments jouent pourtant en faveur de la diapause tels que des œufs dessiccants (Versteirt et al., 2009) ou encore les femelles qui sont

photosensibles (Bova et al., 2019). La diapause reste donc à confirmer pour cette espèce et le cas échéant, l'étude de sa caractérisation permettrait une meilleure compréhension de son processus d'invasion.



Figure 7. Œufs d'*Ae. japonicus*. Photographiés au microscope, grossissement x 2*10*10. 0,46µm/pixel. Crédit photo : Eva Krupa.

h. Dispersion

La dispersion peut être divisée en deux types : la dispersion passive, assistée par le vent ou le transport favorisé par l'Homme ; et la dispersion active mobilisant les ailes du moustique et prenant place dans les comportements journaliers des individus (Verdonschot & Besse-Lototskaya, 2014). La dispersion est aussi soumise à l'influence de nombreux facteurs.

Les espèces du genre *Aedes* sont généralement classées comme mauvaises volantes (moins de 50 mètres) ou comme très bonnes volantes (plus de 4000 mètres) (Verdonschot & Besse-Lototskaya, 2014). En ce qui concerne *Ae. japonicus*, ses capacités de dispersion ne sont pas totalement connues, bien que diverses études suggèrent une grande capacité de dispersion, notamment active (Müller et al., 2020). Ainsi en sept ans, cette espèce a migré d'une centaine de kilomètres en Hongrie (Seidel, Nowotny, et al., 2016), ce qui correspond à une dispersion de 14,3 kilomètres par an. Une méta analyse des distances de vol des moustiques reporte une distance d'1,6 kilomètre réalisée par ce moustique (Verdonschot & Besse-Lototskaya, 2014). Cette valeur est tirée de Moberly *et al.* (2005) qui, lors de la découverte de *Ae. japonicus* dans le Sud de l'Indiana (Etats-Unis), mentionne dans son introduction une capacité de vol inférieure à 1,6 km ce qui expliquerait que sa colonisation entre les états soit favorisée par le transport passif. Or, ces derniers auteurs citent pour une telle référence l'étude de Fonseca et al. (2001) qui analyse la variation génétique de cette espèce et ne fait nullement mention de cette capacité de vol de 1,6 km. Ainsi, à notre

connaissance, aucune étude en laboratoire ou sur le terrain n'a permis d'évaluer les capacités de vol de *Ae. japonicus*.

i. Rôle vecteur d'*Ae. japonicus*

En plus d'être invasif, *Ae. japonicus* est susceptible d'être vecteur de divers agents pathogènes, pouvant causer des maladies humaines et animales. Ainsi dans l'environnement, ce moustique a été retrouvé porteur du virus de Cache Valley (Bunyaviridae: Orthobunyavirus)(Andreadis et al., 2014), du virus de l'encéphalite La Crosse (LACV) (Bunyaviridae: Orthobunyavirus)(Harris et al., 2015; Westby et al., 2015) et du virus du Nil Occidental (WNV) (Flaviviridae : Flavivirus) [CDC. 2000. West Nile Virus Activity -New York and New Jersey, 2000. Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR).]

En laboratoire, il a été testé compétent pour la transmission de ces mêmes virus (LACV (Bara et al., 2016; Sardelis, Turell, et al., 2002) et WNV (Huber et al., 2014; Turell et al., 2001; Wagner et al., 2018)) mais également de nombreux autres : virus du chikungunya (Togaviridae : Alphavirus) (CHIKV) et virus de la dengue (Flaviviridae : Flavivirus) (DENV)(Schaffner et al., 2011), virus de l'encéphalomyélite équine de l'Est (Togaviridae : Alphavirus) (EEEV)(Sardelis, Dohm, et al., 2002), virus Getah (Togaviridae : Alphavirus)(Takashima & Hashimoto, 1985), virus de l'encéphalite japonaise (JEV) (Flaviviridae : Flavivirus) (Huber et al., 2014; Takashima & Rosen, 1989), virus de la Fièvre de la vallée du Rift (RVFV) (Phenuiviridae : Phlebovirus)(Turell et al., 2013) et le virus de l'encéphalite de Saint Louis (SLEV) (Flaviviridae : Flavivirus)(Sardelis et al., 2003).

De plus, *Ae. japonicus* a également été testé en laboratoire pour la transmission de parasites (*Dirofilaria immitis* et *Dirofilaria repens*) responsables de filarioses (Silaghi et al., 2017).

j. Conclusion

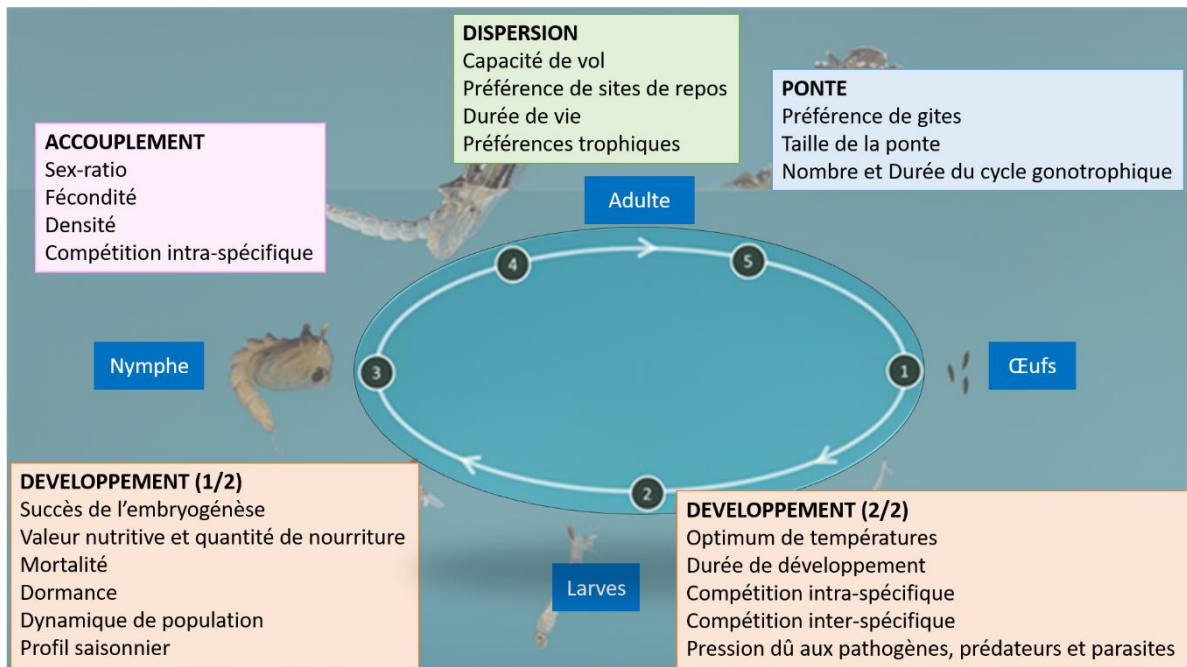


Figure 8. Traits d'histoire de vie classés selon le stade qu'ils impactent. Les THV sont classés en quatre catégories : ceux impactant les stades immatures et donc les transitions entre les stades du cycle de vie, présentés dans les encarts orange « développement ». Pour le stade adulte, les THV impactant la reproduction sont présentés dans l'encart rose « accouplement » et l'encart bleu « ponte ». L'encart vert « dispersion » présente les THV pouvant impacter la distribution de l'espèce.

Sur la **Figure 8**, le développement correspond aux stades immatures (*i.e.* œufs, larves et nymphes). La dispersion n'est appliquée qu'aux imagos car *Ae. japonicus* étant une espèce de creux d'arbres, la dispersion naturelle des larves est supposée être limitée.

Cette dernière figure offre un panorama des principaux THV chez *Ae. japonicus*. Les paragraphes précédents ont dressé un état des lieux des connaissances sur cette espèce. Certains traits biologiques sont bien connus dans la littérature, tandis que d'autres comme la dispersion active (capacités de vol) ou la dormance (quiescence et diapause à l'état d'œufs) restent à investiguer plus en profondeur.

Partie D : Objectifs

Nous avons donc vu qu'*Ae. japonicus* était une espèce invasive, qui possède des caractéristiques biologiques pouvant être un frein à sa colonisation : ce n'est pas une espèce très compétitrice, ni très tolérante aux variables de l'environnement. Pourtant, elle continue son expansion dans le monde alors que des zones d'ombres persistent sur son succès invasif, en particulier sur ses moyens de passer l'hiver et ses capacités de dispersion. Plusieurs inconnues persistent sur la biologie du moustique invasif *Ae. japonicus* ce qui limite la compréhension de son succès d'invasion.

Objectif principal

L'objectif principal de cette thèse est de caractériser les traits biologiques du moustique invasif *Aedes japonicus japonicus* (Theobald) (Diptera : Culicidae) dans le Nord-Est de la France.

Pour atteindre cet objectif, une meilleure compréhension de sa biologie dans un contexte environnemental particulier est nécessaire: cette espèce doit s'adapter au climat tempéré local, impliquant des hivers froids et des épisodes de fortes chaleurs. L'état des connaissances décrit tout au long de l'introduction de cette thèse a permis de dégager deux paramètres essentiels, la diapause et les capacités de vol, ce qui nous a conduit à définir des objectifs spécifiques et structurer la thèse comme détaillé ci-dessous.

Objectifs spécifiques et structure de cette thèse

Avant d'aborder les capacités de vol, il est essentiel dans un premier temps de commencer par étudier la colonisation passée en identifiant la sous espèce présente en Alsace grâce à des approches moléculaires, présentée au **chapitre II**. De plus, nous étudierons les similarités de la population locale avec les autres populations invasives d'Europe.

Une fois cette population locale caractérisée, nous nous intéresserons ensuite à caractériser un premier trait d'histoire de vie d'*Ae. japonicus*. Nous y investiguerons donc les capacités de vol de cette espèce à travers un protocole de vol restreint via l'utilisation d'un flight mill en conditions de laboratoire dont les résultats sont présentés au **chapitre III**.

Au cours du **chapitre IV**, nous nous pencherons sur la caractérisation des œufs. D'une part, nous étudierons leur morphologie ; ainsi que leur patron de présence dans l'environnement au cours de l'année, afin de déterminer la période de ponte de l'espèce. D'autre part, nous étudierons la dormance des œufs d'*Ae. japonicus* et caractériserons celle-ci ainsi que son évolution au cours de la saison.

Dans le **chapitre V**, nous essayerons de mieux comprendre la colonisation du milieu par *Ae. japonicus*. Pour cela, nous étudierons la dynamique de population d'*Ae. japonicus* dans le Nord-Est de la France à l'aide d'un modèle mécanistique, reprenant les principales données obtenues dans les parties précédentes ainsi que celles issues de la littérature. Afin d'ajuster au mieux ce modèle, nous caractériserons au préalable le développement des stades larvaires de notre population locale. Les résultats obtenus nous permettent ainsi de mieux comprendre les capacités d'invasion de ce moustique dans le Nord-Est de la France.

L'ensemble des travaux réalisés seront largement discutés au cours du **chapitre VI** qui se clôturera par une conclusion générale sur les capacités d'invasion d'*Ae. japonicus*.

Références

- Aberlenc, H.-P. (2021). Les insectes du monde—Biodiversité, classification, clés de détermination des familles (Editions Quae-Museo).
<https://www.quae.com/produit/1672/9782759232734/les-insectes-du-monde>
- Adhami, J., & Reiter, P. (1998). Introduction and establishment of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* Skuse (Diptera : Culicidae) in Albania. *Journal of the American Mosquito Control Association* (USA). <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US1997085439>
- Allgood, D. W., & Yee, D. A. (2014). Influence of resource levels, organic compounds and laboratory colonization on interspecific competition between the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* (*Stegomyia albopicta*) and the southern house mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Medical and Veterinary Entomology*, 28(3), 273-286.
<https://doi.org/10.1111/mve.12047>
- Andreadis, T. G., Anderson, J. F., Munstermann, L. E., Wolfe, R. J., & Florin, D. A. (2001). Discovery, distribution, and abundance of the newly introduced mosquito *Ochlerotatus japonicus* (Diptera : Culicidae) in Connecticut, USA. *Journal of Medical Entomology*, 38(6), 774-779.
- Andreadis, T. G., Armstrong, P. M., Anderson, J. F., & Main, A. J. (2014). Spatial-temporal analysis of Cache Valley virus (Bunyaviridae : Orthobunyavirus) infection in anopheline and culicine mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the northeastern United States, 1997-2012. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, 14(10), 763-773.
<https://doi.org/10.1089/vbz.2014.1669>

- Armbruster, P., & Hutchinson, R. A. (2002). Pupal mass and wing length as indicators of fecundity in *Aedes albopictus* and *Aedes geniculatus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 39(4), 699-704. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.4.699>
- Armistead, J. S., Arias, J. R., Nishimura, N., & Lounibos, L. P. (2008). Interspecific larval competition between *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera : Culicidae) in northern Virginia. *Journal of Medical Entomology*, 45(4), 629-637.
- Armistead, J. S., Nishimura, N., Arias, J. R., & Lounibos, L. P. (2012). Community ecology of container mosquitoes (Diptera : Culicidae) in Virginia following invasion by *Aedes japonicus*. *Journal of Medical Entomology*, 49(6), 1318-1327.
- Armistead, J. S., Nishimura, N., Escher, R. L., & Lounibos, L. P. (2008). Larval competition between *Aedes japonicus* and *Aedes atropalpus* (Diptera : Culicidae) in simulated rock pools. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 33(2), 238-246.
- Balestrino, F., Schaffner, F., La Forgia, D., Paslaru, A., Torgerson, P., Mathis, A., & Veronesi, E. (2016). Field evaluation of baited traps for surveillance of *Aedes japonicus japonicus* in Switzerland. *Medical and veterinary entomology*, 30, 64-72. <https://doi.org/10.1111/mve.12152>
- Bara, J. J., Parker, A. T., & Muturi, E. J. (2016). Comparative susceptibility of *Ochlerotatus japonicus*, *Ochlerotatus triseriatus*, *Aedes albopictus*, and *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae) to La Crosse Virus. *Journal of Medical Entomology*, 53(6), 1415-1421. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw097>
- Bartlett-Healy, K., Unlu, I., Obenauer, P., Hughes, T., Healy, S., Crepeau, T., Farajollahi, A., Kesavaraju, B., Fonseca, D., Schoeler, G., Gaugler, R., & Strickman, D. (2012). Larval

- mosquito habitat utilization and community dynamics of *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 49(4), 813-824.
- Becker, N., Huber, K., Pluskota, B., & Kaiser, A. (2011). *Ochlerotatus japonicus japonicus* – a neozoon in Germany and a revised list of the German mosquito fauna. *Eur. Mosq. Bull.*, 29.
- Becker, N., Schön, S., Klein, A.-M., Ferstl, I., Kizgin, A., Tannich, E., Kuhn, C., Pluskota, B., & Jöst, A. (2017). First mass development of *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae)—Its surveillance and control in Germany. *Parasitology Research*, 116(3), 847-858. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5356-z>
- Bevins, S. N. (2007). Establishment and abundance of a recently introduced mosquito species *Ochlerotatus japonicus* (Diptera : Culicidae) in the Southern Appalachians, USA. *Journal of Medical Entomology*, 44(6), 945-952.
- Bonizzoni, M., Gasperi, G., Chen, X., & James, A. A. (2013). The invasive mosquito species *Aedes albopictus* : Current knowledge and future perspectives. *Trends in Parasitology*, 29(9), 460-468. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2013.07.003>
- Bova, J., Soghigian, J., & Paulson, S. (2019). The prediapause stage of *Aedes japonicus japonicus* and the evolution of embryonic diapause in Aedini. *Insects*, 10(8), 222. <https://doi.org/10.3390/insects10080222>
- Cameron, E. C., Wilkerson, R. C., Mogi, M., Miyagi, I., Toma, T., Kim, H.-C., & Fonseca, D. M. (2010). Molecular phylogenetics of *Aedes japonicus*, a disease vector that recently invaded Western Europe, North America, and the Hawaiian islands. *Journal of Medical Entomology*, 47(4), 527-535. <https://doi.org/10.1603/me09259>
- Camille Hopkins, M., A. Thomason, C., Brown, B., Kirkpatrick, L., Paulson, S., & Hawley, D. (2018). Experimental logging alters the abundance and community composition of

- ovipositing mosquitoes in the southern Appalachians : Logging effects on adult mosquitoes. *Ecological Entomology*. <https://doi.org/10.1111/een.12518>
- Carrieri, M., Bacchi, M., Bellini, R., & Maini, S. (2003). On the competition occurring between *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) in Italy. *Environmental Entomology*, 32, 1313-1321. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-32.6.1313>
- Chaves, L. F. (2016). Globally invasive, withdrawing at home : *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* facing the rise of *Aedes flavopictus*. *International Journal of Biometeorology*, 60(11), 1727-1738. <https://doi.org/10.1007/s00484-016-1162-7>
- Chaves, L., & Moji, K. (2017). Density dependence, landscape, and weather impacts on aquatic *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) abundance along an urban altitudinal gradient. *Journal of Medical Entomology*, 55. <https://doi.org/10.1093/jme/tjx200>
- Ciota, A. T., Matarachio, A. C., Kilpatrick, A. M., & Kramer, L. D. (2014). The effect of temperature on life history traits of *Culex* mosquitoes. *Journal of Medical Entomology*, 51(1), 55-62. <https://doi.org/10.1603/me13003>
- Clements, A. N. (1992). The Biology of mosquitoes. Volume 1. Development, nutrition and reproduction : By A. N. Clements. 509 pp. London, Chapman and Hall. 1992. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 52(6), 579. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1995.52.579>
- Cunze, S., Koch, L. K., Kochmann, J., & Klimpel, S. (2016). *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus*—Two invasive mosquito species with different temperature niches in Europe. *Parasites & Vectors*, 9(1), 573. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1853-2>
- Day, C. A., Lewandowski, K., Vonesh, J. R., & Byrd, B. D. (2021). Phenology of rock pool mosquitoes in the Southern Appalachian Mountains : Surveys reveal apparent winter hatching of *Aedes japonicus* and the potential For asymmetrical stage-specific

- interactions. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 36(4), 216-226.
<https://doi.org/10.2987/20-6964.1>
- Delatte, H., Dehecq, J. s., Thiria, J., Domerg, C., Paupy, C., & Fontenille, D. (2008). Geographic distribution and developmental sites of *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae) during a Chikungunya epidemic event. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 8(1), 25-34.
<https://doi.org/10.1089/vbz.2007.0649>
- Delatte, H., Desvars, A., Bouétard, A., Bord, S., Gimonneau, G., Vourc'h, G., & Fontenille, D. (2009). Blood-feeding behavior of *Aedes albopictus*, a vector of Chikungunya on La Réunion. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 10(3), 249-258.
<https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0026>
- Delaunay, P., Mathieu, B., Marty, P., Fauran, P., & Schaffner, F. (2007). Chronology of the development of *Aedes albopictus* in the Alpes-Maritimes department of France, from 2002 to 2005. *Médecine tropicale : revue du Corps de santé colonial*, 67, 310-311.
- Denlinger, D. L., & Armbruster, P. A. (2014). Mosquito diapause. *Annual Review of Entomology*, 59(1), 73-93. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162023>
- Diniz, D. F. A., de Albuquerque, C. M. R., Oliva, L. O., de Melo-Santos, M. A. V., & Ayres, C. F. J. (2017). Diapause and quiescence : Dormancy mechanisms that contribute to the geographical expansion of mosquitoes and their evolutionary success. *Parasites & Vectors*, 10. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2235-0>
- Dufourd, C., & Dumont, Y. (2013). Impact of environmental factors on mosquito dispersal in the prospect of sterile insect technique control. *Computers & Mathematics with Applications*, 66(9), 1695-1715. <https://doi.org/10.1016/j.camwa.2013.03.024>
- Eritja, R., & Herreros, E. (2017). Spatial distribution of immature stages of *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera : Culicidae) in flower pots in a spanish cemetery and field evaluation

- of metallic copper as a control agent. *Journal of the European Mosquito Control Association*, 35, 13-17.
- Eritja, R., Palmer, J. R. B., Roiz, D., Sanpera-Calbet, I., & Bartumeus, F. (2017). Direct evidence of adult *Aedes albopictus* dispersal by car. *Scientific Reports*, 7(1), 14399. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12652-5>
- Eritja, R., Ruiz-Arrondo, I., Delacour-Estrella, S., Schaffner, F., Álvarez-Chachero, J., Bengoa, M., Puig, M.-Á., Melero-Alcíbar, R., Oltra, A., & Bartumeus, F. (2019). First detection of *Aedes japonicus* in Spain : An unexpected finding triggered by citizen science. *Parasites & Vectors*, 12(1), 53. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3317-y>
- Evans, B. R., Joyce, C. R., & Porter, J. E. (1963). Mosquitoes and other arthropods found in baggage compartments of international aircraft. *Mosquito News*, 23(1), 9-12.
- Erthal, J. A., Soghigian, J. S., & Livdahl, T. (2012). Life cycle completion of parasite *Ascogregarina taiwanensis* (Apicomplexa : Lecudinidae) in non-native host *Ochlerotatus japonicus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 49(5), 1109-1117. <https://doi.org/10.1603/me12018>
- Fielden, A. M., Chaulk, A., Carson, K., Wiersma, Y., Erbland, M., Whitney, H., & Chapman, T. (2015). *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) arrives at the most easterly point in North America. *The Canadian Entomologist*, 1, 1-4. <https://doi.org/10.4039/tce.2015.5>
- Fonseca, D. M., Campbell, S., Crans, W. J., Mogi, M., Miyagi, I., Toma, T., Bullians, M., Andreadis, T. G., Berry, R. L., Pagac, B., Sardelis, M. R., & Wilkerson, R. C. (2001). *Aedes* (Finlaya) *japonicus* (Diptera : Culicidae), a newly recognized mosquito in the United States : Analyses of genetic variation in the United States and putative source populations.

Journal of Medical Entomology, 38(2), 135-146. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.2.135>

Freed, T. Z., Kesavaraju, B., & Leisnham, P. T. (2014). Effects of competition and predation by native mosquitoes on the North American invasion of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 51(6), 1159-1167. <https://doi.org/10.1603/ME13179>

Goodman, H., Egizi, A., Fonseca, D. M., Leisnham, P. T., & LaDeau, S. L. (2018). Primary blood-hosts of mosquitoes are influenced by social and ecological conditions in a complex urban landscape. *Parasites & Vectors*, 11(1), 218. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2779-7>

Harbach, R. E. (2007). The Culicidae (Diptera): A review of taxonomy, classification and phylogeny. *Zootaxa*, 1668(1), 591–638. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.1668.1.28>

Hardstone, M. C., & Andreadis, T. G. (2012). Weak larval competition between the invasive mosquito *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) and three resident container-inhabiting mosquitoes in the laboratory. *Journal of Medical Entomology*, 49(2), 277-285.

Harris, M. C., Dotseth, E. J., Jackson, B. T., Zink, S. D., Marek, P. E., Kramer, L. D., Paulson, S. L., & Hawley, D. M. (2015). La Crosse Virus in *Aedes japonicus japonicus* mosquitoes in the Appalachian Region, United States. *Emerging Infectious Diseases*, 21(4), 646-649. <https://doi.org/10.3201/eid2104.140734>

Hawley, W. A. (1988). The biology of *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association. Supplement*, 1, 1-39.

- Hawley, W. A., Reiter, P., Copeland, R. S., Pumpuni, C. B., & Craig, G. B. (1987). *Aedes albopictus* in North America : Probable introduction in used tires from northern Asia. *Science*, 236(4805), 1114-1116. <https://doi.org/10.1126/science.3576225>
- Hobbs, J. H., Hughes, E. A., & Eichold, B. H. (1991). Replacement of *Aedes aegypti* by *Aedes albopictus* in Mobile, Alabama. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 7(3), 488-489.
- Hofhuis, A., Reimerink, J., Reusken, C., Scholte, E.-J., Boer, A. de, Takken, W., & Koopmans, M. (2009). The hidden passenger of lucky bamboo : Do imported *Aedes albopictus* mosquitoes cause dengue virus transmission in the Netherlands? *Vector Borne and Zoonotic Diseases* (Larchmont, N.Y.), 9(2), 217-220. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0071>
- Honório, N. A., Castro, M. G., Barros, F. S. M. de, Magalhães, M. de A. F. M., & Sabroza, P. C. (2009). The spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in a transition zone, Rio de Janeiro, Brazil. *Cadernos De Saude Publica*, 25(6), 1203-1214. <https://doi.org/10.1590/s0102-311x2009000600003>
- Hoshino, K., Isawa, H., Tsuda, Y., & Kobayashi, M. (2010). Laboratory colonization of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) collected in Narita, Japan and the biological properties of the established colony. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 63(6), 401-404.
- Huber, K., Jansen, S., Leggewie, M., Badusche, M., Schmidt-Chanasit, J., Becker, N., Tannich, E., & Becker, S. C. (2014). *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) from Germany have vector competence for Japan encephalitis virus but are refractory to infection with West Nile virus. *Parasitology Research*, 113(9), 3195-3199. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-3983-9>

- Ibañez-Justicia, A., Kampen, H., Braks, M., Schaffner, F., Steeghs, M., Walther geb. Werner, D., Scheuch, D., den Hartog, W., Brooks, M. D., Dik, M., Van de Vossenberg, B., & Scholte, E.-J. (2014). First report of established population of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) in the Netherlands. *Journal of the European Mosquito Control Association*, *32*, 9-13.
- Janssen, N., Graovac, N., Vignjević, G., Bogojević, M. S., Turić, N., Klobučar, A., Kavran, M., Petrić, D., Čupina, A. I., Fischer, S., Werner, D., Kampen, H., & Merdić, E. (2020). Rapid spread and population genetics of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in southeastern Europe (Croatia, Bosnia and Herzegovina, Serbia). *PLOS ONE*, *15*(10), e0241235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241235>
- Kamgang, B., Nchoutpouen, E., Simard, F., & Paupy, C. (2012). Notes on the blood-feeding behavior of *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae) in Cameroon. *Parasites & Vectors*, *5*, 57. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-57>
- Kampen, H., & Werner, D. (2014). Out of the bush : The Asian bush mosquito *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) becomes invasive. *Parasites & Vectors*, *7*, 59. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-59>
- Kampen, H., Zielke, D., & Werner, D. (2012). A new focus of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) distribution in Western Germany : Rapid spread or a further introduction event? *Parasites & Vectors*, *5*, 284. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-284>
- Kaufman, M. G., & Fonseca, D. M. (2014). Invasion biology of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae). *Annual review of entomology*, *59*, 31-49. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162012>

- Krebs, T., Bindler, P., L'Ambert, G., Toty, C., Perrin, Y., & Jourdain, F. (2014). First establishment of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera : Culicidae) in France in 2013 and its impact on public health. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 39(2), 437-440. <https://doi.org/10.1111/jvec.12119>
- Kreß, A., Kuch, U., Oehlmann, J., & Müller, R. (2016). Effects of diapause and cold acclimation on egg ultrastructure : New insights into the cold hardiness mechanisms of the Asian tiger mosquito *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus*. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 41(1), 142-150. <https://doi.org/10.1111/jvec.12206>
- Krupa, E., Henon, N., & Mathieu, B. (2021). Diapause characterisation and seasonality of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera, Culicidae) in the northeast of France. *Parasite*, 28, 45. <https://doi.org/10.1051/parasite/2021045>
- Krupa, E., Schaffner, F., Bender, C., & Mathieu, B. (2020). Progression du moustique tigre en France : Surveillance transfrontalière dans le Grand-Est. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(524), 53-61. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(20\)30231-8](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30231-8)
- Kutateladze, T., Zangaladze, E., Dolidze, N., Mamatsashvili, T., Tskhvaradze, L., Andrews, E., & Haddow, A. (2016). First record of *Aedes albopictus* in Georgia and updated checklist of reported species. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 32, 230–233. <https://doi.org/10.2987/16-6574.1>
- Laird, M., Calder, L., Thornton, R. C., Syme, R., Holder, P. W., & Mogi, M. (1994). Japanese *Aedes albopictus* among four mosquito species reaching New Zealand in used tires. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 10(1), 14-23.
- Lebon, C., Soupapoule, K., Wilkinson, D. A., Le Goff, G., Damians, D., & Gouagna, L. C. (2018). Laboratory evaluation of the effects of sterilizing doses of γ -rays from Caesium-137

- source on the daily flight activity and flight performance of *Aedes albopictus* males. *PLoS One*, 13(8), e0202236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202236>
- Leishman, P. T., & Juliano, S. A. (2012). Impacts of climate, land use, and biological invasion on the ecology of immature *Aedes* mosquitoes : Implications for La Crosse emergence. *EcoHealth*, 9(2), 217-228. <https://doi.org/10.1007/s10393-012-0773-7>
- Lorenz, A. R., Walker, E. D., & Kaufman, M. G. (2013). Does autochthonous primary production influence oviposition by *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in container habitats? *Journal of Medical Entomology*, 50(1), 69-78.
- Lounibos, L. P. (2002). Invasions by insect vectors of human disease. *Annual Review of Entomology*, 47(1), 233-266. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145206>
- Madon, M. B., Mulla, M. S., Shaw, M. W., Kluh, S., & Hazelrigg, J. E. (2002). Introduction of *Aedes albopictus* (Skuse) in southern California and potential for its establishment. *Journal of Vector Ecology*, 27(1), 149-154.
- Manges, A. B., Simmons, T. W., & Hutchinson, M. L. (2018). First Record of *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae) and Second Record of *Aedes japonicus* (Diptera : Culicidae) Parasitized by Water Mites (Acari : Hydrachnidiae) in North America. *Journal of Medical Entomology*, 55(6), 1617-1621. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy105>
- Medlock, J. M., Hansford, K. M., Versteirt, V., Cull, B., Kampen, H., Fontenille, D., Hendrickx, G., Zeller, H., Bortel, W. V., & Schaffner, F. (2015). An entomological review of invasive mosquitoes in Europe. *Bulletin of Entomological Research*, 105(6), 637-663. <https://doi.org/10.1017/S0007485315000103>
- Medlock, J. M., Vaux, A. G., Cull, B., Schaffner, F., Gillingham, E., Pfluger, V., & Leach, S. (2017). Detection of the invasive mosquito species *Aedes albopictus* in southern England. *The*

Lancet Infectious Diseases, 17(2), 140. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30024-](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30024-5)

5

Michalakis, Y., & Hochberg, M. E. (1994). Parasitic effects on host life-history traits : A review of recent studies. *Parasite*, 1(4), 291-294. <https://doi.org/10.1051/parasite/1994014291>

Miyagi, I. (1972). Feeding habits of some Japanese mosquitoes on cold-blooded animals in the laboratory. *Trop. Med.*, 14, 203-217.

Moberly, S. P., Lalor, C., McDonough, M., Foster, B., Estes, A., & Bentfield, D. J. (2005). Discovery of an exotic Asian mosquito, *Ochlerotatus japonicus*, (Diptera, Culicidae) in southern Indiana. *Proceedings of the Indiana Academy of Science*, 114(1), 62-64.

Molaei, G., Farajollahi, A., Scott, J. J., Gaugler, R., & Andreadis, T. G. (2009). Human bloodfeeding by the recently introduced mosquito, *Aedes japonicus japonicus*, and public health implications. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 25(2), 210-214. <https://doi.org/10.2987/09-0012.1>

Mori, A., Oda, T., & Wada, Y. (1981). Studies on the egg diapause and overwintering of *Aedes albopictus* in Nagasaki. *Trop. Med.*, 23.

Mosquito maps. (s. d.). European Centre for Disease Prevention and Control. Consulté 23 septembre 2021, à l'adresse <https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/surveillance-and-disease-data/mosquito-maps>

Müller, P., Engeler, L., Vavassori, L., Suter, T., Guidi, V., Gschwind, M., Tonolla, M., & Flacio, E. (2020). Surveillance of invasive *Aedes* mosquitoes along Swiss traffic axes reveals different dispersal modes for *Aedes albopictus* and *Ae. Japonicus*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 14(9), e0008705. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008705>

- Murrell, E. G., Noden, B. H., & Juliano, S. A. (2015). Contributions of temporal segregation, oviposition choice, and non-additive effects of competitors to invasion success of *Aedes japonicus* (Diptera : Culicidae) in North America. *Biological Invasions*, 17(6), 1669-1681. <https://doi.org/10.1007/s10530-014-0824-9>
- Nihei, N., Komagata, O., Mochizuki, K., & Kobayashi, M. (2014). Geospatial analysis of invasion of the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* : Competition with *Aedes japonicus japonicus* in its northern limit area in Japan. *Geospatial Health*, 8(2), 417-427. <https://doi.org/10.4081/gh.2014.30>
- Nylin, S. (2001). Life history perspectives on pest insects : What's the use? *Austral Ecology*, 26(5), 507-517. <https://doi.org/10.1046/j.1442-9993.2001.01134.x>
- Nylin, S., & Gotthard, K. (1998). Plasticity in life-history traits. *Annual Review of Entomology*, 43(1), 63-83. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.43.1.63>
- O'Donnell, D. L., & Armbruster, P. (2007). Comparison of larval foraging behavior of *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 44(6), 984-989.
- Oliver, J., & Howard, J. J. (2005). Fecundity of naturally blood-fed *Ochlerotatus japonicus*. *Journal of Medical Entomology*, 42(3), 254-259.
- Organization, W. H. (2009). Règlement sanitaire international (2005) : Outil d'évaluation des principales capacités requises des ports, aéroports et postes-frontières désignés (WHO/HSE/IHR/LYO/2009.9). Article WHO/HSE/IHR/LYO/2009.9. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/70844>
- Osório, H. C., Zé-Zé, L., Neto, M., Silva, S., Marques, F., Silva, A. S., & Alves, M. J. (2018). Detection of the invasive mosquito species *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Diptera :

- Culicidae) in Portugal. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(4). <https://doi.org/10.3390/ijerph15040820>
- Pascini, T. V., Ramalho-Ortigão, M., & Martins, G. F. (2012). Morphological and morphometrical assessment of spermathecae of *Aedes aegypti* females. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 107(6), 705-712. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762012000600001>
- Peterson, A. T., & Lieberman, B. S. (2012). Species' geographic distributions through time : Playing catch-up with changing climates. *Evolution: Education and Outreach*, 5(4), 569-581. <https://doi.org/10.1007/s12052-012-0385-2>
- Peyton, E. L., Campbell, S. R., Candeletti, T. M., Romanowski, M., & Crans, W. J. (1999). *Aedes* (Finlaya) *japonicus japonicus* (Theobald), a new introduction into the United States. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 15(2), 238-241.
- Reinert, J. F., Harbach, R. E., & Kitching, I. J. (2004). Phylogeny and classification of Aedini (Diptera : Culicidae), based on morphological characters of all life stages. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 142(3), 289-368. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2004.00144.x>
- Reinert, J. F., Harbach, R. E., & Kitching, I. J. (2006). Phylogeny and classification of Finlaya and allied taxa (Diptera : Culicidae: Aedini) based on morphological data from all life stages. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 148(1), 1-101. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2006.00254.x>
- Reiter, P., & Sprenger, D. (1987). The used tire trade : A mechanism for the worldwide dispersal of container breeding mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 3(3):494-501.
- Reuss, F., Wieser, A., Niamir, A., Bálint, M., Kuch, U., Pfenninger, M., & Müller, R. (2018). Thermal experiments with the Asian bush mosquito (*Aedes japonicus japonicus*)

- (Diptera : Culicidae) and implications for its distribution in Germany. *Parasites & Vectors*, 11(1), 81. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2659-1>
- Robert, V., Günay, F., Le Goff, G., Boussès, P., Sulesco, T., Khalin, A., Medlock, J., Kampen, H., Petrić, D., & Schaffner, F. (2019). Distribution chart for Euro-Mediterranean mosquitoes (western Palaearctic region). *Journal of the European Mosquito Control Association*, 37, 1-28.
- Sabatini, A., Raineri, V., Trovato, G., & Coluzzi, M. (1990). *Aedes albopictus* in Italy and possible diffusion of the species into the Mediterranean area. *Parassitologia*, 32(3), 301-304.
- Sakai, A. K., Allendorf, F. W., Holt, J. S., Lodge, D. M., Molofsky, J., With, K. A., Baughman, S., Cabin, R. J., Cohen, J. E., Ellstrand, N. C., McCauley, D. E., O'Neil, P., Parker, I. M., Thompson, J. N., & Weller, S. G. (2001). The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32(1), 305-332. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114037>
- Sardelis, M. R., Dohm, D. J., Pagac, B., Andre, R. G., & Turell, M. J. (2002). Experimental transmission of eastern equine encephalitis virus by *Ochlerotatus j. japonicus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 39(3), 480-484. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.3.480>
- Sardelis, M. R., Turell, M. J., & Andre, R. G. (2002). Laboratory transmission of La Crosse virus by *Ochlerotatus j. japonicus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 39(4), 635-639. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.4.635>
- Sardelis, M. R., Turell, M. J., & Andre, R. G. (2003). Experimental transmission of St. Louis encephalitis virus by *Ochlerotatus j. japonicus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 19(2), 159-162.

- Sáringer-Kenyeres M., & Kenyeres Z. (2019). A case study on phenology and colonisation of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera : Culicidae). *Natura Somogyiensis*, 33, 81-86.
- Saunders, D. S. (2014). Insect photoperiodism : Effects of temperature on the induction of insect diapause and diverse roles for the circadian system in the photoperiodic response. *Entomological Science*, 17(1), 25-40. <https://doi.org/10.1111/ens.12059>
- Schaffner, F., Bellini, R., Petrić, D., Scholte, E.-J., Zeller, H., & Rakotoarivony, L. (2013). Development of guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe. *Parasites & Vectors*, 6. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-209>
- Schaffner, F., Chouin, S., & Guilloteau, J. (2003). First record of *Ochlerotatus (Finlaya) japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in metropolitan France. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 19, 1-5.
- Schaffner, F., & Karch, S. (2000). First record of *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) in metropolitan France. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences Serie 3 Sciences de la Vie (France)*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR2000003117>
- Schaffner, F., Kaufmann, C., Hegglin, D., & Mathis, A. (2009). The invasive mosquito *Aedes japonicus* in Central Europe. *Medical and Veterinary Entomology*, 23(4), 448-451. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2009.00825.x>
- Schaffner, F., & Ries, C. (2019). First evidence and distribution of the invasive alien mosquito *Aedes japonicus* (Theobald, 1901) in Luxembourg. *Bulletin de la Société des naturalistes luxembourgeois* 121, 169–183.
- Schaffner, F., Vazeille, M., Kaufmann, C., Failloux, A.-B., & Mathis, A. (2011). Vector competence of *Aedes japonicus* for chikungunya and dengue viruses. *European Mosquito Bulletin* -

Journal of the European Mosquito Control Association, 29, 141-142.

<https://doi.org/10.5167/uzh-53052>

Schönenberger, A., Wagner, S., Tuten, H., Schaffner, F., Torgerson, P., Furrer, S., Mathis, A., & Silaghi, C. (2016). Host preferences in host-seeking and blood-fed mosquitoes in Switzerland. *Medical and veterinary entomology*, 30, 39-52.
<https://doi.org/10.1111/mve.12155>

Scott, J. (2003). The Ecology of the Exotic Mosquito *Ochlerotatus (Finlay) japonicus japonicus* (Theobald 1901)(Diptera : Culicidae) and an Examination of Its Role in the West Nile Virus Cycle in New Jersey.

Seidel, B., Montarsi, F., Huemer, H. P., Indra, A., Capelli, G., Allerberger, F., & Nowotny, N. (2016). First record of the Asian bush mosquito, *Aedes japonicus japonicus*, in Italy : Invasion from an established Austrian population. *Parasites & Vectors*, 9.
<https://doi.org/10.1186/s13071-016-1566-6>

Seidel, B., Nowotny, N., Bakonyi, T., Allerberger, F., & Schaffner, F. (2016). Spread of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in Austria, 2011–2015, and first records of the subspecies for Hungary, 2012, and the principality of Liechtenstein, 2015. *Parasites & Vectors*, 9. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1645-8>

Service, M. W. (1980). Effect of wind on the behaviour and distribution of mosquitoes and blackflies. *International Journal of Biometeorology*, 24, 347-353.
<https://doi.org/10.1007/BF02250577>

Silaghi, C., Beck, R., Capelli, G., Montarsi, F., & Mathis, A. (2017). Development of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in *Aedes japonicus* and *Aedes geniculatus*. *Parasites & Vectors*, 10(1), 94. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2015-x>

- Sota, T. (1993). Response to selection for desiccation resistance in *Aedes albopictus* Eggs (Diptera : Culicidae). *Applied Entomology and Zoology*, 28, 161-168.
<https://doi.org/10.1303/aez.28.161>
- Stearns, S. C. (1977). The evolution of life history traits : A critique of the theory and a review of the data. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 8(1), 145-171.
<https://doi.org/10.1146/annurev.es.08.110177.001045>
- Stocker. (2013). AR5 Climate Change 2013 : The Physical Science Basis—IPCC.
<https://www.ipcc.ch/report/ar5/wg1/>
- Stuart, P., Paredis, L., Henttonen, H., Lawton, C., Ochoa Torres, C. A., & Holland, C. V. (2020). The hidden faces of a biological invasion : Parasite dynamics of invaders and natives. *International Journal for Parasitology*, 50(2), 111-123.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.11.003>
- Sunahara, T., Ishizaka, K., & Mogi, M. (2002). Habitat size : A factor determining the opportunity for encounters between mosquito larvae and aquatic predators. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 27(1), 8-20.
- Takashima, I., & Hashimoto, N. (1985). Getah virus in several species of mosquitoes. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 79(4), 546-550.
[https://doi.org/10.1016/0035-9203\(85\)90091-4](https://doi.org/10.1016/0035-9203(85)90091-4)
- Takashima, I., & Rosen, L. (1989). Horizontal and vertical transmission of Japanese encephalitis virus by *Aedes japonicus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 26(5), 454-458. <https://doi.org/10.1093/jmedent/26.5.454>
- Tanaka, K., Mizusawa, K., & Saugstad, E. S. (1979). A revision of the adult and larval mosquitoes of Japan (including the Ryukyu Archipelago and the Ogasawara Islands) and Korea

- (Diptera : Culicidae). *Contributions of the American Entomological Institute*, 16, vii 1–987.
- Tsuda, Y., Takagi, M., & Wada, Y. (1994). Ecological study on mosquito communities in tree holes in Nagasaki, Japan, with special reference to *Aedes albopictus* (Diptera; Culicidae). *Medical Entomology and Zoology*, 45(2), 103-111. <https://doi.org/10.7601/mez.45.103>
- Turell, M. J., Byrd, B. D., & Harrison, B. A. (2013). Potential for populations of *Aedes j. Japonicus* to transmit Rift Valley fever virus in the USA. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 29(2), 133-137. <https://doi.org/10.2987/12-6316r.1>
- Turell, M. J., O'Guinn, M. L., Dohm, D. J., & Jones, J. W. (2001). Vector competence of North American mosquitoes (Diptera : Culicidae) for West Nile virus. *Journal of Medical Entomology*, 38(2), 130-134. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.2.130>
- Vavassori, L., Saddler, A., & Müller, P. (2019). Active dispersal of *Aedes albopictus* : A mark-release-recapture study using self-marking units. *Parasites & Vectors*, 12(1), 583. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3837-5>
- Verdonschot, P., & Besse-Lototskaya, A. (2014). Flight distance of mosquitoes (Culicidae) : A metadata analysis to support the management of barrier zones around rewetted and newly constructed wetlands. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, 45, 69-79. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2013.11.002>
- Versteirt, V., Schaffner, F., Garros, C., Dekoninck, W., Coosemans, M., & Van Bortel, W. (2009). Introduction and establishment of the exotic mosquito species *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in Belgium. *Journal of medical entomology*, 46, 1464-1467. <https://doi.org/10.1603/033.046.0632>

- Wagner, S., Mathis, A., Schönenberger, A. C., Becker, S., Schmidt-Chanasit, J., Silaghi, C., & Veronesi, E. (2018). Vector competence of field populations of the mosquito species *Aedes japonicus japonicus* and *Culex pipiens* from Switzerland for two West Nile virus strains. *Medical and Veterinary Entomology*, 32(1), 121-124. <https://doi.org/10.1111/mve.12273>
- Werner, D., & Kampen, H. (2013). The further spread of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera, Culicidae) towards northern Germany. *Parasitology Research*, 112(10), 3665-3668. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3564-3>
- Westby, K. M., Fritzen, C., Paulsen, D., Poindexter, S., & Moncayo, A. C. (2015). La Crosse Encephalitis virus infection in field-collected *Aedes albopictus*, *Aedes japonicus*, and *Aedes triseriatus* in Tennessee. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 31(3), 233-241. <https://doi.org/10.2987/moco-31-03-233-241.1>
- Wilkerson, R. C., Linton, Y.-M., Fonseca, D. M., Schultz, T. R., Price, D. C., & Strickman, D. A. (2015). Making mosquito taxonomy useful : A stable classification of tribe Aedini that balances utility with current knowledge of evolutionary relationships. *PLOS ONE*, 10(7), e0133602. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133602>
- Wilkerson, R. C., Linton, Y.-M., & Strickman, D. (2021). Mosquitoes of the World. Johns Hopkins University Press. <https://www.bookdepository.com/Mosquitoes-World-Volumes-1-2-Richard-C-Wilkerson/9781421438146>
- Williamson, M., & Fitter, A. (1996). The varying success of invaders. *Ecology*, 77(6), 1661-1666. <https://doi.org/10.2307/2265769>
- Williges, E., Farajollahi, A., Scott, J. J., McCuiston, L. J., Crans, W. J., & Gaugler, R. (2008). Laboratory colonization of *Aedes japonicus japonicus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24(4), 591-593. <https://doi.org/10.2987/5714.1>

Zheng, X., Zhang, D., Li, Y., Yang, C., Wu, Y., Liang, X., Liang, Y., Pan, X., Hu, L., Sun, Q., Wang, X., Wei, Y., Zhu, J., Qian, W., Yan, Z., Parker, A. G., Gilles, J. R. L., Bourtzis, K., Bouyer, J., ... Xi, Z. (2019). Incompatible and sterile insect techniques combined eliminate mosquitoes. *Nature*, *572*(7767), 56-61. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1407-9>

Zielke, D. E., Werner, D., Schaffner, F., Kampen, H., & Fonseca, D. M. (2014). Unexpected patterns of admixture in German populations of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) underscore the importance of human intervention. *PloS One*, *9*(7), e99093. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099093>

Chapitre II. Caractérisation moléculaire d'*Ae. japonicus* présente dans le Bas-Rhin.

Introduction

Aedes japonicus est une espèce polymorphique représentée par 4 sous-espèces : *Ae. japonicus japonicus*, *Ae. j. amamiensis*, *Ae. j. yaeyamensis* et *Ae. j. shintienensis* (Tanaka et al., 1979). Bien qu'à ce jour, seule la sous-espèce *Ae. j. japonicus* ait été détectée en Europe, aucune vérification moléculaire de l'appartenance des spécimens au sein du complexe Japonicus n'avait été réalisée suite à l'introduction dans le Bas-Rhin en 2014 (Krupa et al., 2020).

Pour étudier les relations phylogénétiques, plusieurs marqueurs moléculaires peuvent être utilisés pour reconstituer les liens de parentés entre espèces et au sein d'individus d'une même espèce. Les marqueurs mitochondriaux COI et COII correspondent respectivement à une portion de la sous-unité 1 et de la sous-unité 2 du cytochrome oxydase, protéine présente dans la membrane des mitochondries et qui catalyse la réaction de réduction du dioxygène. Par cette fonction importante liée à la respiration, les gènes codant cette protéine sont donc relativement bien conservés entre les individus d'une même espèce et présentent plus de diversité entre les espèces. Ainsi, sur la base de cette constance intra-spécifique et variabilité interspécifique, Herbert et al. (2003) ont proposé le séquençage de ce marqueur COI pour le projet *barcode of life* visant à identifier les organismes à l'aide de ces « code-barres ». Toujours au niveau de l'ADNmt, le marqueur NAD4 code pour une portion de la chaîne 4 de la NADH ubiquinone oxidoréductase. Cette protéine est une sous unité de la chaîne respiratoire de la membrane mitochondrienne qui transfère les électrons de NADH à la chaîne respiratoire.

De plus, bien que jusqu'à présent seule la sous espèce binominale soit présente en Europe, plusieurs populations aux profils génétiques différents ont été identifiées, suggérant de multiples introductions de cette espèce invasive. Ces études reposent sur le polymorphisme de divers marqueurs génétiques comme le NAD4 (Cameron et al., 2010; Fonseca et al., 2001, 2010; Zielke et al., 2015) ou des loci de microsatellites (Widdel et al., 2005; Zielke et al., 2015).

Ainsi, une première population a été identifiée en Belgique, la seconde en Autriche et Slovénie, une troisième en Allemagne du Nord et de l'Ouest et la dernière regroupe des individus de l'Allemagne du Sud-Ouest, de Suisse mais aussi des Pays-Bas (Zielke et al., 2015, 2016).

Dans cette première partie, nous souhaitons donc 1) confirmer la sous-espèce présente dans le Bas-Rhin à l'aide du COI et 2) déterminer les génotypes présents dans notre zone d'étude, les relier aux populations présentes en Europe et ainsi avoir un indice sur l'origine probable de son introduction en Alsace.

Matériel et Méthodes

Les individus proviennent de la mise en élevage en laboratoire d'œufs collectés sur des pièges pondoirs installés à Reichstett (48.64 N, 7.75 E) pendant les saisons 2019 et 2020.

L'ADN total de chaque individu a été extrait à partir de 2 pattes avec le DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany) selon le protocole fourni par le fabricant. L'utilisation de 2 pattes permet d'obtenir suffisamment d'ADN tout en conservant le spécimen pour des études morphologiques ultérieures si nécessaire. L'ADN obtenu est ensuite amplifié par PCR, avec les amorces correspondant au gène ciblé. **L'annexe 6** détaille les protocoles d'extraction d'ADN et de PCR utilisés. Pour le COI, les amorces LCO1490 (forward) et HCO2198 (reverse) ont été utilisées (Folmer et al., 1994). La taille attendue du produit PCR est de 709 paires de base (pb). Pour le COII, il s'agit des amorces C2-J-3138 (forward) (alias Pierre) et de C2N3661 (alias Barbara) (reverse) décrites de Simons et al. (1994) avec un amplicon attendu de 569 pb. Pour NAD4, les amorces N4J-8502D (forward) et N4N-8944D (reverse) décrites de Fonseca et al. (2001) sont utilisées. La taille attendue de ce dernier est de 465 pb.

L'électrophorèse est réalisée dans un gel d'agarose à 1,5% à 140V pendant 25 minutes. La **Figure 9** montre la révélation de la migration des produits PCR.

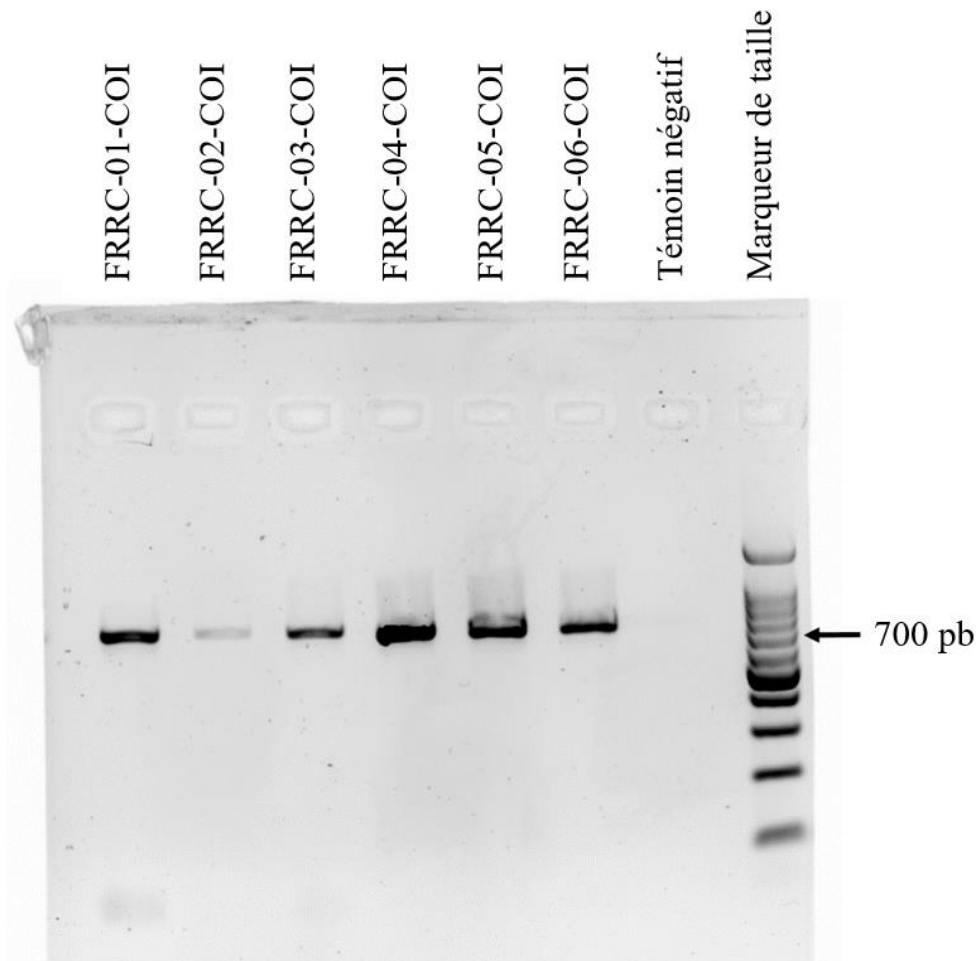


Figure 9. Photographie de la révélation de la migration des produits PCR. Le marqueur génétique amplifié est le COI, attendu à 709 pb. Une échelle moléculaire 100bp se trouve à droite de la figure. 6 spécimens de Reichstett ont été amplifiés spécifiquement : le produit PCR est bien celui attendu (autour de 700pb) sans autre amplification secondaire.

Les produits PCR sont dosés par mesure de l'absorbance à 260nm et 320nm par VarioskanLux et le logiciel SkanIT. Les concentrations des produits PCR sont ajustées à 60-70ng/ μ L pour l'envoi à purifier puis séquencer dans les deux sens de lecture par un prestataire externe.

Pour chaque spécimen, les chromatogrammes des séquences obtenues sont analysés et assemblés pour créer la séquence complète entre les deux amorces de chaque marqueur à l'aide du logiciel Geneious 10.2.6 (Biomatters, New Zeland). Les séquences sont ensuite soumises au protocole Blast (NCBI) pour confirmer la portion amplifiée (gène et espèce) puis traduit en protéine pour vérifier l'absence de pseudo-gènes. Ce terme désigne une portion de

gène qui a été insérée dans un emplacement du génome devenant non codant et dont les mutations ne sont pas corrigées en l'absence de pression de sélection.

Pour l'analyse phylogénétique, nous avons ajouté à notre jeu de données des séquences disponibles sur Genbank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/): 52 séquences pour le COI, qui correspondent à des spécimens de diverses localités pour 3 des 4 sous-espèces d'*Ae. japonicus* (la sous-espèce *Ae. j. shintienensis* n'est pas répertoriée), 17 pour COII et 11 pour NAD4, le détail étant présenté en **annexe 7**. Pour le COII et le NAD4, nous avons notamment repris les séquences utilisées par Cameron et al. (2010). Pour chaque marqueur, les séquences nucléotidiques sont alignées via le logiciel MegaX 10.2.0. (Kumar et al., 2018). Les distances génétiques entre sous-espèces d'*Ae. japonicus* (désignés par la suite comme distances interspécifiques) et au sein des individus de la sous-espèce *Ae. j. japonicus* (distances intraspécifiques) ont été mesurées par le même logiciel en utilisant les paramètres par défaut.

Le meilleur modèle de substitution nucléotidique a été déterminé par l'analyse du jeu de données par marqueur sur Jmodeltest 2.1.10 (Posada, 2008). Ainsi, le modèle sélectionné est GTR+I pour COI et COII, et GTR+G pour NAD4. Les analyses phylogénétiques bayésiennes ont été réalisées sous MrBayes 3.2.7 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) pour chaque marqueur séparément et avec la combinaison COII+NAD4. Les valeurs paramétriques de ces modèles sont présentées en **annexe 7**. Comme Cameron et al. (2010), nous avons réalisé 5 millions de générations avec une *cold chain* et trois *heated chain* (température = 0.075). A l'issue de l'analyse, les 1250 premiers arbres ont été éliminés et les 3750 restants utilisés pour la reconstruction phylogénétique. La robustesse des nœuds est exprimée par les valeurs des Probabilités Postérieures des Clades (CPP). Les arbres phylogénétiques obtenus sont analysés sous FigTree 1.4.4. (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Résultats

1. Barcoding

Les séquences de 5 individus de notre population du site d'étude de Reichstett ont été obtenues. Les résultats du protocole Blast des séquences COI de nos spécimens d'*Ae. japonicus* nous ont permis de déterminer qu'il s'agissait bien de la sous-espèce binominale. La reconstruction phylogénétique du COI révèle que nos spécimens sont génétiquement proches d'individus d'Allemagne, des Etats-Unis et des Pays-Bas (**Figure 10**).

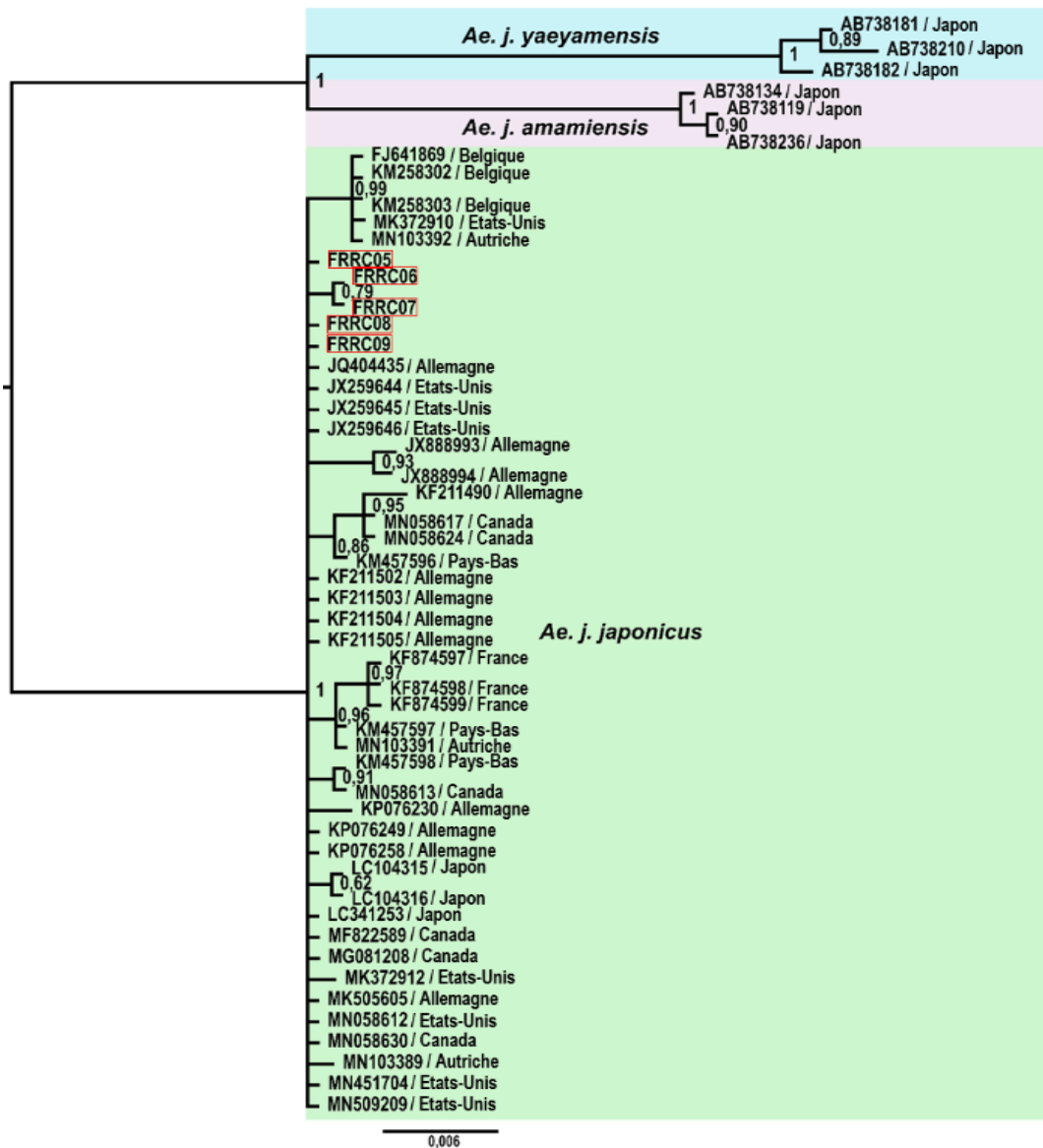


Figure 10. Arbre bayésien issu de l'analyse phylogénétique pour le marqueur COI. Nos spécimens sont encadrés en rouge. La provenance des spécimens utilisés pour les séquences d'autres études est indiquée après le numéro d'accèsion Genbank. Les valeurs des CPP sont affichées à droite du nœud correspondant. 3 clades bien distinctes permettent de séparer l'arbre phylogénétique selon les 3 sous-espèces correspondantes : *Ae. j. yaeyamensis* (en bleu), *Ae. j. amamiensis* (en rose) et *Ae. j. japonicus* (en vert).

Les mesures de distances génétiques interspécifiques sont comprises entre 7,96 % et 12,32%. Au niveau de *Ae. j. japonicus*, les distances intra-spécifiques varient de 0% à 1,66%. Lors de cette analyse, aucune séquence COI pour *Ae. shintienensis* n'était disponible (consultation Genbank le 01/08/2021).

2. Analyse du COII et de NAD4

L'analyse des 6 séquences du COII obtenues sur nos individus montre le regroupement de ces dernières au sein du clade *Ae. j. japonicus* avec une robustesse de 100% (**Figure 11**). Représentée par une seule séquence, *Ae. j. amamiensis* se discrimine toutefois des autres sous-espèces avec une CPP de 100%. Les deux dernières espèces du complexe, *Ae. j. shintienensis* et *Ae. j. yaeyamensis* sont plus proches mais ces deux clades restent très bien discriminés par l'analyse avec une CPP de 93%. Les mesures de distances génétiques interspécifiques sont de 5,62 % à 11,97% et les distances intra-spécifiques pour *Ae. j. japonicus* varient de 0% à 2,01%.

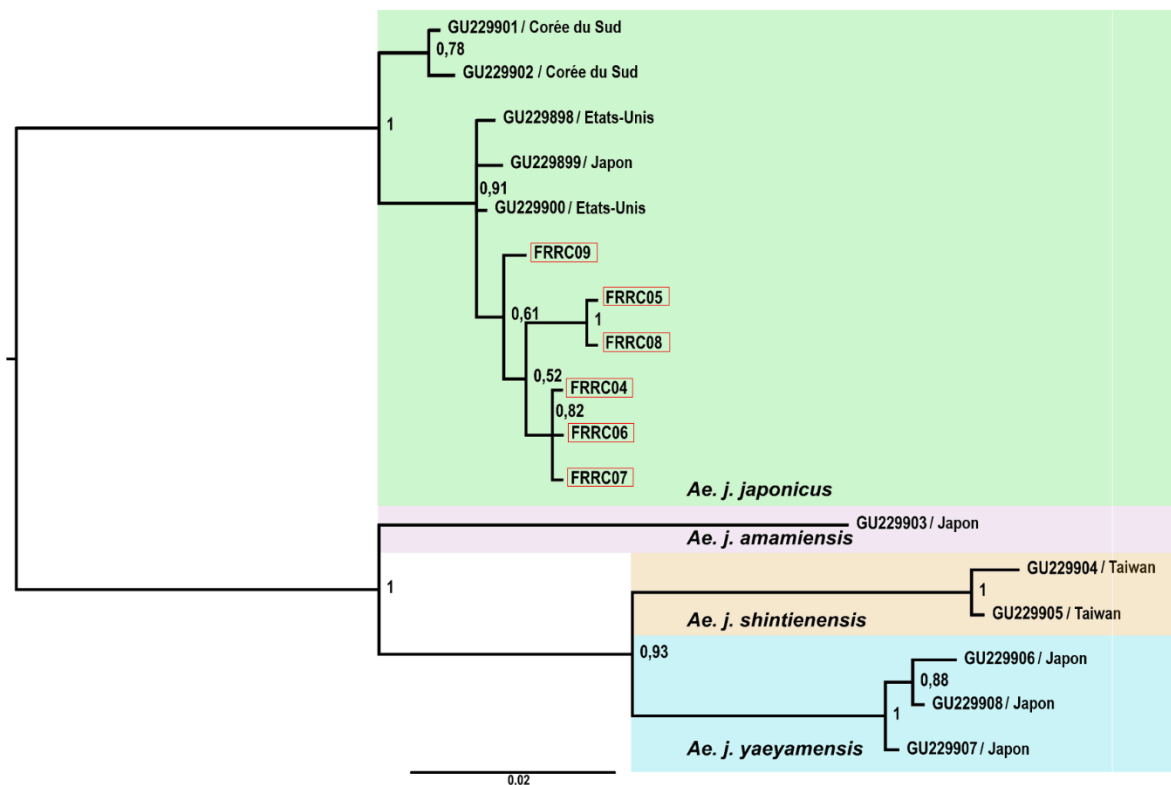


Figure 11. Arbre phylogénétique bayésien du COII. Nos spécimens sont encadrés en rouge. La provenance des spécimens utilisés pour les séquences d'autres études est indiquée après le numéro d'accèsion Genbank. Les valeurs des CPP sont affichées à droite du nœud correspondant. 4 clades bien distinctes permettent de séparer l'arbre phylogénétique selon les 4 sous-espèces correspondantes : *Ae. j. japonicus* (en vert), *Ae. j. amamiensis* (en rose), *Ae. j. shintienensis* (en orange) et *Ae. j. yaeyamensis* (en bleu).

De même, pour le NAD4, les 4 individus séquencés au cours de cette étude sont regroupés dans le clade *Ae. j. japonicus* avec une CPP maximale de 100% (**Figure 12**). Bien que représentée uniquement par 1 ou 2 séquences, chacune des trois sous-espèces restantes sont fortement discriminées dans des clades distincts avec des CPP de 100%. Les mesures de

distances génétiques interspécifiques sont de 4,68 % à 7,24% et les distances intra-spécifiques pour *Ae. j. japonicus* varient de 0% à 1,68%. Les 4 individus présentent des génotypes différents, présentés dans le **Tableau 5**. L'ensemble des haplotypes connus sont présentés en **annexe 8**.

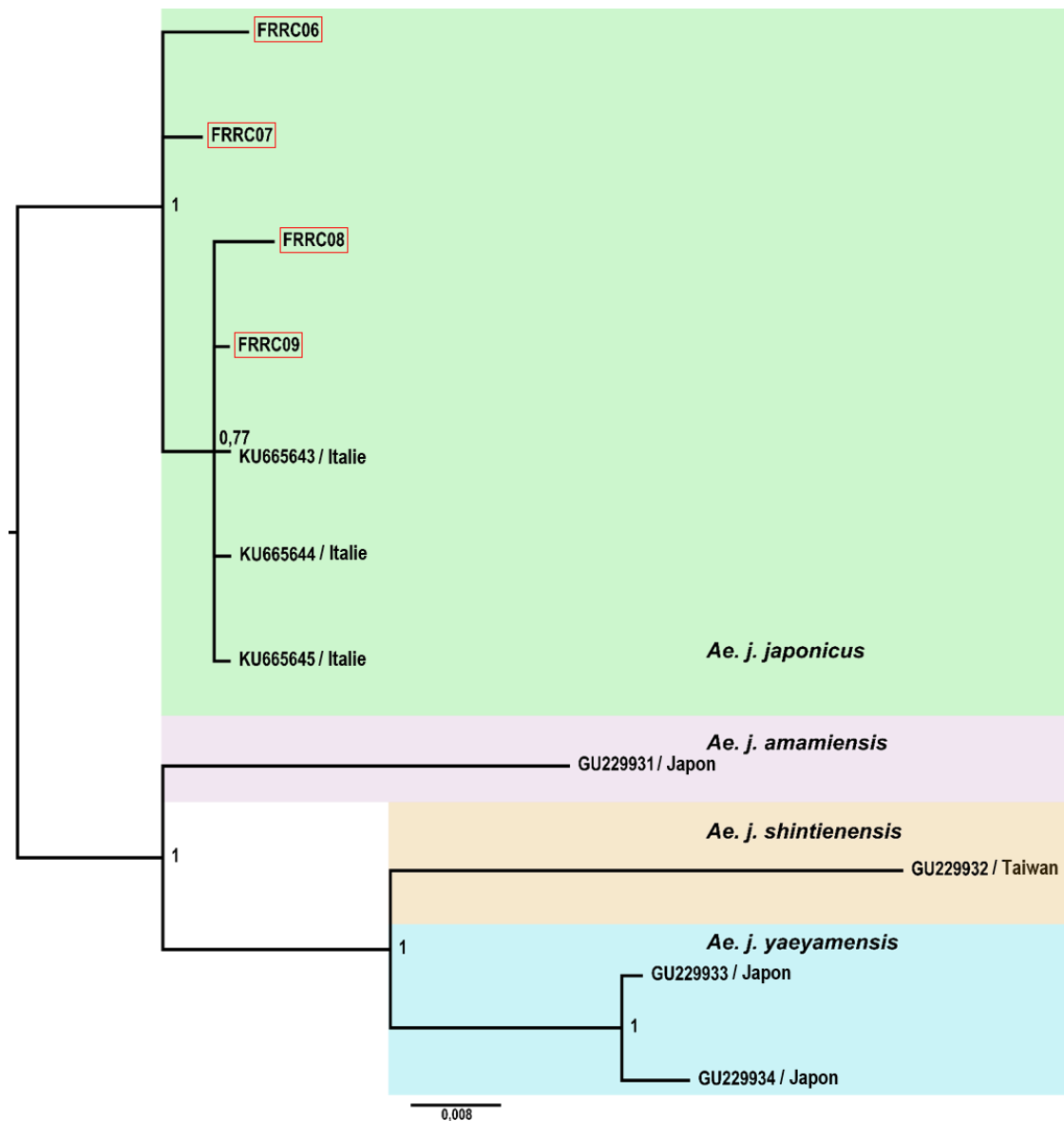


Figure 12. Arbre phylogénétique bayésien du NAD4. Nos spécimens sont encadrés en rouge. La provenance des spécimens utilisés pour les séquences d'autres études est indiquée après le numéro d'accèsion Genbank. Les valeurs des CPP sont affichées à droite du nœud correspondant. 4 clades bien distinctes permettent de séparer l'arbre phylogénétique selon les 4 sous-espèces correspondantes : *Ae. j. japonicus* (en vert), *Ae. j. amamiensis* (en rose), *Ae. j. shintienensis* (en orange) et *Ae. j. yaeyamensis* (en bleu).

Tableau 5. Haplotypes du marqueur NAD4 observés pendant notre étude. Seules les positions variables sont montrées. Le numéro renvoi à la position du nucléotide sur la séquence NAD4 de 424 pb. La séquence de référence correspond à l'haplotype H1.

Position	25	35	41	46	82	135	181	403
H1	T	C	A	A	C	A	G	C
FRRC06	G	T	G	-	-	-	A	T
FRRC07	-	-	-	T	-	-	A	T
FRRC08	-	-	-	-	T	G	-	-
FRRC09	-	-	-	-	-	-	-	-

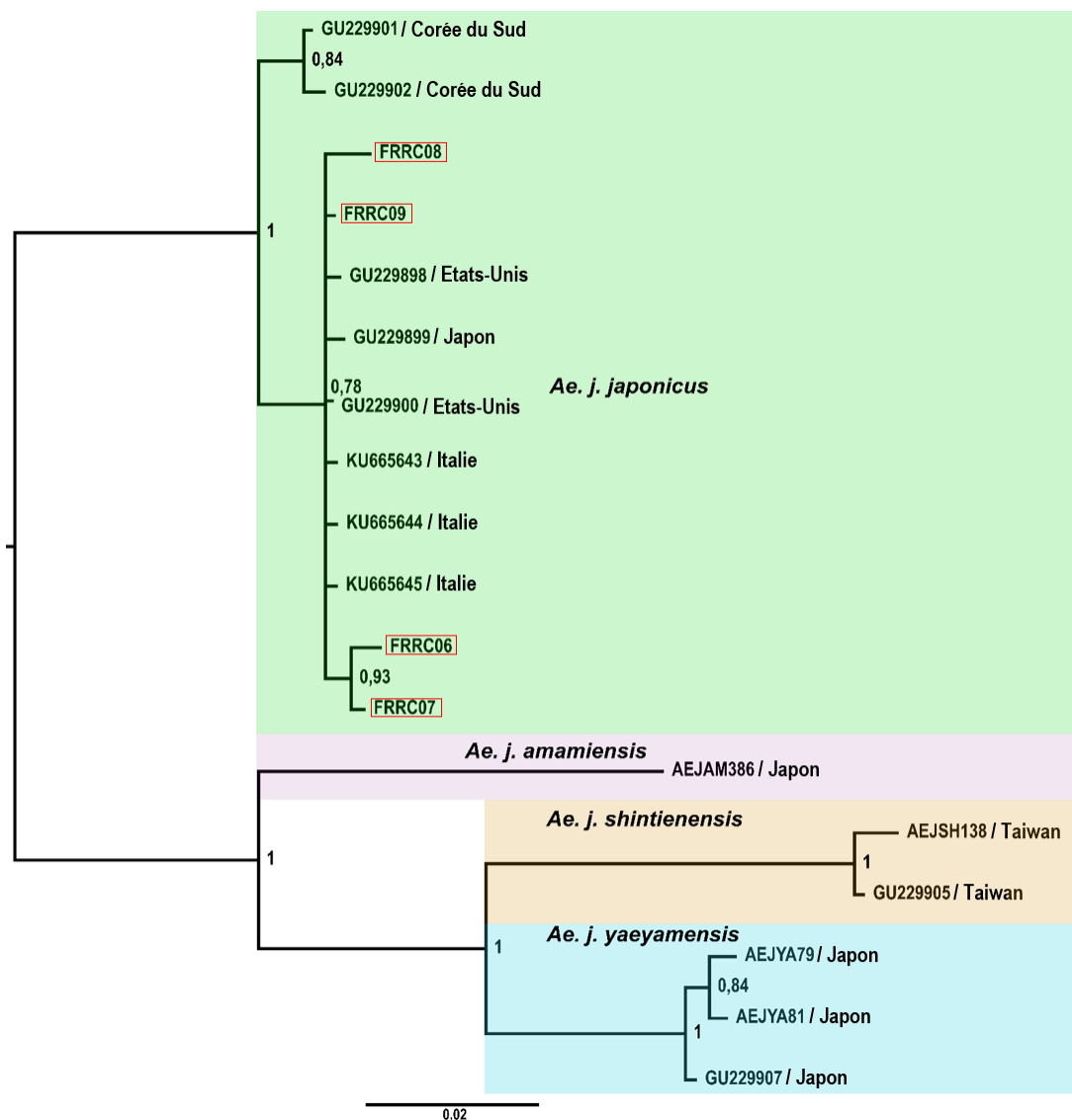


Figure 13. Arbre phylogénétique bayésien issu de l'analyse du jeu de données concaténé du COII et du NAD4. Nos spécimens sont encadrés en rouge. La provenance des spécimens utilisés pour les séquences d'autres études est indiquée après le numéro d'accèsion Genbank. Les valeurs des CPP sont affichées à droite du nœud correspondant. 4 clades bien distinctes permettent de séparer l'arbre phylogénétique selon les 4 sous-espèces correspondantes : *Ae. j. japonicus* (en vert), *Ae. j. amamiensis* (en rose), *Ae. j. shintienensis* (en orange) et *Ae. j. yaeyamensis* (en bleu).

Les marqueurs COII et NAD4 ont été concaténés sur les mêmes individus, issus de notre étude (FRRC06 à FRRC09) et des individus AEJAM386, AEJSH138, AEJYA79 et AEJYA81 issus de Cameron et al. (2010) (Figure 13). Les individus issus du Bas-Rhin ressortent à nouveau dans le clade correspondant à *Ae. j. japonicus*.

Discussion

Bien qu'attendu car la seule rencontrée en Europe, c'est bien la sous espèce *Ae. j. japonicus* qui est présente également dans le Bas-Rhin. L'utilisation du COI nous aura donc permis de réaliser du *barcoding* sur nos spécimens d'*Ae. japonicus* et de mesurer des distances génétiques. En effet, ce marqueur génétique est fréquemment utilisé, produisant une large base de données disponible. Cependant le COI de la sous-espèce *Ae. j. shintienensis* n'est pas répertoriée. Ce marqueur n'a donc pas été concaténé et inclus dans les autres analyses. Comme Cameron et al. (2010) nous avons utilisé les marqueurs COII et NAD4. Le marqueur D2 s'est révélé dans leur étude peu informatif, nous n'avons donc pas conservé ce marqueur pour nos analyses.

Bien que seuls 4 individus aient été séquencés pour le marqueur NAD4, les 4 séquences obtenues sont toutes différentes, démontrant que la population du Bas-Rhin est constituée d'au moins 4 haplotypes. Le potentiel invasif de la population locale est donc élevé en raison d'une adaptation facilitée par la diversité génétique de la population présente. 47 haplotypes du marqueur NAD4 sont à ce jour décrits pour *Ae. j. japonicus* (Smitz et al., 2021). Cependant, tous ne sont pas clairement décrits dans la littérature ou disponible dans Genbank. Pour nos séquences, nous sommes donc en mesure de déterminer ou d'exclure leur appartenance à un haplotype décrit précisément (si la séquence est disponible) et nous pouvons souligner les différences avec les séquences disponibles. Toutefois, nous ne pouvons pas décrire de nouvel haplotype en l'absence d'accès à toutes les séquences des haplotypes décrits.

En se basant sur les données présentées par Fonseca et al. (2001), nous pouvons supposer que l'individu FRRC09 est de l'haplotype H1. Cet haplotype H1 est supposé être celui à partir duquel ont évolué les autres haplotypes (Fonseca et al., 2001). De plus, la présence de

l'haplotype H1 au niveau mondial suggère de multiples introductions d'*Ae. japonicus* à travers le temps depuis une même population d'Asie, son aire d'origine, ce qui souligne que l'expansion de cette espèce résulte du fait de l'Homme (Zielke et al., 2014). L'individu FRR08 possède des caractéristiques qui indiqueraient son appartenance à l'haplotype H6. Cet haplotype est décrit aux Etats Unis (Fonseca et al., 2001) et dans l'Ouest de l'Allemagne (Zielke et al., 2014). Pour FRR06 et FRR07, les données présentées de l'étude de Fonseca et al. (2001) sont insuffisantes pour déterminer leur haplotype respectif. En revanche, nous pouvons certainement supposer leur non appartenance aux haplotypes de H1 à H15 (Fonseca et al., 2001), ni aux haplotypes H44 et H45 (Zielke et al., 2015) ni à l'haplotype H47 (Smitz et al., 2021). Le Bas-Rhin, situé à la frontière franco-allemande, est aussi géographiquement proche de la Belgique. L'haplotype H9 du marqueur NAD4 a été pendant longtemps considéré comme le seul présent en Belgique (Zielke et al., 2014), mais est absent de nos spécimens. De récentes études (Smitz et al., 2021) montrent que, bien que l'haplotype H9 reste largement majoritaire (80% des spécimens étudiés), la diversité d'haplotypes a augmenté en nombre et en proportion en Belgique, liée à de nouvelles introductions. Bien que les populations d'origine belges se soient installées avant celles d'Allemagne, nos résultats suggèrent une plus grande proximité entre nos populations locales et celles présentes outre Rhin, côté allemand, notamment par la présence des haplotypes H1 et H6. Plus récemment, ces deux derniers haplotypes ont aussi été retrouvés en Belgique et leur présence est aussi attribuée aux populations allemandes proches (Smitz et al., 2021).

La dispersion passive est l'hypothèse la plus probable pour expliquer la présence d'*Ae. japonicus* en Europe : bien que les populations soient séparées, elles présentent des mélanges d'haplotypes communs (Zielke et al., 2015). En Allemagne (Zielke et al., 2014), plusieurs génotypes (définis par des marqueurs NAD4 et plusieurs loci de microsatellites) démontrent des introductions multiples : des introductions provenant des populations voisines (possédant un génotype, appelé 1) et une population différente localement introduite (de génotype différent, appelé 2). Les deux génotypes se sont ensuite mélangés (Zielke et al., 2014). Nos résultats ne permettent pas de déterminer l'appartenance de notre population à l'un ou l'autre des génotypes, et des études complémentaires sur d'autres marqueurs seraient nécessaires. Cependant, la variabilité génétique observée sur quelques individus souligne une probabilité accrue de dispersion passive. Enfin, un plus grand nombre d'individus pourraient permettre de déterminer la présence d'autres haplotypes.

Références

- Cameron, E. C., Wilkerson, R. C., Mogi, M., Miyagi, I., Toma, T., Kim, H.-C., & Fonseca, D. M. (2010). Molecular phylogenetics of *Aedes japonicus*, a disease vector that recently invaded Western Europe, North America, and the Hawaiian islands. *Journal of Medical Entomology*, 47(4), 527-535. <https://doi.org/10.1603/me09259>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294-299.
- Fonseca, D. M., Campbell, S., Crans, W. J., Mogi, M., Miyagi, I., Toma, T., Bullians, M., Andreadis, T. G., Berry, R. L., Pagac, B., Sardelis, M. R., & Wilkerson, R. C. (2001). *Aedes* (Finlaya) *japonicus* (Diptera : Culicidae), a newly recognized mosquito in the United States : Analyses of genetic variation in the United States and putative source populations. *Journal of Medical Entomology*, 38(2), 135-146. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.2.135>
- Fonseca, D. M., Widdel, A. K., Hutchinson, M., Spichiger, S.-E., & Kramer, L. D. (2010). Fine-scale spatial and temporal population genetics of *Aedes japonicus*, a new US mosquito, reveal multiple introductions. *Molecular Ecology*, 19(8), 1559-1572. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04576.x>
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings. Biological Sciences*, 270(1512), 313-321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Krupa, E., Schaffner, F., Bender, C., & Mathieu, B. (2020). Progression du moustique tigre en France : Surveillance transfrontalière dans le Grand-Est. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(524), 53-61. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(20\)30231-8](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30231-8)
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X : Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>

- Posada, D. (2008). jModelTest : Phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7), 1253-1256. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn083>
- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3 : Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 19(12), 1572-1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., & Flook, P. (1994). Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87(6), 651-701. <https://doi.org/10.1093/aesa/87.6.651>
- Smitz, N., De Wolf, K., Deblauwe, I., Kampen, H., Schaffner, F., De Witte, J., Schneider, A., Verlé, I., Vanslebrouck, A., Dekoninck, W., Meganck, K., Gombeer, S., Vanderheyden, A., De Meyer, M., Backeljau, T., Werner, D., Müller, R., & Van Bortel, W. (2021). Population genetic structure of the Asian bush mosquito, *Aedes japonicus* (Diptera, Culicidae), in Belgium suggests multiple introductions. *Parasites & Vectors*, 14(1), 179. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04676-8>
- Tanaka, K., Mizusawa, K., & Saugstad, E. S. (1979). A revision of the adult and larval mosquitoes of Japan (including the Ryukyu Archipelago and the Ogasawara Islands) and Korea (Diptera : Culicidae). *Contributions of the American Entomological Institute*, 16, vii 1–987.
- Widdel, A. K., McCuiston, L. J., Crans, W. J., Kramer, L. D., & Fonseca, D. M. (2005). Finding needles in the haystack : Single copy microsatellite loci for *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 73(4), 744-748.
- Zielke, D. E., Ibáñez-Justicia, A., Kalan, K., Merdić, E., Kampen, H., & Werner, D. (2015). Recently discovered *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) populations in The Netherlands and northern Germany resulted from a new introduction event and from a split from an existing population. *Parasites & Vectors*, 8, 40. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0648-1>
- Zielke, D. E., Walther, D., & Kampen, H. (2016). Newly discovered population of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in Upper Bavaria, Germany, and Salzburg, Austria, is closely

related to the Austrian/Slovenian bush mosquito population. *Parasites & Vectors*, 9, 163.

<https://doi.org/10.1186/s13071-016-1447-z>

Zielke, D. E., Werner, D., Schaffner, F., Kampen, H., & Fonseca, D. M. (2014). Unexpected patterns of admixture in German populations of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) underscore the importance of human intervention. *PLoS One*, 9(7), e99093. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099093>

Chapitre III. Caractérisation des capacités de dispersion d'*Ae. japonicus*.

Une utilisation d'un flight mill pour l'étude en conditions contrôlées.

Introduction

L'un des points clef de la définition d'une espèce invasive est sa présence en dehors de son aire de distribution d'origine, ce qui signifie qu'elle s'est dispersée, intentionnellement ou non, en dehors de celle-ci. La dispersion des espèces invasives et la diffusion des maladies vectorielles associées sont donc deux domaines de recherche importants et étroitement liés entre eux.

Deux facteurs entrent en jeu en ce qui concerne le déplacement des vecteurs : la dispersion active et la dispersion passive (Verdonschot and Besse-Lototskaya 2013). La dispersion active est réalisée par imagos ailés, qui utilisent leurs ailes pour leurs déplacements, en particulier journaliers (recherche de partenaires, d'hôtes, de sites de ponte ou de repos). La dispersion passive quant à elle est par définition non-intentionnelle, et correspond au transport des moustiques, quel que soit leur stade de vie, par le vent ou les transports humains. L'expansion des aires de distribution des vecteurs est donc liée à ces deux types de dispersion, mais également aux conditions environnementales (climat et paysage) et à la physiologie de l'espèce (biologie, âge, statut reproductif, réserves énergétiques).

L'étude des capacités de vol et des divers facteurs pouvant les influencer est donc importante pour comprendre comment les vecteurs se déplacent et avec eux leurs pathogènes. Ces capacités de vol peuvent être observées *in situ* ou déterminées expérimentalement au laboratoire à l'aide de divers dispositifs comme le flight mill.

Depuis 2013 (Krebs et al. 2014), *Ae. japonicus* est détecté dans le nord-est de la France, et son aire de distribution ne fait que progresser. L'acquisition de ses capacités de vol est donc un moyen de comprendre sa dispersion. Nous étudierons ici les capacités de vol de ce moustique

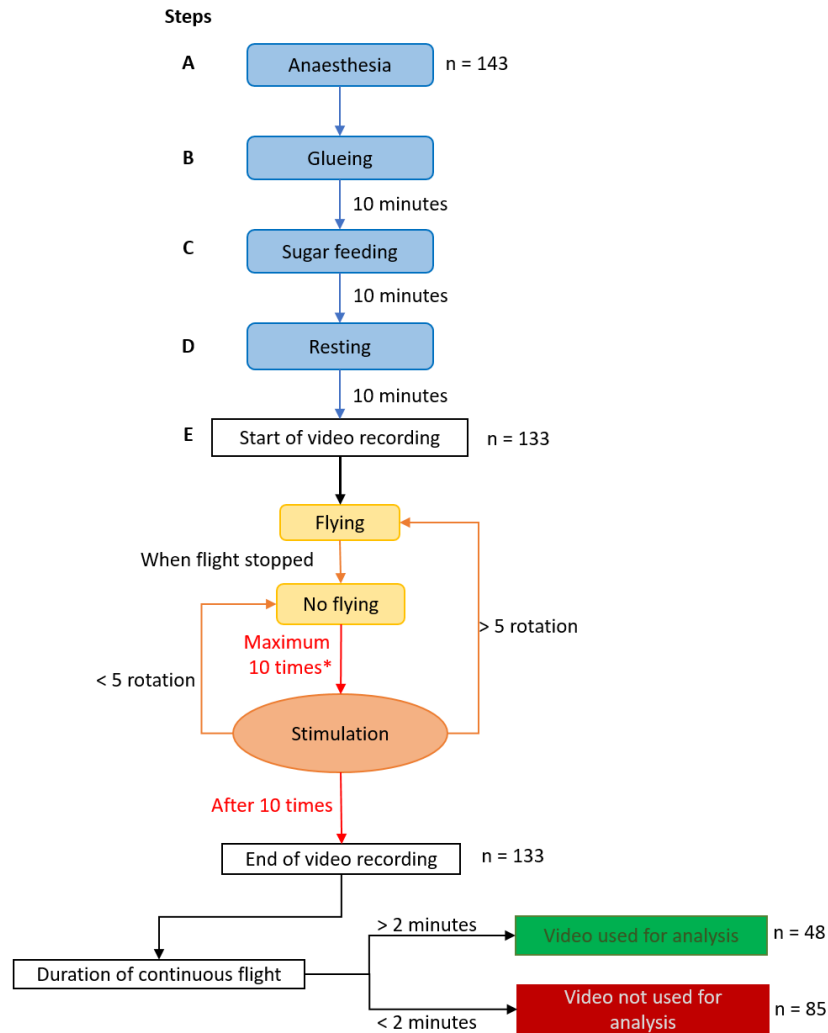
en laboratoire à l'aide d'un flight mill. De plus, nous examinerons l'effet de l'âge sur les paramètres étudiés, *i.e.* distance, durée de vol et vitesse.

Matériel et méthodes

Des larves d'*Ae. japonicus* ont été collectées sur le site d'étude de Reichstett (Bas-Rhin, France) et ont été élevées jusqu'à l'émergence des adultes. Les larves sont élevées à une densité d'environ 100 individus dans des bacs de 26cm x 35cm x 8cm, contenant 2L d'eau à température ambiante, avec un bulleur fonctionnant 30 minutes toutes les 2 heures. Elles sont nourries tous les 2 jours avec des croquettes pour chat. Lors de la nymphose, les nymphes sont transférées dans des cages à émergence « breeders » à une densité maximale de 10 individus. Les femelles sont gardées captives dans ces breeders à une température de $25,1^{\circ}\text{C} \pm 1,8^{\circ}\text{C}$ et une humidité relative de $64 \pm 4\%$.

Un dispositif de flight mill a été fabriqué. Il est composé d'une partie statique réalisée en aimants néodymium. Le balancier, où est collé le moustique, est lui en fibre optique.

Chaque femelle d'*Ae. japonicus* est anesthésiée au froid, puis est collée à un morceau de fibre optique qui est lui-même rattaché au balancier, suivant un protocole précis (**figure 14**). Une caméra reliée à un micro-ordinateur (Raspberry Pi) est utilisée pour filmer l'individu. Lorsque le moustique cesse de voler, il est stimulé.



The behaviour « flying » correspond to a continuous flight of more than 5 revolution (also call rotation) of the arm of the flight mill
 * Or 10 minutes when there is no flight behaviour since the beginning.

Figure 14. Diagramme du protocole d'enregistrement du vol sur flight mill. Une femelle est anesthésiée au froid pendant 10 minutes, puis collée sur un morceau de fibre optique. Après 10 minutes, un repas de sucrose est proposé pendant 10 minutes, puis la femelle est laissée au repos avant le début de l'enregistrement vidéo. La femelle est considérée comme ayant un comportement de vol lorsqu'elle fait plus de 5 rotations sur le flight mill. Si la femelle ne présente pas un comportement de vol pendant les 10 premières minutes, la vidéo est stoppée. Si elle présente un comportement de vol, la vidéo sera stoppée lorsque la femelle aura volé jusqu'à épuisement, c'est-à-dire après 10 stimulations.

Les vidéos obtenues sont analysées par les logiciels ToxTrac (Rodriguez et al., 2018) et BORIS (Friard & Gamba, 2016) afin de déterminer la distance, la durée et la vitesse du vol de chaque individu.

Trois groupes formés chacun de 16 femelles sont constitués selon l'âge des femelles : moins de 48 heures, de 6 à 8 jours et de 13 à 15 jours.

Résultats

L'ensemble des résultats obtenus sont présentés sous la forme d'un article publié dans le journal *Journal of Insect Science*.

Krupa E., Gréhal A-L., Esnault J., Bender C. and Mathieu B. *Laboratory evaluation of flight capacities of Aedes japonicus (Theobald, 1901) (Diptera: Culicidae) using a flight mill device*. *Journal of insect science*. *Submitted*.

Les résultats principaux sont repris dans le résumé graphique suivant (**Figure 15**).

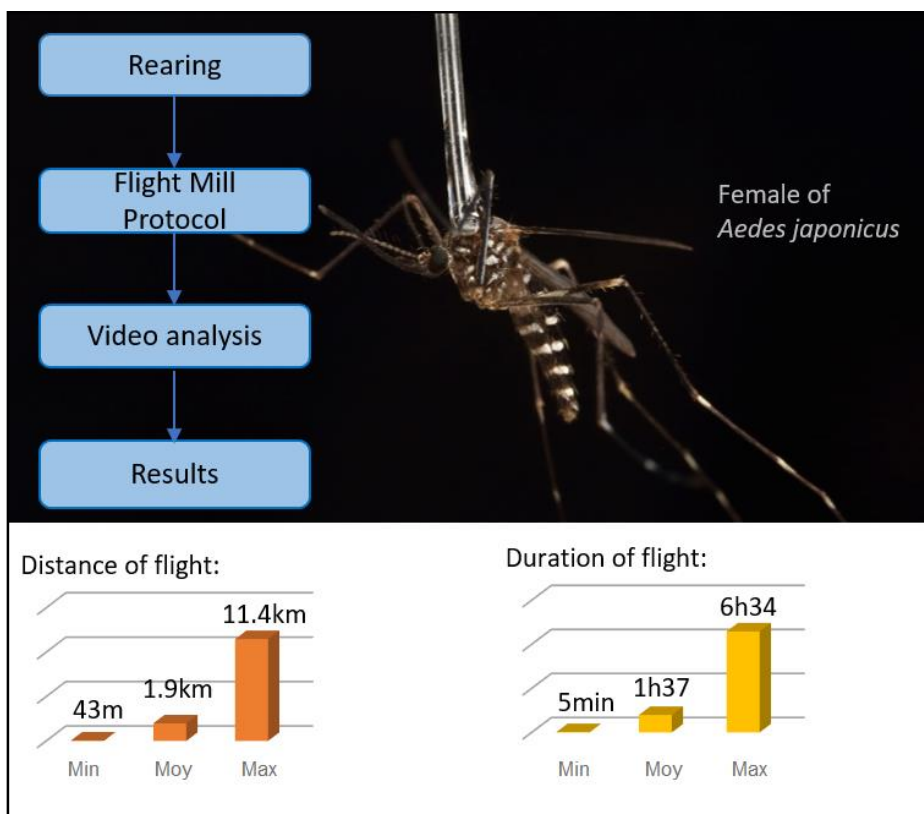


Figure 15. Résumé graphique de l'article. La partie supérieure montre le protocole appliqué sur les femelles d'*Ae. japonicus*. La partie inférieure présente les principaux résultats sur la distance et la durée de vol de ce moustique.

Synthèse et perspectives

La durée de vol enregistrée varie de 5 minutes 37 secondes à 6 heures 34 minutes 56 secondes. Par cette étude, il a été observé que les femelles d'*Ae. japonicus* peuvent voler en moyenne 1,98km. Ce chiffre est à relativiser par rapport à la grande variabilité individuelle (distance minimale enregistrée : 43 mètres, distance maximale : 11,46 kilomètres, médiane : 438 mètres).

L'âge n'a pas été un facteur discriminant concernant les capacités de vol chez les femelles jusqu'à 16 jours post-émergence.

L'utilisation du flight mill a permis d'obtenir des notions de capacités de vol maximales, le moustique étant obligé de voler jusqu'à épuisement selon le protocole présenté précédemment. Au démarrage de cette thèse, cette utilisation du flight mill avait été pensée pour être réalisée en parallèle avec une étude du comportement de vol. Cette dernière, utilisant de l'imagerie 3D, nous aurait permis d'étudier le comportement de vol dans une optique temporelle, et ainsi estimer le budget-temps consacré notamment à la dispersion. Le design de l'expérience a été réalisé, mobilisant une cage spécifiquement conçue, ainsi que 2 caméras (Pi NoIR) et les lumières additionnelles. Les études préliminaires n'ont cependant pas pu aboutir. En effet, le logiciel de tracking (TroxTrac) sélectionné ne détectait, dans l'immense majorité, pas le ou les moustiques présents sur les vidéos prises. La miniaturisation du dispositif aurait entraîné des biais trop importants, l'insecte aurait été trop contraint dans son vol pour être représentatif de son comportement naturel. L'analyse par un ou plusieurs observateur(s) sans recours à l'utilisation d'un logiciel de tracking aurait quant à lui nécessité énormément de temps, et aurait souffert de non reproductibilité, et aurait pu manquer de sensibilité pour l'étude des trajectoires de vol des individus étudiés.

Les matériaux utilisés pour la construction du flight mill (fibre optique et aimants néodymium) ont été sélectionnés pour répondre à deux besoins : réduire les frictions d'air, génératrices de forces de frottements et réduire le poids à entraîner par le moustique lorsqu'il fait tourner le balancier.

Nous avons montré que l'âge n'avait pas d'effet sur les capacités de vol. En revanche nous pouvons distinguer deux groupes de femelles, des faibles volants et des volant de plus grande capacité.

La dispersion d'*Ae. japonicus* est considérée comme active dans les zones colonisées (Müller et al., 2020; Seidel et al., 2016), avec des individus pouvant voler en moyenne 1,6 kilomètre (Verdonschot & Besse-Lototskaya, 2014), bien que cette dernière valeur provienne d'une citation erronée de Moberly et al. (2005) sur une étude de Fonseca et al. (2001). Nos résultats concordent avec ce type de dispersion puisque 37,5% des femelles testées ont volé plus de 1,9 kilomètre, avec un maximum enregistré de 11,4 kilomètres.

En utilisant la méthodologie appliquée à d'autres études qui consiste à éliminer les femelles ayant volé moins de 500 mètres (Kaufmann et al., 2013), *Ae. japonicus* vole en moyenne 3860 mètres, ce qui est supérieur à d'autres espèces comme *Ae. albopictus* ou *Ae. aegypti*.

Les données obtenues sont à relativiser. En effet, nous sommes dans des conditions particulières, à savoir en laboratoire et le vol est enregistré jusqu'à épuisement du moustique. Des expériences de capture-marquage-recapture permettraient de mieux caractériser ces capacités en conditions naturelles. Cependant nos résultats sont importants et pourront être pris en compte lors du design de futures expériences.

Références

Fonseca, D. M., Campbell, S., Crans, W. J., Mogi, M., Miyagi, I., Toma, T., Bullians, M.,

Andreadis, T. G., Berry, R. L., Pagac, B., Sardelis, M. R., & Wilkerson, R. C. (2001).

Aedes (Finlaya) *japonicus* (Diptera : Culicidae), a newly recognized mosquito in the

United States : Analyses of genetic variation in the United States and putative source populations. *Journal of Medical Entomology*, 38(2), 135-146.

<https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.2.135>

Friard, O., & Gamba, M. (2016). BORIS : A free, versatile open-source event-logging software

for video/audio coding and live observations. *Methods in Ecology and Evolution*,

7(11), 1325-1330. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12584>

Kaufmann, C., Collins, L. F., & Brown, M. R. (2013). Influence of age and nutritional status on

flight performance of the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae).

Insects, 4(3), 404-412. <https://doi.org/10.3390/insects4030404>

- Moberly, S. P., Lalor, C., McDonough, M., Foster, B., Estes, A., & Bentfield, D. J. (2005).
Discovery of an exotic Asian mosquito, *Ochlerotatus japonicus*, (Diptera, Culicidae) in
southern Indiana. *Proceedings of the Indiana Academy of Science*, 114(1), 62-64.
- Müller, P., Engeler, L., Vavassori, L., Suter, T., Guidi, V., Gschwind, M., Tonolla, M., & Flacio, E.
(2020). Surveillance of invasive *Aedes* mosquitoes along Swiss traffic axes reveals
different dispersal modes for *Aedes albopictus* and *Ae. Japonicus*. *PLOS Neglected
Tropical Diseases*, 14(9), e0008705. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008705>
- Rodriguez, A., Zhang, H., Klaminder, J., Brodin, T., Andersson, P., & Andersson, M. (2018).
ToxTrac : A fast and robust software for tracking organisms. *Methods in Ecology and
Evolution*, 9, 460–464. <https://doi.org/10.1111/2041-210x.12874>
- Seidel, B., Nowotny, N., Bakonyi, T., Allerberger, F., & Schaffner, F. (2016). Spread of *Aedes
japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in Austria, 2011–2015, and first records of the
subspecies for Hungary, 2012, and the principality of Liechtenstein, 2015. *Parasites &
Vectors*, 9. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1645-8>
- Verdonschot, P., & Besse-Lototskaya, A. (2014). Flight distance of mosquitoes (*Culicidae*) : A
metadata analysis to support the management of barrier zones around rewetted and
newly constructed wetlands. *Limnologica - Ecology and Management of Inland
Waters*, 45, 69-79. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2013.11.002>

Laboratory Evaluation of Flight Capacities of *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae) Using a Flight Mill Device

Eva Krupa,¹ Alexa-Lou Gréhal,¹ Jérémy Esnault,² Christelle Bender,² and Bruno Mathieu^{1,3,*}

¹Institut de Parasitologie et Pathologie Tropicale, UR7292 Dynamique des interactions hôte pathogène, Fédération de Médecine Translationnelle, Université de Strasbourg, F-67000, Strasbourg, France, ²Syndicat de Lutte contre les Moustiques du Bas-Rhin (SLM67), F-67630, Lauterbourg, France, and ³Corresponding author, e-mail: bmathieu@unistra.fr

Subject Editor: Kris Godfrey

Received 30 September 2021; Editorial decision 29 October 2021

Abstract

Dispersion expands the distribution of invasive species and as such, it is a key factor of the colonization process. *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) is an invasive species of mosquito and a vector of various viruses. It was detected in the northeast of France in 2014. The population of this species can expand its distribution by several kilometers per year. However, though flight capacities play an active part in the dispersion of *Ae. japonicus*, they remain unknown for this species. In this study, we investigated the flight capacities of *Ae. japonicus* in a laboratory setting using the flight mill technique. We evaluated the influence of age on flight. We recorded videos of individual flights with a camera mounted on Raspberry Pi. We extracted data on distance, duration, and speed of flight using the Toxtrac and Boris software. Our analysis showed a median flight distance of 438 m with a maximum of 11,466 m. Strong flyers, which represented 10% of the females tested, flew more than 6,115 m during 4 h and 28 min at a speed of 1.7 km per h. As suspected, *Ae. japonicus* is a stronger flyer than the other invasive species *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae). To our knowledge, this is the first flight mill study conducted on *Ae. japonicus* and therefore the first evaluation of its flight capacity. In the future, the flight propensity of *Ae. japonicus* determined in this study can be included as a parameter to model the colonization process of this invasive vector species.

Key words: dispersion, mosquito, vector, age

Aedes japonicus japonicus (Theobald, 1901), also known as the East Asian bush mosquito, is an invasive species native to eastern Asian countries (Tanaka et al. 1979). This species invaded the United States of America in 1998, mainly via passive dispersal, through the trade of used tires (Andreadis et al. 2001).

Europe is also concerned by the spread of this mosquito since it was first detected in 2000 in France (Schaffner et al. 2003) and then in 2002 in Belgium (Versteirt et al. 2009). The East Asian bush mosquito then colonized Austria, Bosnia-Herzegovia, Croatia, Germany, Hungary, Italia, Lichtenstein, Luxembourg, the Netherlands, Serbia, Slovenia, and Spain (Becker et al. 2011, Kampen et al. 2012, Ibañez-Justicia et al. 2014, Kampen and Werner 2014, Seidelet al. 2016a, b; Eritja et al. 2019, Robert et al. 2019, Schaffner and Ries 2019, Janssen et al. 2020). The presence of *Ae. japonicus* was recorded in 2013 in the northeast of France (Krebs et al. 2014). Its distribution seems to follow an east to west axis as it was previously detected in Germany in 2008 (Becker et al. 2011, Kampen et al. 2012, Kampen and Werner 2014). Thus, the distribution of *Ae. japonicus* has greatly expanded geographically since it was first detected in Europe, suggesting great capacities of dispersal.

In addition to its invasive status, *Ae. japonicus* is also a potential vector of chikungunya, dengue, Japanese encephalitis, Saint Louis encephalitis, or West Nile virus (Rodhain 2008). Studying the flight capabilities of invasive vector species improves the understanding of their colonization process and the associated spread of vector-borne diseases. The expansion of species distribution is driven by the dispersal mechanisms and capacities of species. These are either passive or active means of dispersal (Wilkerson et al. 2021). Passive dispersal, for example, unintentional dispersal by wind or human transport, is one of the common ways which leads to the introduction and propagation of invasive species in new areas (Service 1980, Crowl et al. 2008). On the other hand, active dispersal involves daily behaviors, such as active flying to reach suitable breeding or resting sites, to mate in swarms, to seek sugar sources or hosts (Service 1997, Verdonschot and Besse-Lototskaya 2014, Wilkerson et al. 2021).

Active dispersal of mosquitoes can be assessed in multiple ways, either in the field or in the laboratory, each method having its advantages and drawbacks. The most frequent method uses the Mark-Release-Recapture (MRR) technique. This technique consists of marking, with mostly fluorescent dyes, adult mosquitoes previously

collected in the field or reared in the laboratory. Marked individuals are then released in a specific place in the study area around which traps have been installed in order to recapture them at different distances from the release point. Used in the field, MRR requires a strict experimental design to maximize the success of the recapture rate. Moreover, due to the inherent variability of field conditions, there is a lack of repeatability (Marini et al. 2010). The results of MRR experiments can be influenced by landscape structure, vegetation, meteorological conditions as well as other factors (Service 1997, Kerkow et al. 2019, Wilkerson et al. 2021). The physiology of mosquito species and their host preferences are parameters known to interfere with their behavior and therefore their active dispersal (Service 1997, Tsuda et al. 2008). Invasive vectors other than *Ae. japonicus* have been investigated through this MRR technique. For example, a MRR study in Australia on *Ae. aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) adults reared from a colony, powder-marked the mosquitoes in the laboratory before releasing them. The individuals were then recaptured using sticky traps (Muir and Kay 1998). A similar method was used on *Ae. albopictus* in Italy, but females were reared from wild eggs collected through a network of ovitraps (Marini et al. 2010). More recently, a MRR study using self-marking units marked mosquito adults with fluorescent pigments during the emergence process. Thus, all the steps (mark, release, and recapture) were done in the field (Vavassori et al. 2019).

Laboratory experiments under controlled conditions are the first step to reduce the variability of flight measurements and to evaluate the influence of a limited number of factors. A common experimental design is tethered flight techniques, which have been used for more than 50 yr (Minter et al. 2018). Several devices to study flight capacities exist, such as wind tunnels, free flight chambers, and tethered flight systems, also referred to as rotational flight mills (Minter et al. 2018).

A rotational flight mill is a device composed of a rotational part, on which the insect is hung by the back of its thorax with an adhesive, and a static part (Minter et al. 2018). In order to reduce friction forces, the static part of the flight mill is generally composed of either sapphire bearings (Rowley et al. 1968) or magnets (Martini et al. 2014). Due to the tarsal reflex phenomenon (Rowley et al. 1968), the mosquitoes are compelled to fly when solid surfaces are removed from under their legs. Thus, the rotational flight mill can be set in motion and the flight can be recorded by infrared, light or magnetic sensors, or by video (Minter et al. 2018, Spitzen and Takken 2018). Flight propensity (distance, duration, and velocity) can be assessed by tethered flight under laboratory conditions to test several parameters, physiological or environmental, which could influence flight behavior (Minter et al. 2018). Flight mill studies have been conducted on various insect species such as bumblebees (Hymenoptera) (Kenna et al. 2019), beetles (Coleoptera) (Attisano et al. 2015), or various true bugs (Heteroptera) (Martini et al. 2014, Hahn et al. 2017), including vectors like black flies (Simuliidae) (Diptera: Simuliidae) (Stanfield and Hunter 2010) or kissing bugs (Triatominae) (Heteroptera: Triatominae) (Castro et al. 2014). Regarding mosquitoes (Culicidae), the flight capacity of many species has been evaluated using flight mill devices: *Culex tarsalis* (Coquillett, 1896) (Rowley 1970), *Aedes vexans* (Meigen, 1830) (Briegel et al. 2001b), *Anopheles gambiae* (Giles, 1902) (Kaufmann and Brown 2008), *Anopheles stephensi* (Liston, 1901) (Schiefer et al. 1977), *Ae. albopictus* (Briegel and Timmermann 2001) and *Ae. aegypti* (Rowley and Graham 1968, Briegel et al. 2001a, Bargielowski et al. 2012). However, to our knowledge, there is a significant lack of knowledge on the dispersal capacities of the East Asian bush mosquito, *Ae. japonicus*, both in the field (e.g. MRR) and under laboratory settings (e.g. flight mills).

In this study, we investigated for the first time the flight capabilities of *Ae. japonicus* using a rotational flight mill under controlled laboratory conditions. First, we combined the flight mills used in previous studies to optimize the design of our device in order to minimize both the friction forces and the weight carried by the mosquitoes. Then, we used the flight mill to record the time, the distance, and the speed of flight of *Ae. japonicus* females according to their age.

Material and Methods

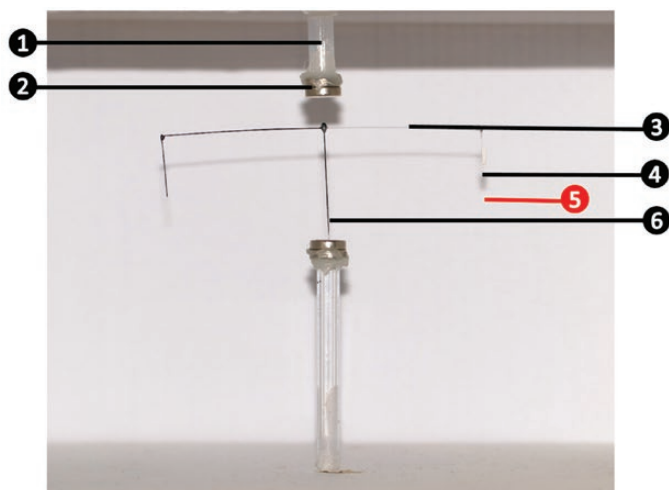
Mosquito Collection

Larvae of *Ae. japonicus* were collected from Reichstett, a city located approximately 7 kilometers north of Strasbourg (48.64°N, 7.75°E). The area consisted of a mixture of forest and family gardens bordering a residential area and a cemetery. Larvae were collected from various artificial containers such as rain barrels, plastic buckets, or outdoor bathtubs from the end of July to mid-October. The larvae were then reared to adults in mosquito breeders (Bioquip, Rancho Dominguez, CA). These breeders consisted of two polystyrene jars screwed to a central plastic lid. These contained a vinyl funnel through which emerging adults flew from the bottom jar (water sample with larvae and pupae) into the upper jar. After emerging, adults of nulliparous and nonblood-fed females were grouped according to age. Age categories were defined as 0, 1, and 2-wk-old, and correspond to females aged 1, 7, and 14 d old, respectively. As emergence was reported once per day, a 24-h period before and after these thresholds was selected. Accordingly, group A consisted of mosquitoes who had emerged early, up to 48 h. Mosquitoes aged 6 to 8 d were included in group B while mosquitoes aged 13 to 15 d were included in group C. Females were reared in groups of maximum 10 individuals in breeders, at constant temperature (25.1°C ± 1.8) and constant relative humidity (64 ± 4 %) and fed on a 10% sugar solution.

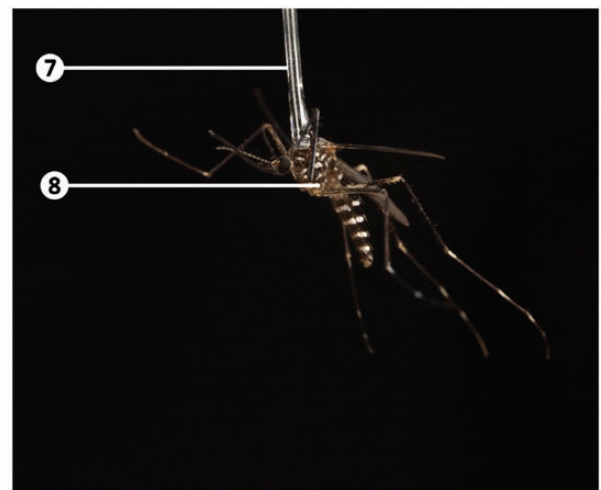
Flight Mill Device

To minimize friction force, we combined previous designs (Martini et al. 2014, Attisano et al. 2015) to build a new flight mill. Our design used a magnetic system and optic fiber as super light materials (Fig. 1). The magnetic bearing was made of two cylindrical parts made of plastic, each with two glued neodymium magnets N42 (Master Magnetics Inc., Castle Rock) at the tip. A 11-cm-long midsection piece of optic fiber was glued perpendicularly to the tip of an entomological pin (size 2). At each end of the optic fiber, an extra piece measuring 1 cm was added parallel to the entomological pin. This assemblage between both magnets served to stabilize the pivoting arm of the device. Prior to the experiment, 35 females of *Ae. japonicus* were weighed together in triplicate (20 mg ± 1) to determine the weight of the necessary counterpart made of optic fiber for a single mosquito. Given that a piece of optic fiber measuring 1 cm is used to glue the mosquitoes to the pivoting arm, and considering the weight of a female *Ae. japonicus* (0.57 mg), the counterpart was determined to be a 2-cm-long piece of optic fiber. Half of the pivoting arm was colored in black to improve the sensitivity of the automatic detection of the camera system.

The mosquito was glued by the thorax to a 1-cm-long optic fiber with wood glue (Pritt, Henkel France S.A.S, Boulogne Billancourt, France). The fiber was subsequently bound to the pivoting arm using a piece of self-adhesive paper. The absence of toxicity of the wood glue on the lifespan of mosquitoes was evaluated beforehand by gluing a piece of optic fiber on the thorax and freeing the mosquitoes in rearing cages. No difference in the mortality of adults was observed between the mosquitoes with wood glue and without glue for 48 h (Supp Table 1 [online only]).

**Left panel: Flight mill device**

1. Cylindrical plastic
2. N42 neodymium magnets (x2)
3. Optical fiber
4. Self-adhesive paper
5. Position of the mosquito
6. Entomological pin

**Right panel: Details of a mosquito attached on the flight mill**

7. 1cm piece of optic fiber
8. Mosquito attached (*Aedes japonicus*)

Fig. 1. Flight mill system.

Video Recording of Mosquitoes

The flight of mosquitoes was recorded by a PiNoiR Camera v2 (Raspberry Pi Foundation, Cambridge, England) mounted on a Raspberry Pi3 model B+ (Raspberry Pi Foundation). Temperature and humidity were recorded at the beginning of the flight.

The diagram of the complete protocol, from mosquito preparation to video recording, is represented in Fig. 2. Mosquitoes were anesthetized on a cool box filled with ice for 15 min and glued according to the protocol described above (Fig. 2—steps A–B). After 10 min to let the glue dry, a 10% sucrose solution was proposed to the mosquito using soaked cotton for another 10 min (Fig. 2—step C). The mosquito was eventually left to rest for 10 more min (Fig. 2—step D).

Before the flight, the relative volume of the abdomen, corresponding to an approximation of sugar intake, was recorded based on a scale ranging from 1 to 4: one corresponds to no sugar intake (empty abdomen), and four, a maximal sugar intake (full abdomen).

Nulliparous females were tested under constant light condition (L:D 14:10) at a temperature ranging between 21.4°C–28.8°C, and RH of 56–74%, both parameters being recorded before the flight.

After the 10 min resting step, the pivoting arm attached to the mosquito was placed between the magnetic bearings. Removing the supporting structure from the legs triggered the flight reflex (Rowley et al. 1968) and the female was compelled to fly until exhaustion. Video recording started as soon as the flight began. One video file was generated per individual (Fig. 2—step E). Stimulation, to enhance flight reflex, was performed with a piece of plastic which was quickly put under the legs of the mosquito and removed.

Video Analysis

A total of 48 videos lasting longer than 10 min, in which the mosquitoes flew for at least 2 min, were analyzed. For each individual, parts of the video with more than 2 min of continuous flight were analyzed with a video tracking software, ToxTrac (Rodriguez et al. 2018). The software gave the duration and distance of flight. However, the

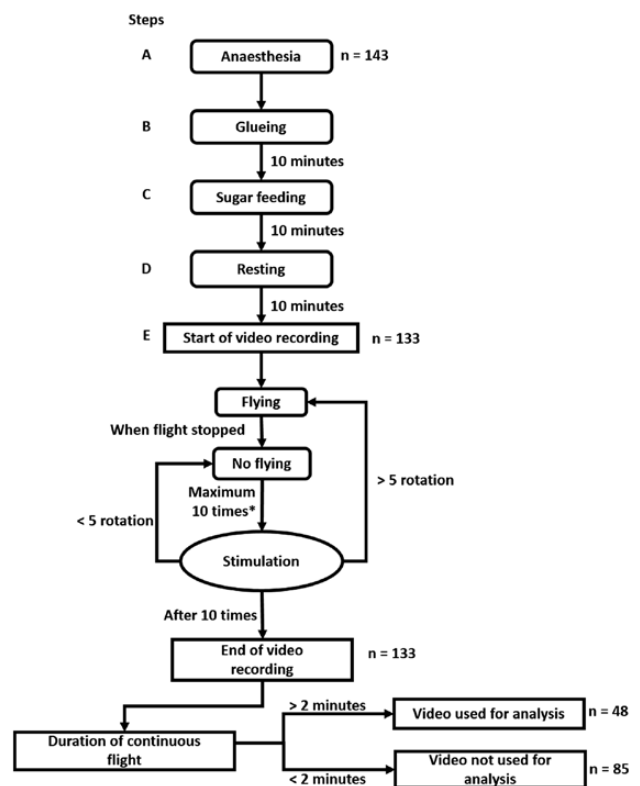


Fig. 2. Diagram of the recording protocol of the flight mill experiment. The « flying » behavior was determined as a continuous flight for more than 5 revolutions of the pivoting arm. The « no flying » behavior was determined in the case of either more than 10 stimulations or 10 min without flying.

ToxTrac software had difficulty in detecting and analyzing mosquito flight for continuous flights lasting less than two minutes. These occurred frequently because stimulations were required and disrupted

the tracking. Therefore, all video segments were also analyzed manually under the BORIS software (Friard and Gamba 2016). The duration of flight and the number of turns were collected. The distance was calculated based on the number of turns and the length of the optic fiber of the pivoting arm, as the flight of the mosquito was limited to a circle with a perimeter of 34.54 cm in length. Videos analyzed under BORIS and ToxTrac were summed per individuals. The average speed was calculated as the ratio between distance and duration.

Data of duration of flight (in seconds 's'), distance (in meters 'm'), and speed (in meters per seconds 'm.s⁻¹') were analyzed for each specimen, according to its age (Group A, group B, group C). Each group was represented by 16 females at the end of the study.

Statistical Analysis

All statistical analyses were performed with the R language (R Development Core Team 2009). Two-tailed tests were performed with error type I $\alpha = 5\%$. Mean and median results were expressed as mean \pm standard deviation (SD) or as median \pm interquartile range (IQR).

Video selection regarding temperature, humidity, and sugar feeding were analyzed with Wilcoxon-Mann-Whitney tests.

Flight parameters were analyzed for each group of females with Kruskal-Wallis tests.

Factor Analysis of Mixed Data (FAMD) was used to analyze correlation between flight propensity of mosquitoes (duration, distance, and speed), age, temperature, and relative humidity as well as the group and sugar intake.

Results

In total, 143 females were anesthetized and 133 successfully achieved the flight protocol. Ten specimens were unable to fly when placed on the device due to problems during the gluing step. These were either

caused by a lack of anesthesia which led to the presence of glue on the wings ($n = 6$), or by a lack of glue that allowed the specimen to fly away ($n = 4$). Among the 133 videos, 85 were not used for analysis since: (i) the mosquito showed no flight behavior during 10 min despite stimulations; or (ii) the mosquito showed a minimal flight propensity that was not adapted for analysis due to a high number of human interruptions to stimulate the mosquito during the 10-min period. Therefore, flight parameters (distance, duration, and speed) were determined based on a total of 48 videos, each group (A–C) being represented by 16 videos.

Neither temperature ($W = 2344$, $P = 0.5337$) nor humidity ($W = 2331.5$, $P = 0.4998$) had an impact on the selection of the chosen videos (Fig. 3—A). Sugar feeding, corresponding to the intake of sugar solution prior to flight, was not a factor in the selection of videos either ($W = 2354$, $P = 0.4172$) (Fig. 3—B).

FAMD appeared to show discrimination between groups but the percentage of variance was too low to be significant (less than 50%: dimension 1 = 23.1%; dimension 2 = 20.9%). This observation was confirmed by the independent Kruskal-Wallis test which showed no difference between the three groups regarding speed ($df = 2$; $\chi^2 = 1.1985$; $P = 0.5492$), duration ($df = 2$; $\chi^2 = 0.24691$; $P = 0.8839$) nor distance ($df = 2$; $\chi^2 = 0.39207$; $P = 0.822$) (Fig. 4). Therefore, the data collected for each female, whatever its group, were merged ($n = 48$) for further analysis. Table 1 gathered the main characteristics of flight propensity for the whole dataset ($n = 48$). On average, half of the females flew 438 m, in 28 min, at a speed of 1,120 m.h⁻¹. We recorded a maximum flight distance of 11,466 m, lasting 6 h 35 min, for a single female aged 7 d after emergence, fully engaged with sugar at 24.2°C and 60% RH. Regarding speed, a maximum of 2,300 m.h⁻¹ was recorded for an older female aged 15 d after emergence, at 27.7°C and 62% RH, for a flight lasting 14 min, though her sugar feeding score was 2 out of 4. In contrast, we recorded a minimum flight of 5 min 37 s, for a distance of 43.09 m, for another female aged 6 d after emergence, at 23.7°C and 72%

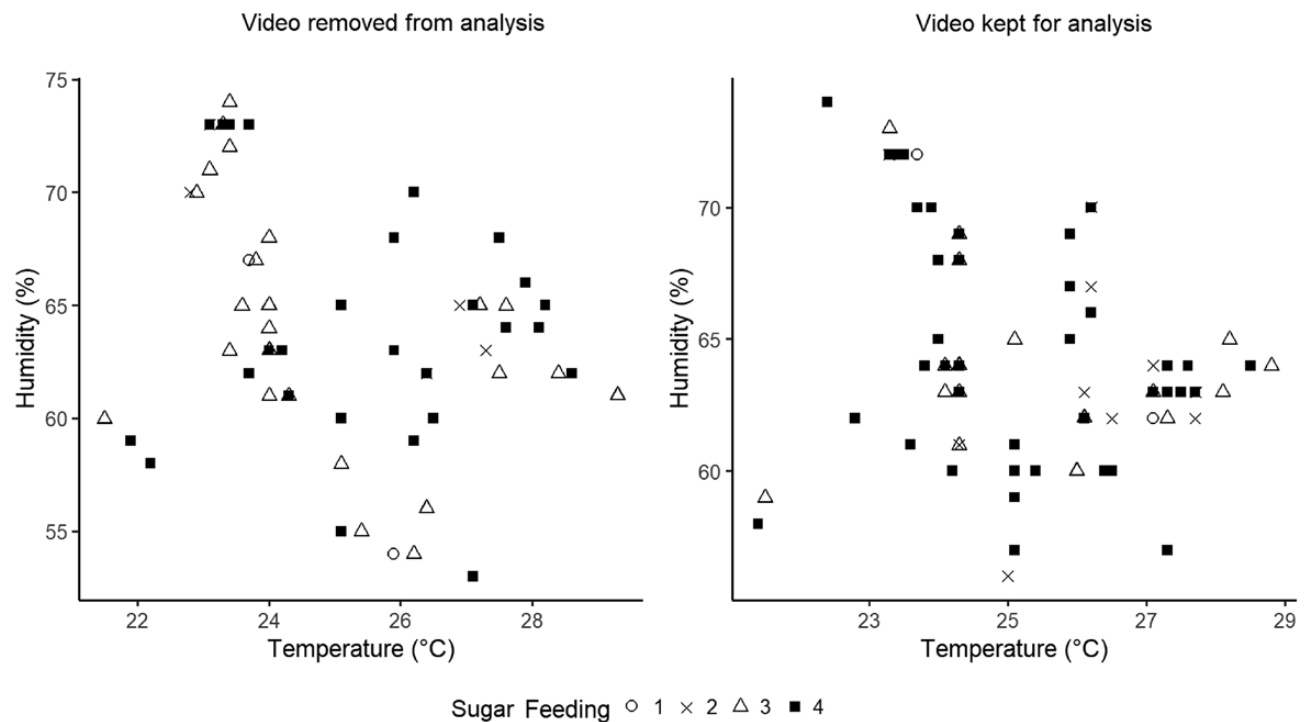


Fig. 3. Influence of temperature, humidity and sugar feeding on video selection. None of these parameters were significant.

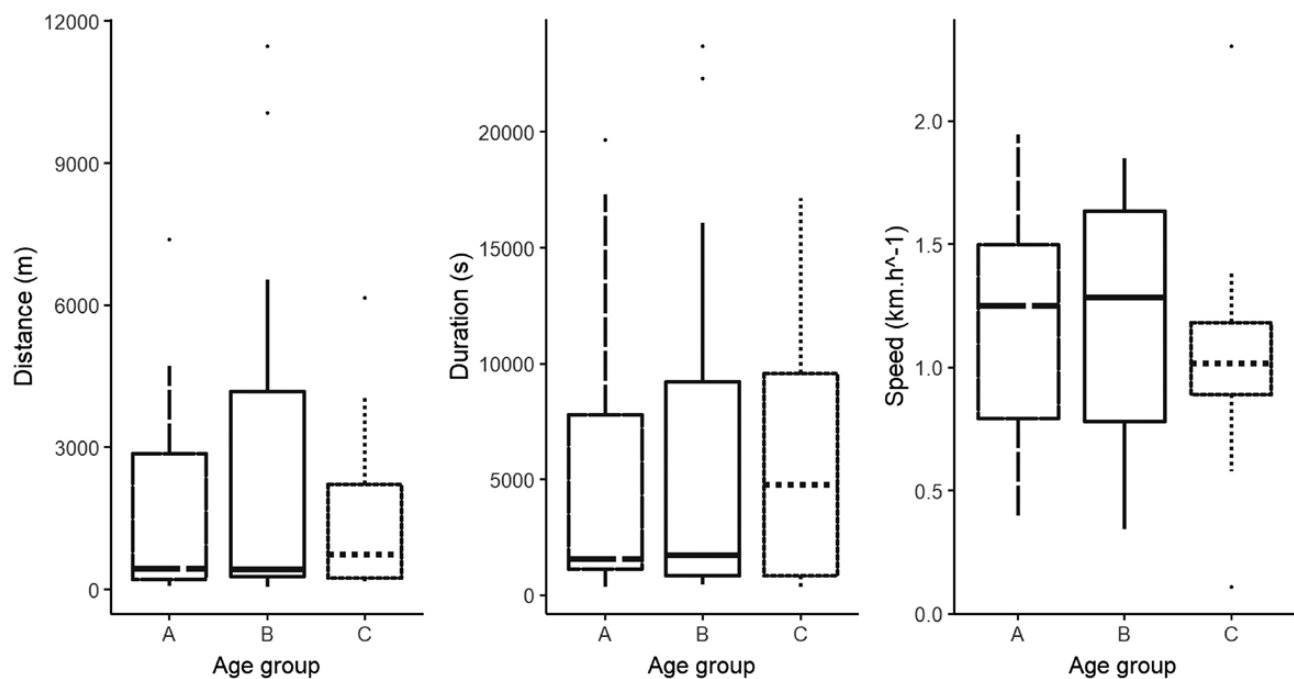


Fig. 4. Distance, time and speed of *Ae. japonicus* flight. Groups are set according to the age of females. Group A consisted of females aged 24 to 48 h after emergence. Group B is composed of females aged 6 to 8 d old while group C includes females aged 13 to 15 d old.

Table 1. Flight propensity of female *Ae. japonicus*

<i>n</i> = 48	Duration of flight (s/h:m:s)	Distance (m)	Speed (m.h ⁻¹)
Minimum	337/ 00:05:37	43	107
Maximum	23,696/ 06:34:56	11,466	2,303
Mean	5,838/ 01:37:18	1,980	1,129
Standard-deviation	6,510/ 01:48:30	2,708	468
First quartile	916/ 00:15:16	243	839
Median	1,674/ 00:27:54	438	1,123
Third quartile	9,243/ 02:34:03	2,627	1,428
90%	16,062/ 04:27:36	6,155	1,740

RH, which had badly fed on sucrose (1 out of 4 on the sugar feeding scale). The slowest mosquito, aged 15 d after emergence, flew at 10.7 m.h⁻¹ on average during 2 h 5 min, with a 3 out of 4 sugar feeding score, at 24.1°C and 63% RH.

Data of distance, duration, and speed were plotted and sorted according to ascending order to visualize the capacities of each individual (Fig. 5). With regards to the general shape of the data, distance and duration showed an exponential-like tendency suggesting a great variation between weak flyers and specimens exhibiting great dispersal capacities. On the contrary, speed grew linearly, highlighting the correlation between distance and duration of flight. Regarding females with stronger capacities, 10% of females flew: (i) more than 6,155m, (ii) during 4 h 28 min and, (iii) at a speed of 1,700 m.h⁻¹ (greyish areas in Fig. 5). In order to compare our results for distance with other species, we plotted the mean distance of flight of *Ae. japonicus* from this study and those available for various species also found in the northeast of France (Briegel et al. 2001a, b; Bargielowski et al. 2012, Kaufmann et al. 2013, Verdonshot and Besse-Lototskaya 2014) (Fig. 6). We plotted the average flight recorded by the flight mill devices, despite the fact that the various studies did not use the same protocol (variation of data recorded,

variation of threshold between the analyzed specimens, or duration of observations). The selected species showed flight capacities ranging between 50 m and almost 10 km. Many *Aedes* species, including *Ae. japonicus*, flew less than 5 km.

Discussion

Though it has never been deeply investigated, *Ae. japonicus* is considered as an invasive vector mosquito capable of great capacities of dispersal. This study evaluates for the first time the flight capacities of *Ae. japonicus* females under laboratory conditions using a flight mill device. The results showed a mean capacity of 1,980 m at 1,129 m.h⁻¹ and 10% of the females tested were able to reach more than 6,155 m at 1,700 m.h⁻¹. When removing the data of females flying less than 500 m to fit the methodology of a previous flight mill study on *Ae. albopictus* (Kaufmann et al. 2013), our results reveal that *Ae. japonicus* is a stronger flyer than *Ae. albopictus*, with 3,860 m (*n* = 23) in comparison to 3,000 m, respectively.

Even though the number of females tested per group (*n* = 16) is relatively low, our results are still comparable with similar studies. In comparison, the number of observations in the study of Bargielowski et al. (2012) was represented by 21, 14, 26, 14, and 24 individuals. Kaufman et al. (2013) also tested 20 females of *Ae. albopictus* per condition, resulting in groups composed of 14 to 19 individuals in the analyzed dataset.

Many authors have studied the flight capacities of mosquitoes in past studies. These analyze cumulative flights over several hours (16 h to 20 h) and therefore flight patterns are part of the data recorded (Briegel et al. 2001a,b; Bargielowski et al. 2012, Kaufmann et al. 2013). We chose to record only the first flight until exhaustion, therefore no flight pattern can be assessed. In addition, we chose to remove females depending on their behaviors on the flight mill, whereas many authors have used a distance of 500 m (Bargielowski et al. 2012, Kaufmann et al. 2013) or 1,000 m (Briegel et al. 2001b) as a threshold. Among the total of specimens tested, only 36.1%

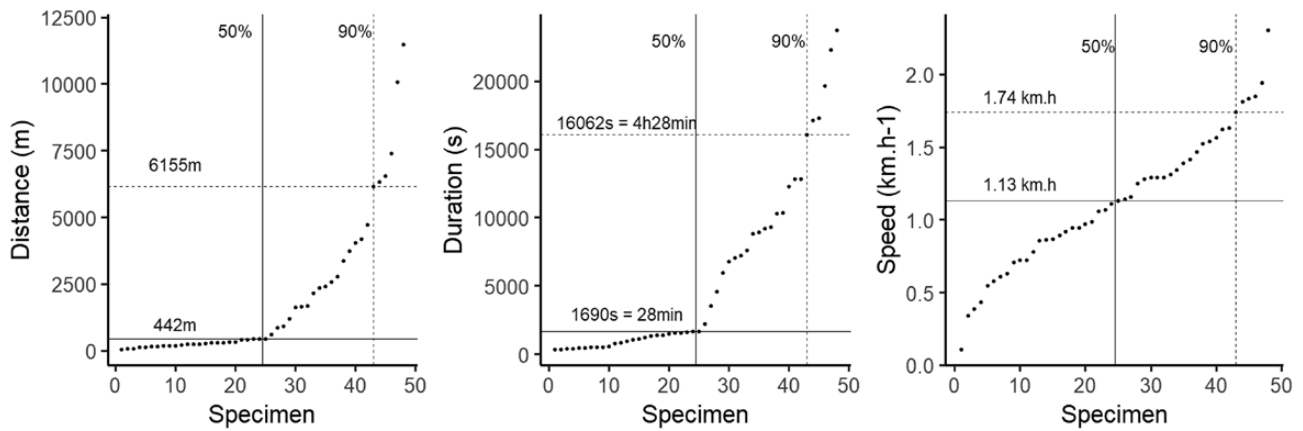


Fig. 5. Ascending data of flight propensity. For each parameter recorded, data of females are sorted in ascending order. The 50% and 90% values are plotted in light grey for each parameter.

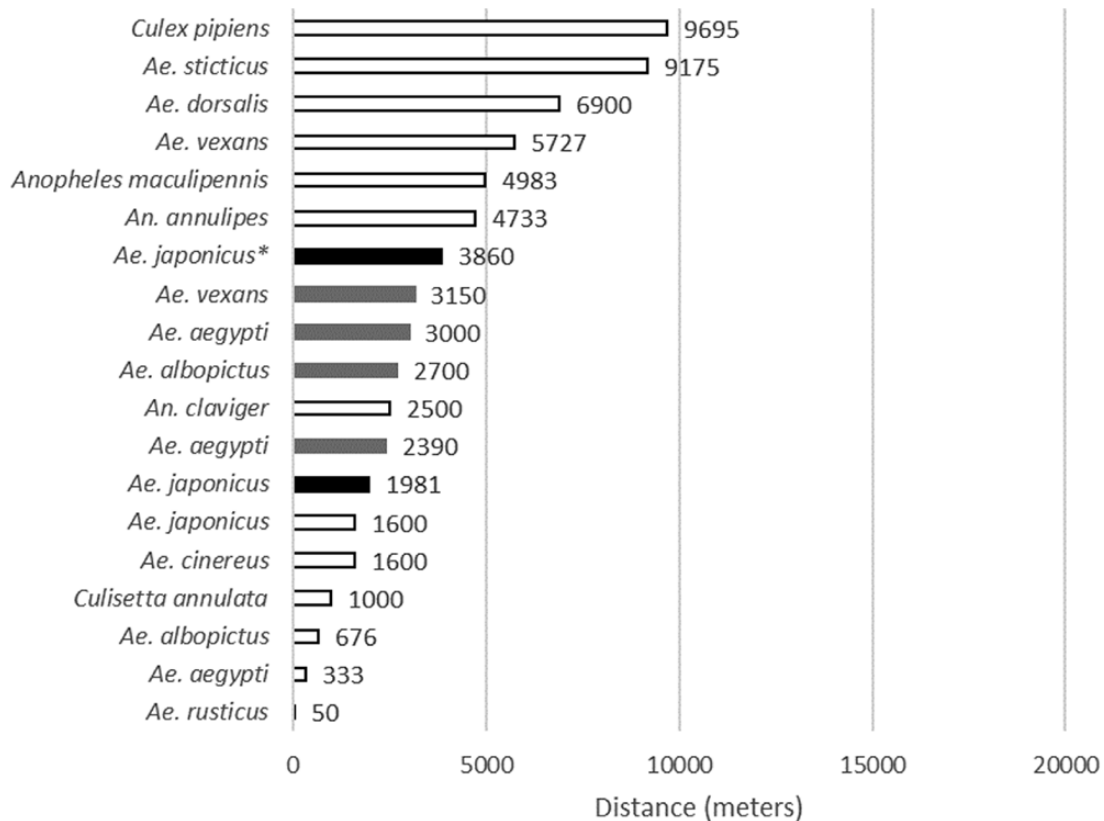


Fig. 6. Comparison of flight capacities of *Ae. japonicus* and other species. Each solid bar represents the reported distance given by a specific study for a species, meaning that a single species can be represented by multiple bars/studies. Both results from this study are shown in black, the asterisk corresponds to the mean value obtained after removing females that flew less than 500 m. Data from the literature review of [Verdonschot and Besse-Lototskaya \(2014\)](#) are shown in light grey. Additional data from previous flight mill experiments are shown in medium grey ([Briegel et al. 2001a,b](#); [Bargielowski et al. 2012](#); [Kaufmann et al. 2013](#)).

were used for analysis. This number is similar to another study on *Ae. aegypti* (36.8%, ranging from 29.8% to 38.2% for the wild type) ([Bargielowski et al. 2012](#)) but lower than the study of [Briegel et al. \(2001b\)](#) on *Ae. vexans* (77.6%).

Flight mill flying behaviors usually differ from free flight behaviors ([Attisano et al. 2015](#)). Like other studies using rotational flight mills, we took into account two major drawbacks to design our own device. First, the mosquito on the device does not have to generate the same lift required in free flight. As such, it is no longer required

to support its weight and this can artificially increase its dispersal capacities ([Minter et al. 2018](#)). To minimize this effect, we chose to add a counterpart, whose weight was similar to a mosquito, on the arm of the rotational flight mill. Second, the mosquito needs to produce enough energy to start moving the arm of the mill ([Minter et al. 2018](#)). This energy was minimized in the present study by using optical fiber as a super light material.

This methodology, which uses a flight mill device and controls parameters in a laboratory setting, also has an influence on the

reported distance. In the field, temperature and relative humidity influence flight capacities. Optimum flight activity has been evaluated to be approximately at 27°C and 80% RH (Rowley and Graham 1968). Environmental factors can also influence the population dynamics of vector species (Rodhain 2008). Climate change can modify environmental conditions, which can lead to favorable conditions for vector species and therefore to the spread of vector-borne diseases (Duvall 2015). Dispersal of vectors and pathogens is also influenced by the migration of humans and the transport of merchandise (Schaffner and Karch 2000, Duvall 2015).

In the literature, mosquitoes are reported to fly between 50 m and 50 km, depending on the various conditions and species (Verdonschot and Besse-Lototskaya 2014). Specimens of the *Aedes* genus are generally classified as weak flyers (<50 m) or strong flyers (>4,000 m) (Verdonschot and Besse-Lototskaya 2014). For example, MRR studies on species within the *Aedes* genus reported a distance of 55.6 m, while the distance increased to 12,441 m with the use of a flight mill device (Verdonschot and Besse-Lototskaya 2014). *Ae. albopictus*, another invasive species, was reported to fly 75 m in an MRR study (Verdonschot and Besse-Lototskaya 2014) while in others, adults regularly flew more than 250 m (Marini et al. 2010, Vavassori et al. 2019).

Regarding the East Asian bush mosquito, Seidel et al. (2016b) reported a migration of 100 km over the 7 yr of colonization of *Ae. japonicus* in Hungary, corresponding to a dispersion of 14.3 km per yr. More recently, another study conducted in Hungary from 2017 to 2018 showed that *Ae. japonicus* expanded its distribution northeast by 180–200 km from the first locality recorded in 2012 (Sáring-Kenyeres et al. 2020). This amounts to an estimated potential dispersion of 30–33 km per year. These results at the population level make it impossible to distinguish between passive and active dispersal, and individual capacity. However, this study underlines the great dispersal capacity of *Ae. japonicus*. Based on records made by Eritja et al. (2021), *Ae. japonicus* distribution expanded around 3,000 km² per year during the 2018–2020 period in Spain. As these authors suggested, natural dispersal is likely to happen through riparian corridors rather than road corridors, though the means of introduction of this species remain unknown. In Switzerland, results from an ovitrap network also show great dispersal capacities for *Ae. japonicus* between 2013 and 2018, and as suggested by the authors, these results favor an active dispersal (Müller et al. 2020). At the individual level, it was reported that *Ae. japonicus* is capable of flying an average maximum distance of 1.6 kilometers (Moberly et al. 2005, Verdonschot and Besse-Lototskaya 2014). In their meta-analysis of mosquito flight capacities (Verdonschot and Besse-Lototskaya 2014), the authors reported that *Ae. japonicus* had capacities of 1.6 km from Moberly et al. (2005) (Verdonschot, personal communication). However, Moberly et al. (2005) cited this maximum distance erroneously when referring to the work of Fonseca et al. (2001) though the latter did not mention such a distance in their study. Comparatively, we found that 37.5% (18 out of 48) of females flew well beyond this distance, with a maximum of 11,466 m, corresponding to almost seven times more. Though flight mill conditions may artificially increase the range of dispersal, our study shows that *Ae. japonicus* is capable of flying several kilometers, which may explain its patchy distribution pattern.

The influence of age varies depending on the species. In another flight mill study by Nayar and Sauerman (1973), mosquitoes were tested individually twice a week during their life-span. *Cx. nigripalpus* (Theobald, 1901) flew at 1 km per h during a 10 consecutive week period, while *Aedes sollicitans* (Walker, 1856) (Diptera: Culicidae) flew at 1.2 km per h during 5 consecutive weeks. In

another study by Rowley and Graham (1968), right after emergence, females of *Aedes aegypti* flew less than 500 m in a flight mill. The flight capacities of this species increased to 6,354 m 24 h after emergence and the maximum flight capacity of *Ae. aegypti* was 9,108 m for 2-wk-old females, followed by decreasing flight capacities until the end of the experiment, at 6 wk. As such, the study of Rowley and Graham (1968) showed that flight capacities increase during the first two weeks and decline after. In addition, Rowley and Graham (1968) reported a great individual variation in flight capacities after recording a maximum distance of 17,392 m for *Ae. aegypti*. Like flight distance, speed of flight in their study decreases after the mosquitoes are aged 2 wk. Our results for *Ae. japonicus* tend to be similar: the maximal dispersal capacities were found for individuals which were approximately 1 wk old. It would seem that postemerging females (aged less than 48 h) and older ones (approximately 2 wk old) showed lower dispersal capacities, though this is not statistically supported. Further investigations with a higher number of mosquitoes tested are required to confirm this difference. Furthermore, wing abrasion is reported to be an age factor that reduces flight capacities, as shown in the species *Mansonia titillans* (Walker) (Diptera: Culicidae) with specimens older than 6 wk (Nayar and Sauerman 1973). In the present study, we also observed wing abrasion on females aged 13 to 15 d which could explain the slight difference of flight observed between these females and younger ones. Damaged wings may reflect physiological decline as females get older. In our study, wing abrasion may have been hastened by the contact with the plastic walls of the breeders and the closeness of specimens with each other. In addition, body size is known to influence dispersion, as females with bigger wings show greater flight capabilities (Faiman et al. 2020). In the present study, females exhibited a similar body size and were reared in similar conditions, though specimens were not measured. Recently, in thermal experiments, Reuss et al. (2018) showed that wing-length of *Ae. japonicus* is correlated to body size. Thus, future studies on *Ae. japonicus* whose objective is to investigate the effect of body size on a biological trait could measure the wing-length parameter, as it is a good estimate of body size.

The reproductive status, in particular the distinction between blood-fed or gravid females, is also a parameter known to influence dispersal. Huestis et al. (2019) captured four times as many females than males, and 90% of them had taken a bloodmeal. Similarly, Faiman et al. (2020) tested wild females on a tethered flight device, and 92% of them were gravid. These authors reported that gravid females showed a higher rate of flight activity than unfed females, when sampling was enough to perform statistical tests. Laboratory colonization of *Ae. japonicus* is reported to be complex, critical steps include successful mating and blood-feeding (Williges et al. 2008; Hoshino et al. 2010). When laboratory colonization was successful, blood-feeding was performed on anesthetized animals (birds or mice) during the first generations. In parallel to this study, we tried to rear *Ae. japonicus* in laboratory though our attempts were unsuccessful. Both mating and artificial blood-feeding (no anesthetized animals available) were unsuccessful and therefore both gravid and blood-fed conditions were not investigated in the present study.

Among the existing techniques to study flight dispersal, MRR has the advantage of allowing the study of active dispersion in the field. Due to the wide range of possibilities and dyes to mark specimens, MRR makes it possible to study a high number of individuals and several cohorts or species at the same time (Reisen et al. 2003). In addition, to measure the effective distance flown from the release point to the collection site, the direction, and the dispersal rate can be evaluated with this technique (Cho et al. 2002, Russell et al. 2005). However, the recapture percentage of MRR is low, and therefore

many individuals need to be processed to compensate the low rate. Moreover, though this technique is suitable for fieldwork, MRR is sensitive to environmental conditions, and particularly wind which plays a major role (Reisen et al. 2003, Verhulst et al. 2013). Recently, a comparison study on CDC traps succeeded in determining a combination of attractants used to increase the attractiveness of the traps for collecting *Ae. japonicus* mosquitoes. This study offers a useful tool that can be used in surveillance programs of this species (Balestrino et al. 2016). This trapping methodology may be applied in a future MRR study of *Ae. japonicus* to provide useful field data on its dispersal capacities.

Temperature and species distribution are the usual parameters used in models of population dynamics (Cailly et al. 2012, Tran et al. 2013) and to estimate dispersal capacities (Lutambi et al. 2013). Models can be adjusted with various factors and used to predict future distribution of *Ae. japonicus* (Cunze et al. 2019, Peach et al. 2019). Precision of these models increases when additional parameters such as wind, landscape (Kerkow et al. 2019), and life history traits of the biological model (Wieser et al. 2019) are taken into account. Whether obtained in field or laboratory conditions, data on dispersal capacities are one of the parameters which should be implemented in mathematical models to map the spread of invasive species and make predictions. Future modeling studies can use the flight capacity of *Ae. japonicus* reported in our study as an additional parameter to improve the description of the colonization process of this invasive vector species.

Supplementary material

Supplementary data are available at *Journal of Insect Science* online.

Acknowledgments

EK, ALG and the research leading to these results, were funded by the European Union-Programme INTERREG Upper Rhine under the project number 11.7 TIGER. The authors would like to thank the two anonymous reviewers for their useful comments, which eventually have led to greatly improve this manuscript.

Author Contributions

EK: Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Software; Validation; Visualization; Writing—original draft; Writing—review & editing. ALG: Formal analysis; Investigation; Methodology; Software; Validation; Visualization; Writing—review & editing. JE: Investigation; Methodology; Writing—review & editing. CB: Funding acquisition; Project administration; Resources; Supervision; Writing—review & editing. BM: Conceptualization; Data curation; Funding acquisition; Project administration; Resources; Supervision; Validation; Writing—review & editing.

References Cited

- Andreadis, T. G., J. F. Anderson, L. E. Munstermann, R. J. Wolfe, and D. A. Florin. 2001. Discovery, distribution, and abundance of the newly introduced mosquito *Ochlerotatus japonicus* (Diptera: Culicidae) in Connecticut, USA. *J. Med. Entomol.* 38: 774–779.
- Attisano, A., J. T. Murphy, A. Vickers, and P. J. Moore. 2015. A simple Flight Mill for the study of tethered flight in insects. *J. Vis. Exp. JoVE.* 105: 53377.
- Balestrino, F., F. Schaffner, D. L. Forgia, A. I. Paslaru, P. R. Torgerson, A. Mathis, and E. Veronesi. 2016. Field evaluation of baited traps for surveillance of *Aedes japonicus japonicus* in Switzerland. *Med. Vet. Entomol.* 30: 64–72.
- Bargielowski, I., C. Kaufmann, L. Alphey, P. Reiter, and J. Koella. 2012. Flight performance and teneral energy reserves of two genetically-modified and one wild-type strain of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 12: 1053–1058.
- Becker, N., K. Huber, B. Pluskota, and A. Kaiser. 2011. *Ochlerotatus japonicus japonicus*—a neozoon in Germany and a revised list of the German mosquito fauna. *Eur. Mosq. Bull.* 29: 88–102.
- Briegel, H., and S. E. Timmermann. 2001. *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): physiological aspects of development and reproduction. *J. Med. Entomol.* 38: 566–571.
- Briegel, H., I. Knüsel, and S. E. Timmermann. 2001a. *Aedes aegypti*: size, reserves, survival, and flight potential. *J. Vector Ecol.* 26: 21–31.
- Briegel, H., A. Waltert, and A. R. Kuhn. 2001b. Reproductive physiology of *Aedes* (Aedimorphus) *vexans* (Diptera: Culicidae) in relation to flight potential. *J. Med. Entomol.* 38: 557–565.
- Cailly, P., A. Tran, T. Balenghien, G. L'Ambert, C. Toty, and P. Ezanno. 2012. Climate-driven abundance model to assess mosquito control strategies. *Ecol. Model.* 227: 7–17.
- Castro, L. A., J. K. Peterson, A. Saldana, M. Y. Perea, J. E. Calzada, V. Pineda, A. P. Dobson, and N. L. Gottdenker. 2014. Flight behavior and performance of *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae) on a tethered flight mill. *J. Med. Entomol.* 51: 1010–1018.
- Cho, S. H., H. W. Lee, E. H. Shin, H. I. Lee, W. G. Lee, C. H. Kim, J. T. Kim, J. S. Lee, W. J. Lee, G. G. Jung, et al. 2002. A mark-release-recapture experiment with *Anopheles sinensis* in the northern part of Gyeonggi-do, Korea. *Korean J. Parasitol.* 40: 139–148.
- Crowl, T. A., T. O. Crist, R. R. Parmenter, G. Belovsky, and A. E. Lugo. 2008. The spread of invasive species and infectious disease as drivers of ecosystem change. *Front. Ecol. Environ.* 6: 238–246.
- Cunze, S., J. Kochmann, and S. Klimpel. 2019. Global occurrence data improve potential distribution models for *Aedes japonicus japonicus* in non-native regions. *Pest Manag. Sci.* 76: 1814–1822.
- Duvallet, G. 2015. Changement climatique et écologie vectorielle. *Bull. Académie Vét. Fr.* 168: 116–122.
- Eritja, R., S. Delacour-Estrella, I. Ruiz-Arrondo, M. A. González, C. Barceló, A. L. García-Pérez, J. Lucientes, M. Á. Miranda, and F. Bartumeus. 2021. At the tip of an iceberg: citizen science and active surveillance collaborating to broaden the known distribution of *Aedes japonicus* in Spain. *Parasit. Vectors.* 14: 375.
- Eritja, R., I. Ruiz-Arrondo, S. Delacour-Estrella, F. Schaffner, J. Álvarez-Chachero, M. Bengoa, M. Á. Puig, R. Melero-Alcibar, A. Oltra, and F. Bartumeus. 2019. First detection of *Aedes japonicus* in Spain: an unexpected finding triggered by citizen science. *Parasit. Vectors.* 12: 53.
- Faiman, R., A. S. Yaro, M. Diallo, A. Dao, S. Djibril, Z. L. Sanogo, M. Sullivan, A. Krishna, B. J. Krajacich, and T. Lehmann. 2020. Quantifying flight aptitude variation in wild *Anopheles gambiae* in order to identify long-distance migrants. *Malar. J.* 19: 263.
- Fonseca, D. M., S. Campbell, W. J. Crans, M. Mogi, I. Miyagi, T. Toma, M. Bullians, T. G. Andreadis, R. L. Berry, B. Pagac, et al. 2001. *Aedes* (Finlaya) *japonicus* (Diptera: Culicidae), a newly recognized mosquito in the United States: analyses of genetic variation in the United States and putative source populations. *J. Med. Entomol.* 38: 135–146.
- Friard, O., and M. Gamba. 2016. BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods Ecol. Evol.* 7: 1325–1330.
- Hahn, N. G., M. C. Hwang, and G. C. Hamilton. 2017. Circuitry and coding used in a Flight Mill system to study flight performance of *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae). *Fla. Entomol.* 100: 195–198.
- Hoshino, K., H. Isawa, Y. Tsuda, and M. Kobayashi. 2010. Laboratory colonization of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) collected in Narita, Japan and the biological properties of the established colony. *Jpn. J. Infect. Dis.* 63: 401–404.
- Huestis, D. L., A. Dao, M. Diallo, Z. L. Sanogo, D. Samake, A. S. Yaro, Y. Ousman, Y. M. Linton, A. Krishna, L. Veru, et al. 2019. Windborne long-distance migration of malaria mosquitoes in the Sahel. *Nature.* 574: 404–408.
- Ibañez-Justicia, A., H. Kampen, M. Braks, F. Schaffner, M. Steeghs, D. Walther geb. Werner, D. Scheuch, W. den Hartog, M. D. Brooks, M. Dik,

- et al. 2014. First report of established population of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) in the Netherlands. *J. Eur. Mosq. Control Assoc.* 32: 9–13.
- Janssen, N., N. Graovac, G. Vignjević, M. S. Bogojević, N. Turić, A. Klobučar, M. Kavran, D. Petrić, A. I. Čupina, S. Fischer, et al. 2020. Rapid spread and population genetics of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) in southeastern Europe (Croatia, Bosnia and Herzegovina, Serbia). *Plos One*. 15: e0241235.
- Kampen, H., D. Zielke, and D. Werner. 2012. A new focus of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) distribution in Western Germany: rapid spread or a further introduction event? *Parasit. Vectors*. 5: 284.
- Kampen, H., and D. Werner. 2014. Out of the bush: the Asian bush mosquito *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) becomes invasive. *Parasit. Vectors*. 7: 59.
- Kaufmann, C., and M. R. Brown. 2008. Regulation of carbohydrate metabolism and flight performance by a hypertrehalosaemic hormone in the mosquito *Anopheles gambiae*. *J. Insect Physiol.* 54: 367–377.
- Kaufmann, C., L. F. Collins, and M. R. Brown. 2013. Influence of age and nutritional status on flight performance of the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Insects*. 4: 404–412.
- Kenna, D., H. Cooley, I. Pretelli, A. R. Rodrigues, S. D. Gill, and R. J. Gill. 2019. Pesticide exposure affects flight dynamics and reduces flight endurance in bumblebees. *Ecol. Evol.* 9: 5637–5650.
- Kerkow, A., R. Wieland, M. B. Koban, F. Hölker, J. M. Jeschke, D. Werner, and H. Kampen. 2019. What makes the Asian bush mosquito *Aedes japonicus japonicus* feel comfortable in Germany? A fuzzy modelling approach. *Parasit. Vectors*. 12: 106.
- Krebs, T., P. Bindler, G. L'Ambert, C. Toty, Y. Perrin, and F. Jourdain. 2014. First establishment of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera: Culicidae) in France in 2013 and its impact on public health. *J. Vector Ecol.* 39: 437–440.
- Lutambi, A. M., M. A. Penny, T. Smith, and N. Chitnis. 2013. Mathematical modelling of mosquito dispersal in a heterogeneous environment. *Math. Biosci.* 241: 198–216.
- Marini, F., B. Caputo, M. Pombi, G. Tarsitani, and A. della Torre. 2010. Study of *Aedes albopictus* dispersal in Rome, Italy, using sticky traps in mark-release-recapture experiments. *Med. Vet. Entomol.* 24: 361–368.
- Martini, X., A. Hoyte, and L. Stelinski. 2014. Abdominal color of the Asian citrus psyllid (Hemiptera: Liviidae) is associated with flight capabilities. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 107: 709–892.
- Minter, M., A. Pearson, K.-S. Lim, K. Wilson, J. Chapman, and C. Jones. 2018. The tethered flight technique as a tool for studying life-history strategies associated with migration in insects: tethered flight for studying insect movement. *Ecol. Entomol.* 43: 397–411.
- Moberly, S. P., C. Lator, M. McDonough, B. Foster, A. Estes, and D. J. Bentfield. 2005. Discovery of an exotic Asian mosquito, *Ochlerotatus japonicus*, (Diptera, Culicidae) in southern Indiana. *Proc. Indiana Acad. Sci.* 114: 62–64.
- Muir, L. E., and B. H. Kay. 1998. *Aedes aegypti* survival and dispersal estimated by mark-release-recapture in northern Australia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 58: 277–282.
- Müller, P., L. Engeler, L. Vavassori, T. Suter, V. Guidi, M. Gschwind, M. Tonolla, and E. Flacio. 2020. Surveillance of invasive *Aedes* mosquitoes along Swiss traffic axes reveals different dispersal modes for *Aedes albopictus* and *Ae. japonicus*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 14: e0008705.
- Nayar, J. K., and D. M. Sauerman, Jr. 1973. A comparative study of flight performance and fuel utilization as a function of age in females of Florida mosquitoes. *J. Insect Physiol.* 19: 1977–1988.
- Peach, D. A. H., M. Almond, and J. C. Pol. 2019. Modeled distributions of *Aedes japonicus japonicus* and *Aedes togoi* (Diptera: Culicidae) in the United States, Canada, and northern Latin America. *J. Vector Ecol.* 44: 119–129.
- R Development Core Team. 2009. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Reisen, W. K., H. D. Lothrop, and B. Lothrop. 2003. Factors influencing the outcome of mark-release-recapture studies with *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 40: 820–829.
- Reuss, F., A. Wieser, A. Niamir, M. Bálint, U. Kuch, M. Pfenninger, and R. Müller. 2018. Thermal experiments with the Asian bush mosquito (*Aedes japonicus japonicus*) (Diptera: Culicidae) and implications for its distribution in Germany. *Parasit. Vectors*. 11: 81.
- Robert, V., F. Günay, G. Le Goff, P. Boussès, T. Sulesco, A. Khalin, J. Medlock, H. Kampen, D. Petrić, and F. Schaffner. 2019. Distribution chart for Euro-Mediterranean mosquitoes (western Palaearctic region). *J. Eur. Mosq. Control Assoc.* 37: 1–28.
- Rodhain, F. 2008. Aspects épidémiologiques de la transmission vectorielle. *Epidémiol. et santé anim.* 54: 13–18.
- Rodríguez, A., H. Zhang, J. Klaminder, T. Brodin, P. Andersson, and M. Andersson. 2018. ToxTrac: a fast and robust software for tracking organisms. *Methods Ecol. Evol.* 9: 460–464.
- Rowley, W. A. 1970. Laboratory flight ability of the mosquito, *Culex tarsalis* Coq1. *J. Med. Entomol.* 7: 713–716.
- Rowley, W. A., and C. L. Graham. 1968. The effect of age on the flight performance of female *Aedes aegypti* mosquitoes. *J. Insect Physiol.* 14: 719–728.
- Rowley, W., C. L. Graham, and R. E. Williams. 1968. Laboratory studies of mosquito flight: a Flight Mill system. *Ann. Ent. Soc. Amer.* 61: 1507–1514.
- Russell, R. C., C. E. Webb, C. R. Williams, and S. A. Ritchie. 2005. Mark-release-recapture study to measure dispersal of the mosquito *Aedes aegypti* in Cairns, Queensland, Australia. *Med. Vet. Entomol.* 19: 451–457.
- Sáringer-Kenyeres, M., N. Bauer, and Z. Kenyeres. 2020. Active dispersion, habitat requirements and human biting behaviour of the invasive mosquito *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in Hungary. *Parasitol. Res.* 119: 403–410.
- Schaffner, F., and S. Karch. 2000. First record of *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) in metropolitan France. *Comptes Rendus Acad. Sci. Ser. 3 Sci. Vie Fr.* 323: 373–375.
- Schaffner, F., and C. Ries. 2019. First evidence and distribution of the invasive alien mosquito *Aedes japonicus* (Theobald, 1901) in Luxembourg. *Bull. Soc. Nat. Luxemb.* 121: 169–183.
- Schaffner, F., S. Chouin, and J. Guilleateau. 2003. First record of *Ochlerotatus (Finlaya) japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in metropolitan France. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 19: 1–5.
- Schiefer, B. A., R. A. Ward, and B. F. Eldridge. 1977. *Plasmodium cynomolgi*: effects of malaria infection on laboratory flight performance of *Anopheles stephensi* mosquitoes. *Exp. Parasitol.* 41: 397–404.
- Seidel, B., F. Montarsi, H. P. Huemer, A. Indra, G. Capelli, F. Allerberger, and N. Nowotny. 2016a. First record of the Asian bush mosquito, *Aedes japonicus japonicus*, in Italy: invasion from an established Austrian population. *Parasit. Vectors*. 9: 284.
- Seidel, B., N. Nowotny, T. Bakonyi, F. Allerberger, and F. Schaffner. 2016b. Spread of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in Austria, 2011–2015, and first records of the subspecies for Hungary, 2012, and the principality of Liechtenstein, 2015. *Parasit. Vectors*. 9: 356.
- Service, M. W. 1980. Effect of wind on the behaviour and distribution of mosquitoes and blackflies. *Int. J. Biometeorol.* 24: 347–353.
- Service, M. W. 1997. Mosquito (Diptera: Culicidae) dispersal—the long and short of it. *J. Med. Entomol.* 34: 579–588.
- Spitzen, J., and W. Takken. 2018. Keeping track of mosquitoes: a review of tools to track, record and analyse mosquito flight. *Parasit. Vectors*. 11: 123.
- Stanfield, T. K., and F. F. Hunter. 2010. Honeydew and nectar sugars differentially affect flight performance in female black flies. *Can. J. Zool.* 88: 69–72.
- Tanaka, K., K. Mizusawa, and E. S. Saugstad. 1979. A revision of the adult and larval mosquitoes of Japan (including the Ryukyu Archipelago and the Ogasawara Islands) and Korea (Diptera: Culicidae). *Contrib. Am. Entomol. Inst.* 16: vii 1–987.
- Tran, A., G. L'Ambert, G. Lacour, R. Benoit, M. Demarchi, M. Cros, P. Cailly, M. Aubry-Kientz, T. Balenghien, and P. Ezanno. 2013. A rainfall- and temperature-driven abundance model for *Aedes albopictus* populations. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 10: 1698–1719.
- Tsuda, Y., O. Komagata, S. Kasai, T. Hayashi, N. Nihei, K. Saito, M. Mizutani, M. Kunida, M. Yoshida, and M. Kobayashi. 2008. A

- mark-release-recapture study on dispersal and flight distance of *Culex pipiens pallens* in an urban area of Japan. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 24: 339–343.
- Vavassori, L., A. Saddler, and P. Müller. 2019. Active dispersal of *Aedes albopictus*: a mark-release-recapture study using self-marking units. *Parasit. Vectors.* 12: 583.
- Verdonschot, P., and A. Besse-Lototskaya. 2014. Flight distance of mosquitoes (*Culicidae*): a metadata analysis to support the management of barrier zones around rewetted and newly constructed wetlands. *Limnol. - Ecol. Manag. Inland Waters.* 45: 69–79.
- Verhulst, N. O., J. A. Loonen, and W. Takken. 2013. Advances in methods for colour marking of mosquitoes. *Parasit. Vectors.* 6: 200.
- Versteirt, V., F. Schaffner, C. Garros, W. Dekoninck, M. Coosemans and W. Van Bortel. 2009. Introduction and establishment of the exotic mosquito species *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) in Belgium. *J. Med. Entomol.* 46: 1464–1467.
- Wieser, A., F. Reuss, A. Niamir, R. Müller, R. B. O'Hara, and M. Pfenninger. 2019. Modelling seasonal dynamics, population stability, and pest control in *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae). *Parasit. Vectors.* 12: 142.
- Wilkerson, R. C., Y. M. Linton, and D. Strickman. 2021. Mosquitoes of the World. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.
- Williges, E., A. Farajollahi, J. J. Scott, L. J. McCuiston, W. J. Crans, and R. Gaugler. 2008. Laboratory colonization of *Aedes japonicus japonicus*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 24: 591–593.

Chapitre IV. Caractérisation des stades immatures d'*Ae. japonicus*.

Focus sur les œufs, leur diapause et la période de ponte.

Introduction

La période de ponte caractérise le moment où les œufs sont pondus au cours de l'année. Elle permet de déterminer une partie de la période d'activité du moustique étudié. Stades immatures et immobiles, chez les espèces du genre *Aedes*, les œufs sont pondus à l'interface eau/air des divers gîtes de ponte. Ces œufs peuvent présenter des caractéristiques propres à l'espèce (morphologie, ornementation de l'exochorion, résistance à la sécheresse, diapause, ...). Ils introduisent la génération suivante et permettent aux populations de subsister d'année en année. En effet, les œufs éclosent en présence d'eau, permettant aux larves de se développer dans l'eau libre jusqu'à l'émergence des imagos. Puisque pondus à sec, les œufs des espèces du genre *Aedes* doivent survivre jusqu'à la prochaine immersion, qui peut subvenir tardivement lors de sécheresse. Pour que les larves puissent compléter leur cycle de développement, les conditions climatiques doivent être favorables pendant la durée de ce cycle de vie : les œufs ne doivent donc pas éclore pendant la mauvaise saison, à savoir l'hiver en région tempérée, où le froid et l'absence d'eau libre ne seraient pas propice à la survie des larves.

La dormance, qui correspond au ralentissement ou à l'arrêt de l'activité métabolique, et en particulier la diapause, qui est une dormance saisonnière sous contrôle génétique, peut être un atout pour la survie des espèces d'une année à l'autre en zones tempérées. Bien que fortement suspectée chez *Ae. japonicus* (Armistead et al., 2012; Day et al., 2021), elle n'avait pas été démontrée formellement, ni caractérisée lors du démarrage de cette thèse.

Nous proposons donc ici de nous intéresser à l'étude de la période de ponte et de la diapause chez ce moustique en vue d'une meilleure connaissance de la biologie de cette espèce en Alsace.

Matériel et méthodes

Nous avons récolté des œufs à l'aide de pièges pondoirs dans le Bas-Rhin (Alsace, France) et particulièrement dans un site d'étude situé dans la commune de Reichstett. Les œufs ont ensuite été comptabilisés et mesurés sous microscope. Un protocole permettant de distinguer la quiescence (une dormance non saisonnière) de la diapause a été appliqué, incluant plusieurs immersions dans l'eau. L'utilisation d'une solution décolorante (solution Tripš) sur les œufs non éclos après immersion, a permis d'observer la présence ou l'absence d'embryon dans l'œuf ainsi que son stade de développement. Un modèle prédictif est réalisé pour évaluer le potentiel lien entre l'état de diapause et le volume de l'œuf.

Résultats

Cette partie a été valorisée par l'article suivant, publié dans le journal *Parasite* en 2021 : Krupa, Eva, Nicolas Henon, et Bruno Mathieu. 2021. « *Diapause characterisation and seasonality of Aedes japonicus japonicus (Diptera, Culicidae) in the Northeast of France* ». *Parasite* (Paris, France) 28: 45. <https://doi.org/10.1051/parasite/2021045>.

Les résultats principaux sont repris dans le résumé graphique suivant (**Figure 16**).

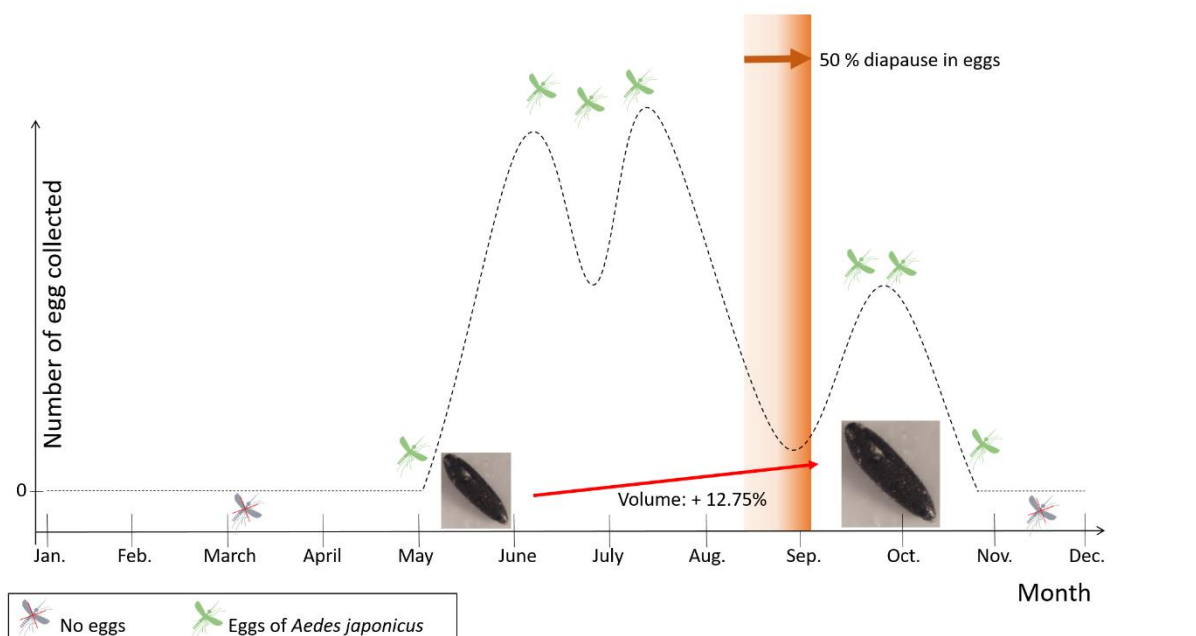


Figure 16. Résumé graphique de l'article. Le profil saisonnier du nombre d'œufs pondus est indiqué en pointillés. L'augmentation du taux de diapause et du volume des œufs sont aussi indiqués à la période de l'année correspondante. Le taux de diapause augmente jusqu'à 50% vers le mois de Septembre pour atteindre 100% en Octobre. Seul le gradient jusqu'à 50% est montré, cette valeur seuil étant importante pour déterminer la photopériode critique maternelle.

Les fichiers additionnels de cet article sont présentés en **annexes 9 et 10**.

Synthèse et perspectives

Au cours des deux années consécutives 2019 et 2020, 42 668 œufs ont été collectés. La période de ponte s'étale de fin Mai à fin Octobre/début Novembre selon les années étudiées. Deux pics d'abondance ont été observés : un premier, important, en été (Juin à Août) et un second moins important, plus tard dans l'année en Octobre. Comparativement à l'espèce invasive *Ae. albopictus*, aussi présent en Alsace, la période de ponte d'*Ae. japonicus* est plus large.

Les mesures morphométriques réalisées montrent que les œufs font en moyenne 616 µm de long et 177 µm de large pour un volume de $10,1 \cdot 10^{-3} \text{mm}^3$. Ces mesures tendent à augmenter au cours de l'année, sans lien statistique clairement établi avec la diapause. Les conditions environnementales locales sont une possible explication de cette différence en impactant la taille des larves et donc des adultes produits.

Le taux de diapause observé dans les œufs n'est jamais nul et varie selon la période de l'année. Dès le printemps, quelques œufs (10% de la ponte en moyenne) présentent d'ores et déjà un phénotype de diapause. Ce taux augmente lentement jusqu'au mois d'Août, et croît rapidement jusqu'à atteindre 100% en Octobre. La photopériode critique maternelle, qui correspond à la durée du jour qui induit, chez les femelles photosensibles, 50% d'œufs diapausants dans la ponte, est estimée entre 13h14 et 13h31.

Cette étude est la première à démontrer formellement la diapause des œufs d'*Ae. japonicus* en la distinguant de la quiescence. De plus, il a été montré que le taux de diapause augmente au cours de la saison de ponte. La photopériode est connue pour être un facteur essentiel dans l'induction de la diapause : le patron observé chez *Ae. japonicus*, avec un faible taux d'œufs diapausants dès le printemps, suggère que d'autres facteurs pourraient jouer en synergie avec la photopériode. L'un d'eux pourrait être la température. Dans sa zone d'origine, ce moustique peut également passer les températures froides sous forme de larves, démontrant une grande plasticité dans ses stratégies d'hivernages. La diapause dès le début du printemps pourrait suggérer que l'espèce n'est pas encore adaptée totalement aux conditions locales.

Si d'autres études se sont intéressées à l'induction de la diapause (Bova et al., 2019), sa durée et sa levée restent encore à investiguer. Le mécanisme de la diapause, connu chez d'autres espèces de moustiques, est également un point d'intérêt pour de futures études. En

effet, la diapause est un élément clef et un véritable atout dans le maintien de l'espèce en zone colonisée. Ces œufs pourraient être ciblés dans de futures méthodes de lutte contre cette espèce invasive, tout comme les femelles soumises aux stimuli d'induction de la diapause.

Cette étude peut servir de comparaison pour l'étude de la photopériode critique maternelle. Nous l'avons estimée par des données de terrain, mais des expériences complémentaires en conditions contrôlées à l'aide de chambres climatiques pourraient être plus exhaustifs et permettraient également de mesurer l'influence des températures.

Références

- Armistead, J. S., Nishimura, N., Arias, J. R., & Lounibos, L. P. (2012). Community ecology of container mosquitoes (Diptera : Culicidae) in Virginia following invasion by *Aedes japonicus*. *Journal of Medical Entomology*, 49(6), 1318-1327.
- Bova, J., Soghigian, J., & Paulson, S. (2019). The prediapause stage of *Aedes japonicus japonicus* and the evolution of embryonic diapause in Aedini. *Insects*, 10(8), 222.
<https://doi.org/10.3390/insects10080222>
- Day, C. A., Lewandowski, K., Vonesh, J. R., & Byrd, B. D. (2021). Phenology of rock pool mosquitoes in the Southern Appalachian Mountains : Surveys reveal apparent winter hatching of *Aedes japonicus* and the potential For asymmetrical stage-specific interactions. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 36(4), 216-226.
<https://doi.org/10.2987/20-6964.1>

Diapause characterisation and seasonality of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera, Culicidae) in the northeast of France

Eva Krupa*, Nicolas Henon, and Bruno Mathieu

Université de Strasbourg, DIHP Dynamique des Interactions Hôte Pathogène UR 7292, 67000 Strasbourg, France

Received 19 January 2021, Accepted 7 May 2021, Published online 26 May 2021

Abstract – The invasive mosquito *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) settled in 2013 in the Alsace region, in the northeast of France. In this temperate area, some mosquito species use diapause to survive cold winter temperatures and thereby foster settlement and dispersal. This study reports diapause and its seasonality in a field population of *Ae. japonicus* in the northeast of France. For two years, eggs were collected from May to the beginning of November. They were most abundant in summer and became sparse in late October. Diapause eggs were determined by the presence of a fully developed embryo in unhatched eggs after repeated immersions. Our study showed effective diapause of *Ae. japonicus* in this part of France. At the start of the egg-laying period (week 20), we found up to 10% of eggs under diapause, and this rate reached 100% in October. The 50% cut-off of diapause incidence was determined by the end of summer, leading to an average calculated maternal critical photoperiod of 13 h 23 min. Interestingly, diapause was shown to occur in part of the eggs even at the earliest period of the two seasons, i.e. in May of each year. Even though we observed that the size of eggs was positively correlated with diapause incidence, morphology cannot be used as the unique predictive indicator of diapause status due to overlapping measurements between diapausing and non-diapausing eggs. This study provides new knowledge on diapause characterisation and invasive traits of *Ae. japonicus*.

Key words: *Aedes japonicus japonicus*, East Asian bush mosquito, Egg, Diapause, Morphology, France.

Résumé – Caractérisation de la diapause et saisonnalité d'*Aedes japonicus japonicus* (Diptera, Culicidae) dans le nord-est de la France. *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901), un moustique invasif, s'est installé en 2013, en Alsace, dans le nord-est de la France. Dans une telle région tempérée, certaines espèces de moustiques ont recours à la diapause pour survivre aux températures froides de l'hiver, ce qui favorise donc l'établissement et la dispersion de ces espèces. Cette étude montre le phénomène de diapause et la saisonnalité d'une population sauvage d'*Ae. japonicus* dans le nord-est de la France. Pendant deux ans, les œufs ont été collectés de mai à début novembre. Ils étaient plus abondants durant l'été et plus rarement présents en octobre. Les œufs diapausants ont été déterminés par la présence d'un embryon entièrement développé dans les œufs non éclos après des immersions répétées. Notre étude a mis en évidence une diapause effective d'*Ae. japonicus* dans le nord-est de la France. Au début de la période de ponte (semaine 20), jusqu'à 10 % des œufs a été trouvé à l'état de diapause et ce taux atteint 100 % en octobre. Un taux de 50 % de diapause a été atteint à la fin de l'été, amenant à une photopériode critique maternelle calculée de 13 heures 23 minutes en moyenne. De façon intéressante, il a été montré que la diapause se produisait chez une partie des œufs, et ce même dès le début des deux saisons, en mai de chaque année. Bien que nous ayons observé que les mesures des œufs étaient positivement corrélées avec le taux de diapause, la morphologie des œufs seule ne peut pas être utilisée comme unique indicateur de prédiction du statut de diapause, à cause d'un chevauchement des mesures entre les œufs diapausants et non diapausants. Cette étude offre de nouvelles connaissances sur les caractéristiques de la diapause et sur les traits d'invasion d'*Ae. japonicus*.

Introduction

The East Asian bush mosquito, *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901), is native to eastern Asian countries like Japan, Korea and China [48] and has colonised the world

mainly through trade in used tyres [32]. This invasive mosquito began spreading in the United States in 1998 [1] and started to colonise Europe two years later, in 2000 [39]. Nowadays, in Europe, the species is found in France [39], Belgium [54], Switzerland [40], Germany [5, 20, 55], Austria [44], Slovenia [44], the Netherlands [17], Luxembourg, Liechtenstein, Spain, Croatia, Hungary, Italy [36], Bosnia and Herzegovina, and

*Corresponding author: e.krupa@unistra.fr

Serbia [19]. The East Asian Bush mosquito has therefore been able to colonise a vast area and various latitudes in only 20 years. This highlights its great ability to adapt and to spread over a large geographical area under different meteorological conditions. It is likely that the subspecies *Aedes japonicus japonicus* is the only one present in Europe, called hereafter *Aedes japonicus*.

In France, *Ae. japonicus* was detected in 2000 [39] and settled in the northeastern part of the country in 2013 [23]. Prior to invasion by *Ae. japonicus*, mainland France had already faced invasive mosquitoes such as *Aedes albopictus* (Skuse, 1894), which is now considered the most invasive mosquito species in the world [50] and is well established in Europe [30]. The so-called tiger mosquito has been established in France since 2004 [10, 38] and was first detected in the northeastern part of the country in 2014 [24]. Both species, *Ae. albopictus* and *Ae. japonicus*, are now well settled in the northeast of France.

The invasive species *Ae. japonicus* is widespread and can feed on a wide range of hosts from birds to various mammals, including humans [41]. In addition, *Ae. japonicus* is a potential vector of several viruses such as chikungunya virus, dengue virus, Japanese encephalitis virus, Saint Louis encephalitis virus, and West Nile virus [29]. *Aedes japonicus* has colonised a wide range of areas and has a preference for forest edges [31]. Even though it is described as a forest species [27], it can be found in open areas. Tree holes and rock pools are its main natural larval habitats [1, 3, 43, 48, 52]. Artificial breeding sites like plastic buckets or rain barrels are regularly colonised [4, 21, 47, 52]. This species is more frequently found in rural than in urban areas: tyres in rural areas are more frequently stored outside and act as suitable breeding sites [4]. Cemeteries are also suitable places since larvae can develop in small water containers found around the tombs [5]. Artificial containers such as tyre casings, catch basins, large containers or surface water pools have also been mentioned as appropriate oviposition places [1, 6, 21], especially when they are a dark shade or colour [3, 4]. Thus, suitable places for this species are good vegetation cover, with available natural and artificial breeding sites and the presence of potential hosts like mammals, birds and humans in the surroundings.

Each mosquito species has its own phenology, which is mainly dependent on environmental variables like temperature or the availability of suitable water bodies [12]. The presence of *Ae. japonicus* adults was observed to be negatively correlated to temperature [4] and this mosquito is more active in spring and later, in autumn [21]. Its larvae also show tolerance to cool water temperatures, but a recent study observed no fourth instar larvae below 10 °C [8].

Culicids have developed various strategies at all the biological stages to survive through cold winters in temperate regions [11, 22]. One of these strategies is dormancy: described as an interruption of metabolic activity, it is a key parameter in maintaining natural populations [11].

Dormancy can be divided into quiescence or diapause. Quiescence is likely to cease when favourable environmental conditions return [11]. On the other hand, diapause is complex and is generally controlled by genetic or hormonal factors, meaning that it is seasonal and persists over time. Diapause is consequently a particular form of dormancy and constitutes

an advantage for species dispersal and winter survival in colonised areas [49].

When temperatures decline in winter, *Ae. japonicus* larvae or eggs can survive in their areas of origin and colonised regions [3, 9, 48]. However, the life stages undergone by this species in winter seem to vary according to abiotic conditions and need further clarification in our study area. When eggs are in the overwintering stage, it is unclear whether their hatching inability is due to quiescence or diapause. Furthermore, even though it is highly suspected, diapause has not clearly been demonstrated in *Ae. japonicus*. The photoperiod is likely to be a factor that induces diapause [7], and a study showed that female adults of this species are photosensitive [7]. This would support the hypothesis that *Ae. japonicus* eggs are capable of diapausing. In addition, the shell structure of *Ae. japonicus* eggs shows desiccant resistance [54], which would also be in favour of this type of dormancy. Despite these possibilities, and as opposed to *Ae. albopictus*, it has not been shown whether *Ae. japonicus* eggs enter diapause. Even though higher temperatures can limit its spread [21], the Asian bush mosquito is a highly invasive vector species requiring surveillance. Characterising seasonality and diapause in *Ae. japonicus* is key to better understanding the colonisation process and spread of this invasive vector species, since these factors can increase the efficiency of control methods.

In this study, we describe diapause incidence and the seasonality of *Ae. japonicus* in the northeast of France. We investigated the overwintering of *Ae. japonicus* and determined which parameters influence diapause in eggs. To this end, we (i) described the morphology and viability of *Ae. japonicus* eggs throughout the year, (ii) characterised diapause in the late season, and (iii) predicted diapause in eggs with the help of unsophisticated and simple parameters.

Methods

Studied field area

Eggs were collected in the municipality of Reichstett, around 7 km north of Strasbourg (48.64 N, 7.75 E) (Fig. 1), where (i) a great number of *Ae. japonicus* eggs were repeatedly collected prior to this study, and (ii) no *Ae. albopictus* was present. The study area was approximately 82,000 m² in size and delimited by roads and fences of private gardens. The composition of the Reichstett study site can be roughly divided into 1.7 ha of community garden (21.5%) and 6.5 ha of forest (78.5%), both areas being suitable habitats for this species. Supplementary eggs were collected during local monitoring in the Bas-Rhin Department in the northeast of France to follow the general egg pattern abundance (see Sect. Pattern of egg abundance in the field and diapause incidence related to environmental clues).

Data collection and identification

Eggs were collected every two weeks by ovitraps. A trap consisted of a black bucket filled with 1.5 L of water and a piece of extruded polystyrene which served as an oviposition substrate. In order to increase the attractiveness of the ovitraps, local plant litter was added to the water. In the laboratory, eggs were

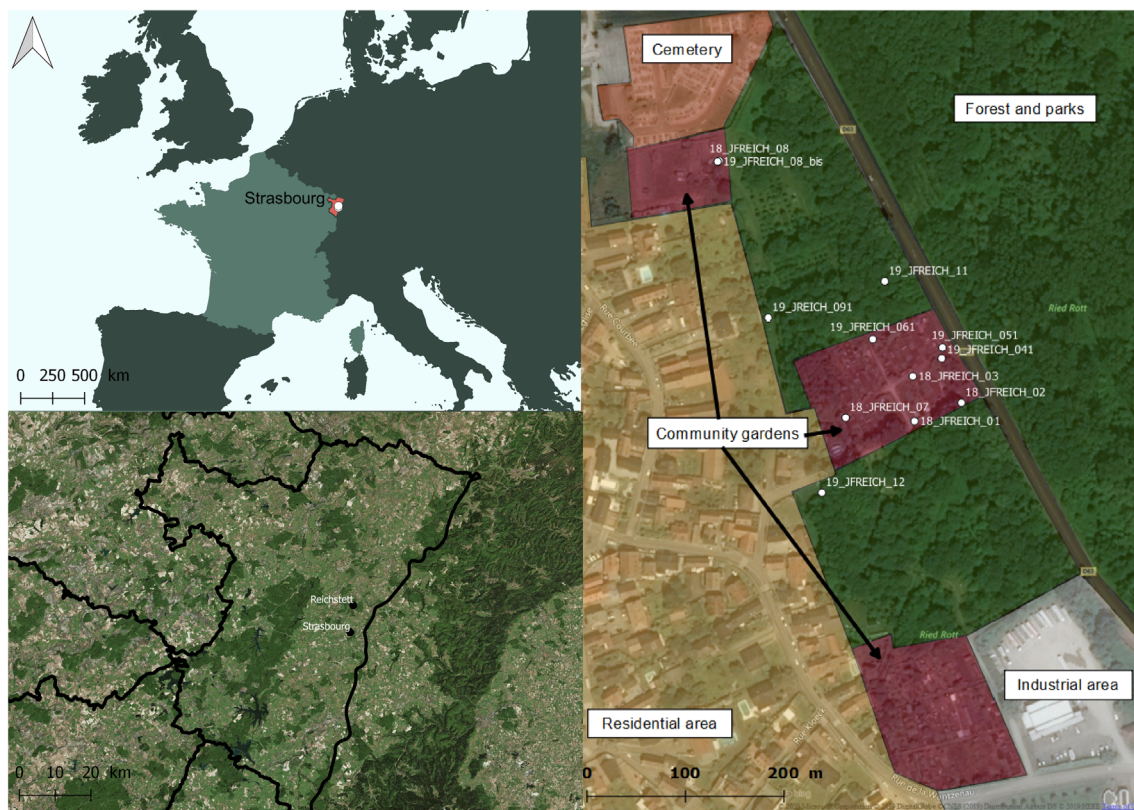


Figure 1. Field area of interest in Reichstett, France. Relative locations of Strasbourg and Reichstett in the Bas-Rhin Department (in red). On the right, details on land uses of the studied area and ovitraps position are given. Industrial areas (grey) are mainly made of concrete with no or few breeding sites. Residential areas (yellow) represent the main land use with individual houses and private gardens. The Reichstett cemetery (orange) is located on the north border of the city and provides flower pots and saucers or other small containers which serve as breeding sites. Three community gardens (red–violet) are inside the field area of interest. Patches with garden sheds and water storage are delimited by low height fences. Parks with planted trees or smaller natural forest areas (green) separate community gardens. A larger natural forest is located beyond the departmental road. Street map background is under ©OpenStreetMap & contributors.

counted under a Nikon SMZ1270 binocular magnifier (Nikon Corporation, Tokyo, Japan) and morphologically identified to species level using a Zeiss Standard 25 microscope (Zeiss, Oberkochen, Germany) and the egg description of *Ae. japonicus* by Haddow et al. [16]. Hatched larvae were identified at the fourth instar using the studies of Farajollahi and Price [13], and Tanaka et al. [48] while adult stages were confirmed by the description of Tanaka et al. [48]. The hatched, dried and damaged eggs collected were discarded prior to analysis.

Egg collection

Weeks referred to the calendar week (ISO standard 8601 week date). A total of 12 ovitraps were set up in the Reichstett area and collected every two weeks from weeks 10 to 32 (6 March – 7 August). Furthermore, to increase details on diapause incidence in the late season, the sampling effort was led weekly from weeks 32 to 46 (7 August – 12 November) in 2019. In 2020, the collection was performed on a weekly basis during the whole sampling season from weeks 10 to 44 (2 March – 28 October). In addition, the general seasonality pattern of eggs was investigated from 158 to 98 ovitraps set up in the Bas-Rhin Department in 2019 and 2020, respectively. As part of the regional surveillance network

for invasive mosquitos, they were collected every two weeks, from weeks 19 to 47 (6 May – 19 November) in 2019 and from weeks 25 to 41 (15 June – 10 October) in 2020.

Morphological measurements

All the eggs were measured when fewer than 20 eggs were collected in the oviposition substrate. Otherwise, a 10% subsample of eggs was visually selected for each oviposition substrate (see [Additional File 1, Table 1 for sampling size](#)).

Each egg was prepared on a microscopic slide using a piece of double-sided adhesive tape. The eggs were observed under a Zeiss Standard 25 microscope equipped with a Nikon DS-Fi3 digital camera (Nikon Corporation) and an additional LED light source. The length and width of each egg were measured in μm with NIS elements software version 4.6 from Nikon Corporation. Each measure was taken three times to avoid observation bias [25]. Width was measured approximately at one third of the anterior part of the egg, which is both the widest part of the egg and the part where the egg shell breaks when the larvae hatch. Egg volume in $\times 10^{-3} \text{ mm}^3$ was calculated using the following formula [2, 53]:

$$\text{Volume} = \frac{1}{6} \times \pi \times \text{length} \times \text{width}^2.$$

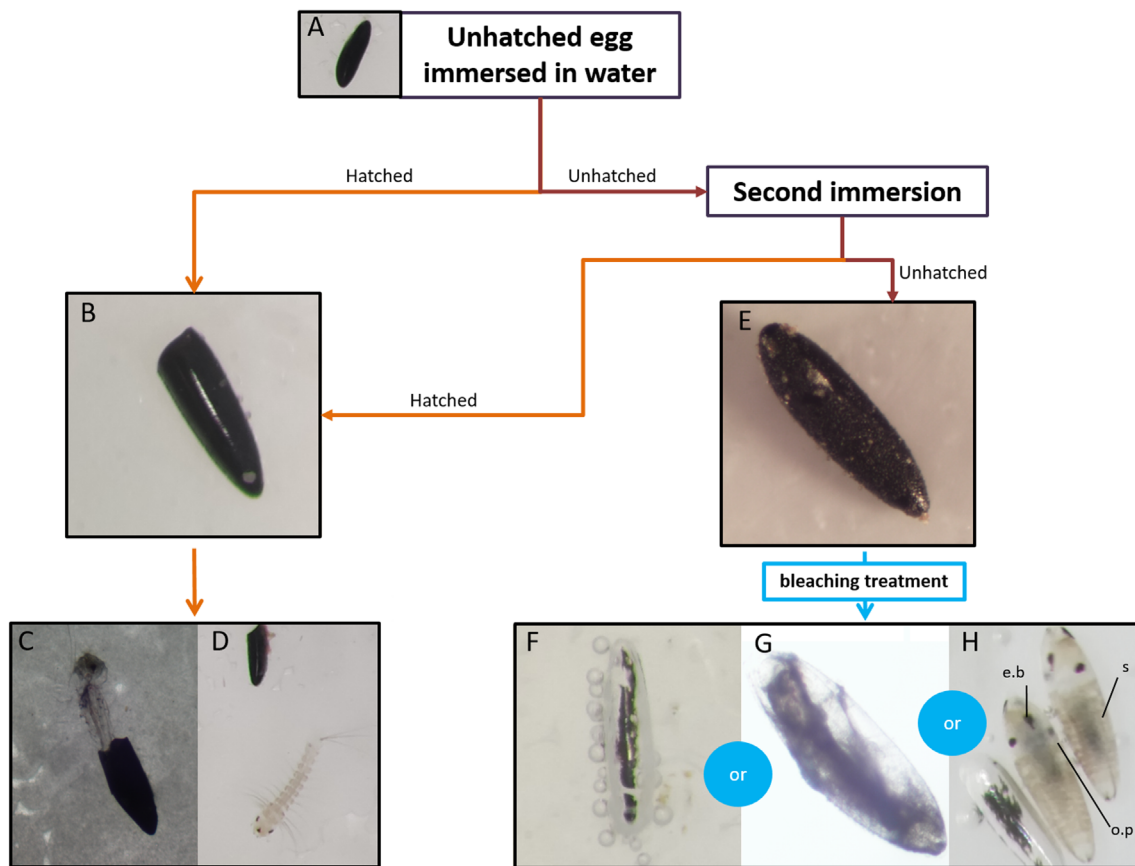


Figure 2. Assessment of hatching success, mortality rate and diapause incidence. Eggs (A) are immersed in tap water twice. After this hatching test, eggs can either hatch (orange arrows – B), resulting in a larva (C and D) out of the shell, or remain unhatched (red arrows – E), meaning the egg has not opened. Afterwards, unhatched eggs are bleached (blue arrows). In this case, unhatched eggs can either be unfertilised (F), partially embryonated (G) or contain a fully developed embryo (H). Full embryogenesis is achieved when complete segmentation (s), pigmented ocelli (o.p) and egg burster (e.b) are observed without deformity.

Hatching success, viability and diapause incidence in eggs

The study design made it possible to distinguish quiescence from diapause. From every ovitrap collected, 10–30 eggs were visually selected and submitted to the hatching procedure described in Figure 2. Repeated immersion of the eggs led to their hatching if they were under a state of quiescence. Conversely, eggs under diapause would remain unhatched until the end of this protocol. In order to determine hatching success, the batches of eggs (Fig. 2A) were immersed in 60 mL of tap water at room temperature for 24 h. After allowing the eggs to dry for 24 h at 22 ± 1 °C and 70% relative humidity, unhatched eggs were subjected to a second immersion period of 7 days. Hatched eggs (Fig. 2B) and larvae (Figs. 2C and 2D) were therefore counted to determine the hatching success rate at 24 h after the first immersion and at 24 h, 48 h and 7 days after the second immersion.

At the end of this procedure, unhatched eggs were dried for 24 h at room temperature and observed under a Nikon SMZ1270 stereomicroscope (Nikon Corporation). The unhatched eggs from the step illustrated in Figure 2E were bleached with Trpiš solution [51] for 10–20 min at room temperature. This bleaching treatment allowed us to observe

the state of the embryos through the egg shells. Thus, the status of the unhatched eggs could be determined as follows: unfertilised (Fig. 2F), partially embryonated (Fig. 2G) or with a fully developed embryo (Fig. 2H). Unfertilised eggs had no visible content within the clear egg shell. Partially embryonated egg exhibited either a white unshaped mass or a partially formed embryo, according the following criteria: partial segmentation, ocelli partially formed or missing, egg burster missing. Full embryogenesis was observed when complete segmentation, pigmented ocelli and egg burster were visible without deformity. Eggs with a fully developed embryo are therefore referred to as embryonated unhatched eggs.

Therefore, hatching success, viability, mortality rate and diapause incidence were, respectively, calculated as follows:

See the equation top of the next page

Predictive model of diapause incidence in eggs

In order to categorise eggs either as under diapause or not in the late season, a predictive model was proposed. Only viable eggs were considered for analysis. Eggs were batched per week of collection. A logistic model was applied to evaluate the

$$\text{Hatching success \%} = \frac{\text{Hatched eggs}}{\text{Embryonated unhatched eggs} + \text{Hatched eggs}} \times 100,$$

$$\text{Viability rate \%} = \frac{\text{Embryonated unhatched eggs} + \text{Hatched eggs}}{\text{All eggs}} \times 100,$$

$$\text{Mortality rate \%} = \frac{\text{Partially embryonated unhatched eggs} + \text{Unfertilised unhatched eggs}}{\text{All eggs}} \times 100,$$

$$\text{Diapause incidence \%} = \frac{\text{Embryonated unhatched eggs}}{\text{Embryonated unhatched eggs} + \text{Hatched eggs}} \times 100.$$

Diapause incidence can also be determined as:

$$\text{Diapause incidence \%} = 100 - \text{Hatching success (\%)}.$$

probability of diapause in eggs, in which success was defined as an egg under diapause and failure as an egg not under diapause. The Akaike information criterion (AIC) method was used to select the week of collection and the width of an egg as the two best parameters to be implemented in the model. Thus, the logistic model was expressed as the following equation (1):

$$\log \frac{p}{1-p} = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_1 x_2 + \sum_{i=1}^3 \varepsilon_i. \quad (1)$$

In this equation, p is the probability of the egg being under diapause, β_0 the intercept, β_1 the regression coefficient associated with x_1 , the explicative temporal parameter “week of collection”, β_2 the regression coefficient associated with x_2 which is the explicative morphological parameter “width of egg”, and β_3 the regression coefficient of the interaction between x_1 and x_2 . ε_i were associated errors.

In order to evaluate the link between diapause incidence and egg morphology, grouping was performed. The 50% diapause incidence cut-off was observed in week n , the mix of diapausing and non-diapausing eggs sampled from weeks $n - 1$ to $n + 1$ were gathered into a first group labelled M. The eggs collected earlier than week $n - 1$ were grouped as non-diapausing eggs (group ND) while the eggs sampled later than week $n + 1$ were grouped as diapausing eggs (group D). The proposed model was adjusted without group M as it contained a mix of diapausing and non-diapausing eggs.

Meteorological data and photoperiod

Meteorological data were provided by meteoFrance.com (Météo-France, Saint-Mandé, France) and came from the closest station in Strasbourg Entzheim (48.55 N 7.63 E) located 14 km away from the study site. The following meteorological data were collected: average minimal temperature per week (avT_{\min}), average maximal temperature per week (avT_{\max}), minimal value of minimal temperature per week ($\min T_{\min}$), minimal value of maximal temperature per week ($\min T_{\max}$), maximal value of minimal temperature per week ($\max T_{\min}$), and maximal value of maximal temperature per week ($\max T_{\max}$). Temperatures are expressed in degrees Celsius. Sunshine is expressed in hours:minutes and rainfall in mm.

Sunshine and rainfall were also averaged for each calendar week resulting in average sunshine per week ($avSun$) and average rainfall per week ($avRain$), respectively. These two parameters were also summed up after seven consecutive days as weekly cumulative sunshine ($cumulSun$) and weekly cumulative rainfall ($cumulRain$).

The daily sunrise and sunset time in Strasbourg were used to define day length, i.e. daily photoperiod, which was subsequently expressed as a weekly average ($avPhotoperiod$).

Statistical analysis

All statistical analyses were performed with R language [34]. Two-tailed tests were performed with error type I $\alpha = 5\%$. Mean and median results were expressed as mean \pm standard deviation (SD) or as median interquartile range (IQR).

To observe the pattern in egg laying, eggs from each ovitrap in the Reichstett area were culminated per two weeks.

The eggs of week 45 in the year 2019 collected in Reichstett were discarded for both morphological and diapause analysis due to a low sample size ($n = 5$, see [Additional File 1, Table 1 for sampling size](#)). Diapause incidence was studied during summer and autumn, from weeks 26 to 44, each year.

Relationships between week of collection, number of eggs, diapause incidence, morphological measurements of eggs (length, width and volume) and meteorological parameters (avT_{\min} , avT_{\max} , $\min T_{\min}$, $\min T_{\max}$, $\max T_{\min}$, $\max T_{\max}$, $avSun$, $avRain$, $cumulSun$, $cumulRain$, $avPhotoperiod$) were analysed through principal component analysis (PCA). Threshold was set at 75% of explained variance, and Spearman rank order correlations were calculated between these parameters.

Linear regressions were assumed between week of collection and width of the eggs as well as between week of collection and volume of the eggs. Adjusted R^2 was used to evaluate model fitting. Linear regressions between weeks of collection and morphological measures of eggs were performed. Linear regression was expressed as the following equation (2):

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \varepsilon_1. \quad (2)$$

In this equation, y is the morphological parameter studied (either the volume or the width of the eggs), β_0 the intercept,

Table 1. Number of eggs of *Ae. japonicus* collected in Reichstett and in the Bas-Rhin Department. The data from 12 ovitraps for Reichstett and from 158 ovitraps for 2019 to 98 ovitraps for 2020 for the Bas-Rhin Department are summed up per two-weeks.

Reichstett				Bas-Rhin Department			
2019		2020		2019		2020	
Week of collection	Number of eggs	Week of collection	Number of eggs	Week of collection	Number of eggs	Week of collection	Number of eggs
20	16	20	529	21	395		
22	921	22	1592	23	395		
24	3525	24	1243	25	858	25	306
26	3994	26	1489	27	247	27	680
28	2466	28	1698	29	943	29	2604
30	4339	30	3491	31	833	31	1512
32	2338	32	2136	33	1078	33	1073
34	2412	34	1338	35	382	35	1499
36	1112	36	876	37	19	37	487
38	791	38	172	39	34	39	228
40	2448	40	1992	41	152	41	221
42	1336	42	200	43	215	43	0
44	60	44	103				
46	51						
Total	25,809	Total	16,859	Total	5551	Total	8610

β_1 the regression coefficient, x_1 the explicative parameter “week” and ε_1 the associated errors.

Eggs were grouped according to the week of collection and the critical photoperiod in which diapause incidence reached 50% in eggs. As data were not normally distributed (Shapiro–Wilk test, $P = 0.009$), the Kruskal–Wallis test was performed in order to support the hypothesis of arbitrary groups being a homogeneous group. The one-tailed Wilcoxon rank sum test was performed to analyse the morphology between diapausing and non-diapausing eggs.

The maps were made with QGIS Las Palmas 2.18.23 [33].

Results

Pattern of egg abundance in the field and diapause incidence related to environmental clues

In 2019, within the studied area, the 12 ovitraps sampled collected 25,809 eggs of *Ae. japonicus* from week 20 (mid-May – 16 eggs) to week 45 (first week of November – 51 eggs). *Aedes japonicus* eggs were detected in Reichstett over 25 consecutive weeks and the number of collected eggs ranged from 16 to 4339 eggs with an average of 1844 ± 1454 eggs per two-weeks. In 2020, the 12 ovitraps sampled 16,859 eggs from week 20 (mid-May – 529 eggs) to week 44 (end of October – 103 eggs), meaning that the East Asian bush mosquito was detected for 24 consecutive weeks. In 2020, the number of collected eggs ranged from 76 to 3491 eggs with an average of 1297 ± 955 eggs per two-weeks (Table 1). While most of the eggs were collected between June and August during both years (Fig. 3), the highest numbers of samples were collected in week 26 in late June 2019, in week 28 at the beginning of July 2020 and, for both years, in week 30 at end of July. After that, a decrease in egg number was observed in September for both years and an increase in egg number was

observed later in the season, in both October 2019 and 2020 (week 40). Conversely, the number of collected eggs decreased in October and November and no eggs were observed when average minimal temperatures were below 0 °C. Apart from the local study site in Reichstett, the regional ovitrap survey in the Bas-Rhin administrative unit sampled 5156 eggs in 2019, from week 23 to week 43 (June 3 – October 21, 2019), with an average of 469 ± 387 eggs per two weeks (min: 19 – max: 1078 eggs). In 2020, the Bas-Rhin administrative unit then collected 8610 eggs from week 25 to week 41 (June 15 – October 5, 2020) with an average of 861 ± 813 eggs per two-weeks (min: 221 – max: 2604 eggs) (Table 1). A similar pattern of egg abundance between the study site of Reichstett and at a larger scale in the Bas-Rhin area was observed (Fig. 3), with higher number of eggs at the Bas-Rhin administrative unit in weeks 25, 29 and 43 for 2019, and weeks 29 and 35 for 2020. More precisely, both results of Reichstett and the Bas-Rhin administrative unit showed a bimodal pattern with the first increase occurring from June to August and the second, albeit lower than the previous one, occurring late in October.

The meteorological data analysis was done through PCA. The threshold was set at 75% of explained variance, leading to the retention of the first three components: PC1 (51.4%), PC2 (15.2%) and PC3 (13.7%). In the model retained, 80.3% of variance was thus explained. This analysis showed that egg proportion was highly correlated with the average weekly minimum temperature ($p = 0.004$) and the average weekly maximum temperature ($p = 0.41$) (Data not shown – see Additional File 1, Fig. 1). From weeks 21 to 45, during which almost all eggs were collected, temperatures were on average higher than 7.5 °C, corresponding to the mean of the minimal values of the average minimal temperature (4 °C) and the average maximal temperatures (11 °C), both observed during week 45. During the summer period, an average minimal temperature of 14.2 °C and an average maximal temperature of 27.5 °C were

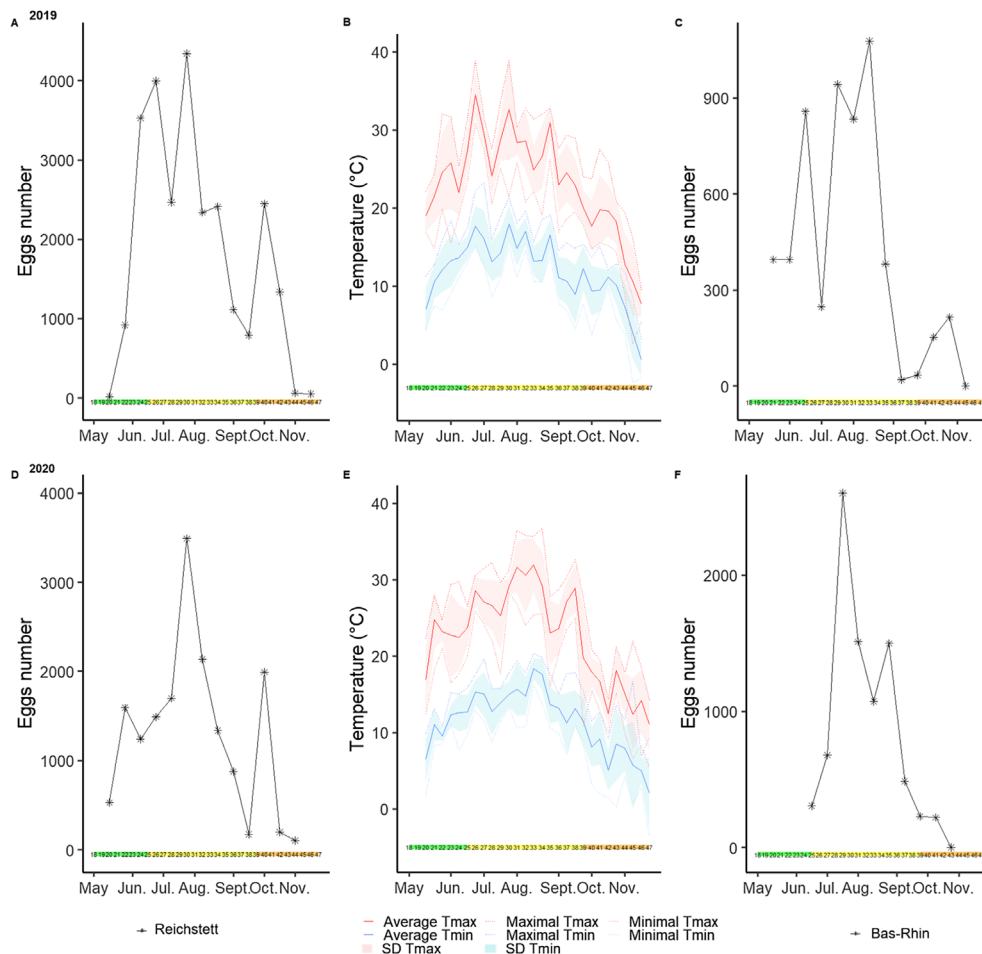


Figure 3. *Aedes japonicus* egg seasonality regarding environmental temperatures from May to November 2019 and 2020. Corresponding months and seasons are shown with coloured horizontal bars (green = spring, yellow = summer, orange = autumn). (A) 2019, egg seasonality in the Reichstett study site; (B) 2019, weekly temperatures are shown. The average maximal temperature per week is shown with a solid red line with the standard deviation shown in filled light red. Dotted red lines correspond to the maximal and minimal highest temperatures observed each week. Average minimal temperature is shown with a solid blue line with standard deviation in filled blue. Minimal and maximal colder temperatures are shown with dotted blue lines. (C) 2019, egg proportion from the Bas-Rhin Department is also shown with a solid black line with stars. (D) 2020, egg seasonality in the Reichstett study site; (E) 2020, weekly temperatures; (F) 2020 egg seasonality in the Bas-Rhin administrative unit.

observed, which led to the highest amount of eggs collected. During this period, temperature was 20.8 °C on average. Diapause incidence and week of egg collection were highly correlated ($\rho = 0.6$; $p < 0.001$). Therefore, diapause incidence and average weekly photoperiod were also correlated ($\rho = -0.65$; $p < 0.001$). Another correlation was determined between the average weekly minimum temperature and the diapause incidence ($\rho = -0.37$; $p = 0.026$). Regarding morphology and temperature, we observed that both the volume ($\rho = -0.65$; $p < 0.001$) and width ($\rho = -0.68$; $p < 0.001$) of the eggs were correlated to the average weekly maximum temperature. Rainfall parameters (i.e. the average weekly rainfall and the weekly cumulative rainfall) were not correlated with the number of eggs collected, diapause incidence, nor morphological parameters such as volume or width.

Altogether, the partially embryonated and the unfertilised unhatched eggs observed showed a constant mortality rate through the year, with an average of $17.16 \pm 19.10\%$ in 2019

and $16.69 \pm 29.21\%$ in 2020 on all the eggs tested (Data not shown – see [Additional File 1, Fig. 2](#)). An increase in diapause incidence was observed at the beginning of the season in 2019, from the beginning of the egg-laying period to the end of spring (weeks 20–26) with a peak of 13% at week 26 ([Fig. 4](#)). Shortly after, a decrease to 10% in diapause incidence on average occurred at week 28. This low rate in diapause incidence was similarly observed in summer from June to August. In early August (week 32), diapause incidence started to increase. A 100% rate of eggs under diapause was eventually reached mid-October, i.e. in week 41. Therefore, the 50% cut-off in diapause incidence was reached at week 36, corresponding to a day length of 13 h 07 min at the beginning of September 2019. Similar results were observed for the Bas-Rhin area, meaning that diapause incidence started to increase in mid-July (week 29) and the 50% cut-off of diapause in eggs was reached at week 35 in 2019 (day-length of 13 h 07 min) (Data not shown – see [Additional File 2, Fig. 1](#)). In 2020, a similar pattern

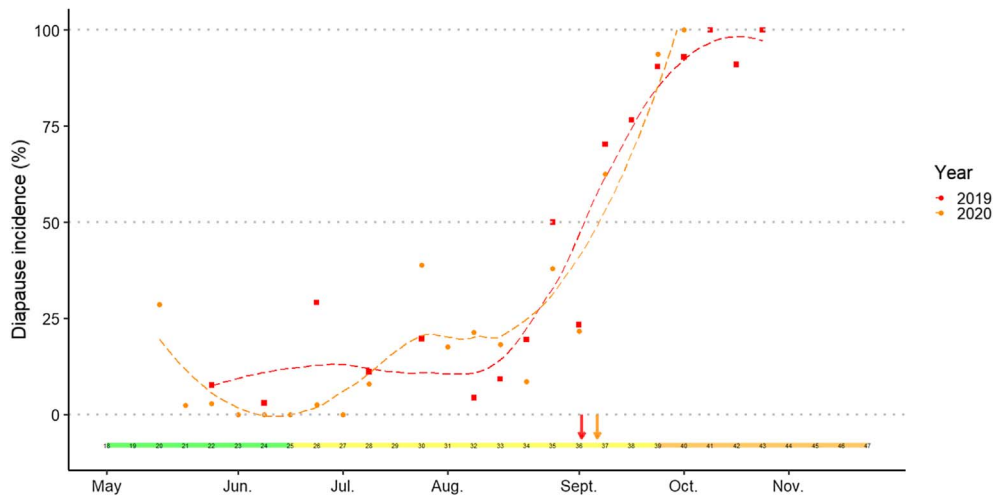


Figure 4. Diapause incidence in *Ae. japonicus* eggs. Mean diapause incidence per week observed from eggs collected in the Reichstett field area. Data for 2019 are shown in empty red triangles while data for 2020 are shown in full orange triangles. Diapause incidence is achieved after hatching tests and bleaching treatment. The curve with dashed lines is the tendency of diapause incidence. A 50% diapause incidence observed in eggs, in dotted grey line, is achieved at week 36 for 2019 (red arrow) and week 37 for 2020 (orange arrow). Corresponding months and seasons are also shown in the coloured horizontal bar (green = spring, yellow = summer, orange = autumn).

was observed with an average minimal value of 10% of diapausing eggs at the end of spring, even though some batches of eggs sampled showed 0% diapause incidence. Diapause incidence started to increase during the month of July (week 30) and reached up to 25% in August. Thereafter, diapause incidence increased to 100% at the end of the season, i.e. October. A 50% cut-off in diapause incidence was achieved at a day length of 12 h 49 min at week 37 at the beginning of September 2020.

Morphological measurements are not consistent throughout the egg-laying period

Morphological measurements of *Ae. japonicus* eggs showed the following data: median length of 616 μm (IQR: 598–633), median width of 177 μm (IQR: 172–182) and median volume of $10.1 \times 10^{-3} \text{ mm}^3$ (IQR: 9.5–10.8) for 2019 and median length of 624 μm (IQR: 608–642), median width of 179 μm (IQR: 175–183) and median volume of $10.5 \times 10^{-3} \text{ mm}^3$ (IQR: 9.9–11.1) for the year 2020 (Table 2). However, morphological measurements of eggs were not consistent throughout the year. The width and volume of the eggs evolved during the season according to two periods: the first from weeks 20 to 24 and the second later in the season from weeks 26 to 43 (Fig. 5). The morphological evolution through the season was better supported by using the two subsets separately (the two width and volume patterns of the eggs) rather than by mixing all the data (see Additional File 1, Fig. 3). As shown in Figure 5 for 2019, the median values of the eggs were 604 μm in length (IQR: 588–617), 170 μm in width (IQR: 166–175) for a median volume of $9.3 \times 10^{-3} \text{ mm}^3$ (IQR: 8.7–9.7) at the beginning of summer (week 26). At the end of the egg-laying period (week 43), median length increased to 621 μm (IQR: 612–640), median width to 181 μm (IQR: 176–183) for a median volume of $10.7 \times 10^{-3} \text{ mm}^3$ (IQR: 9.9–11.1). As a result, the volume of the eggs increased by

14.6% between week 26 and week 43 in 2019. Similarly, volume increased by 15.05% between weeks 26 and 41 in 2020.

Due to measurement and calculation methods, the length and width of eggs were weakly correlated ($\rho = 0.10$; $p = 7.21 \times 10^{-4}$). Volume was highly correlated to length and width of eggs, with $\rho = 0.56$; $p < 2.2 \times 10^{-16}$ and $\rho = 0.88$; $p < 2.2 \times 10^{-16}$, respectively. Despite a high variability in length parameters of eggs (range: 488.71–727.20 μm – see Table 2), no significant correlation between length of eggs and week of collection was observed ($p = 0.66$). On the contrary, both the width and volume of the eggs increased according to the week of collection (width: $\rho = 0.51$; $p = 0.03$ and linear regression of width (μm) = $0.7474 \times \text{week} + 151.24$; $R^2 = 0.71$; $p = 5.58 \times 10^{-5}$ and volume: $\rho = 0.47$; $p = 4.39 \times 10^{-2}$ and linear regression of volume (10^{-3} mm^3) = $0.095 \times \text{week} + 6.80$; $R^2 = 0.63$; $p = 2.40 \times 10^{-4}$).

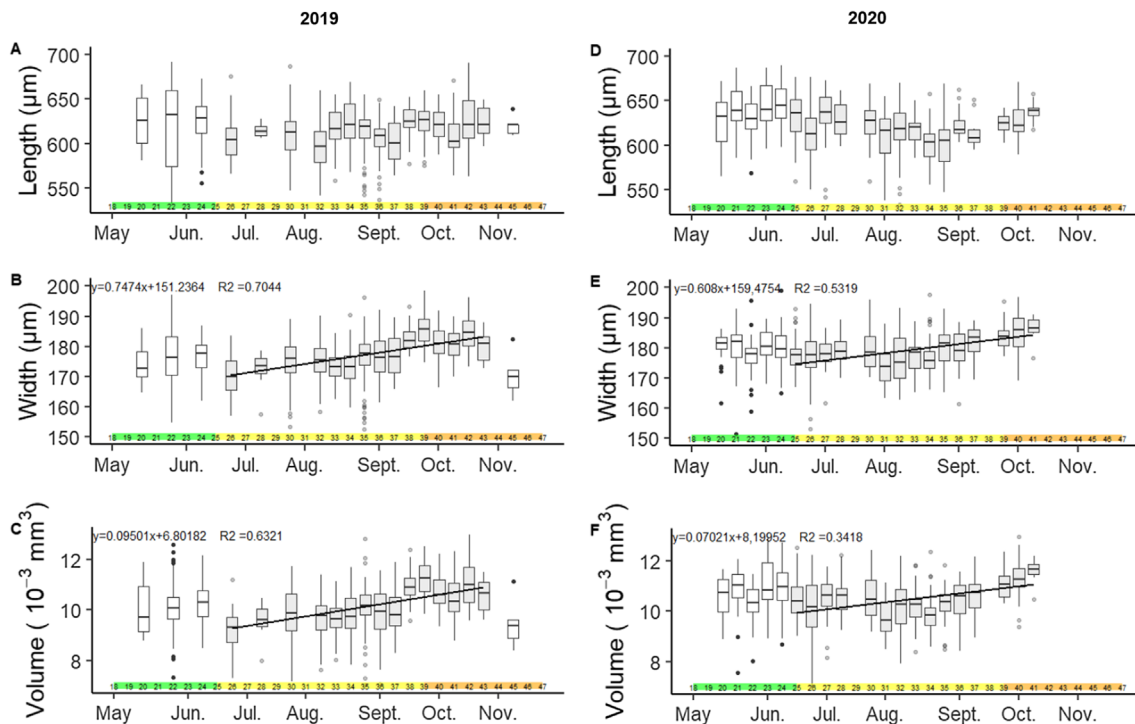
Outside of the study area, at a larger scale in the Bas-Rhin region, the eggs collected in the late season were also wider and larger in volume than the eggs sampled earlier (Data not shown – see Additional File 2, Fig. 2).

Width measurement as a predictor to evaluate diapause incidence in *Ae. japonicus* eggs

The 50% diapause incidence cut-off was observed on week 36 in 2019 and week 37 in 2020. Thus, group M gathers eggs sampled between weeks 35–37 for 2019 and 36–38 for 2020. The diapause incidence of group ND, which was composed of eggs collected between weeks 26–34 for 2019 and weeks 26–36 for 2020, was below 30%. Width of eggs ranged from 145 to 198 μm and was $176 \pm 7 \mu\text{m}$ on average. Eggs sampled from weeks 38 to 43 gathered in group D had a diapause incidence higher than 75% in 2019. In 2020, group D included eggs collected from weeks 40 to 43. Mean width of eggs in

Table 2. Details of morphological metrics measured on *Ae. japonicus* eggs. Data originate from the Reichstett field area. Length and width of eggs are measured three times per egg.

	Length (μm)	Width (μm)	Volume ($\times 10^{-3} \text{ mm}^3$)
2019 ($n = 1241$)			
Minimum	489	151	6.6
Maximum	727	203	13.8
Mean	615	177	10.1
Standard-deviation	29	8	1.1
First quartile	598	172	9.5
Median	616	177	10.1
Third quartile	633	182	10.8
2020 ($n = 777$)			
Minimum	533	145	6.5
Maximum	710	206	14.1
Mean	625	179	10.5
Standard-deviation	27	7	1.0
First quartile	608	175	9.9
Median	624	179	10.5
Third quartile	642	183	11.1

**Figure 5.** Evolution of morphological parameters of *Ae. japonicus* eggs throughout the year. Figure 5A: length; Figure 5B: width; Figure 5C: volume, data of 2019. Figure 5D: length; Figure 5E: width; Figure 5F: volume, data of 2020. Data come from the Reichstett field area. Eggs are batched according to the calendar week of collection. Corresponding months and seasons in coloured horizontal bars are also shown (green = spring, yellow = summer, orange = autumn). Boxplots of corresponding weeks considered for the linear regression are shown in grey. In Figures 5B and 5C for 2019, linear regressions in solid black lines ignore data point of weeks 20, 22, 24 and 45 as well, which are shown in a white boxplot. For 2020, data for weeks 20–25 are discarded.

group D was $183 \pm 6 \mu\text{m}$ within the range of 162–198 μm . As a result, eggs in group D were 4.26% wider (Wilcoxon test, $W = 237,016$, $p < 2.2 \times 10^{-16}$) than those of group ND. The volume of the eggs was 10.17% higher in group D than in group ND (Wilcoxon test, $W = 233,679$, $p < 2.2 \times 10^{-16}$) (see [Additional File 1, Table 2](#)). Nevertheless, an overlap between 162 and 198 μm was observed in egg width ([Fig. 6](#))

and included eggs from groups ND, D and M each corresponding to a range from 7 to 100% in diapause incidence.

The proposed model was mainly explained by week of collection ($p = 1.27 \times 10^{-10}$), width of eggs ($p = 6.61 \times 10^{-12}$), year ($p = 9.77 \times 10^{-11}$), and the interaction between these factors ([Fig. 7](#)). Neither a null probability nor a rate of 100% in diapause incidence was expressed by the model. Categorisation

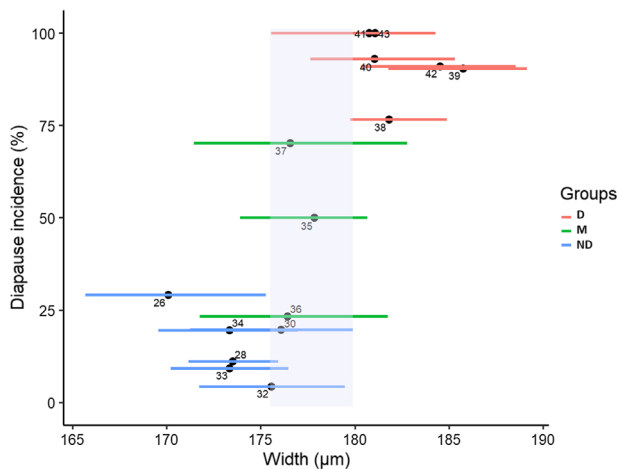


Figure 6. Association between the width of the eggs and diapause incidence. Data come from 2019 and the Reichstett field area. Eggs are batched according to the calendar week of collection. For each week, average diapause incidence is used. Width of eggs is shown as dots for median values and lines as interquartile ranges. Three groups are defined depending on their week of collection: group ND from weeks 26 to 34 (in blue), group M from 35 to 37 (in green) and group D from 38 to 43 (in red). An overlap in width between group ND and D is highlighted in pale lavender.

into two groups was therefore not possible. In addition, a range of 162–197 µm in the width of eggs and from 17 to 72% in diapause incidence was observed in field data. The model predicted a diapause incidence of 14–60% for the same width range.

Discussion

Dormancy is a key parameter for the overwintering of Culicid species in temperate regions. However, even though highly suspected, the diapause incidence of *Ae. japonicus* in Europe was unknown. This study shows that successive stimuli like water immersion and temperatures did not lead to the hatching of eggs, while fully developed embryos were observed in these eggs after a bleaching treatment. This study thus confirms effective diapause for *Ae. japonicus*. In the case of quiescence, eggs would have hatched under such stimuli. Interestingly, a diapause incidence of around 10% was observed throughout the whole egg-laying season both years meaning that female *Ae. japonicus* always lay part of their eggs in a diapause state, regardless of the meteorological and photoperiodic conditions. This study thus found that diapause, a phenomenon used to survive harsh winter conditions in our region, in fact already started at the beginning of the oviposition season. Since cold temperatures can inhibit larvae development [35, 42], we can hypothesise that the diapause status of these eggs laid in the early season can be a way to survive hazardous weather conditions, given that some freezing events can still occur during the month of May in the northeast of France. Even though larvae can pursue their development during winter when temperatures are favourable, diapausing eggs appears to be a strategy to guarantee the survival of the species in fluctuating

weather conditions in temperate regions. This study suggests that this characteristic is important for the survival of this species since the diapause phenomenon occurs throughout the year.

We observed an increase in diapause during mid-summer, three months before the end of the *Ae. japonicus* oviposition season. While a 50% diapause incidence in eggs was detected in September both years, mid-October was determined as the period in which all eggs were under diapause. A one-week variation between the 50% cut-off in 2019 and 2020 was nevertheless observed in the studied field population. A similar study on *Ae. albopictus* showed no difference in diapause incidence nor in the volume of eggs between two consecutive years in the field [26]. This variation reinforces the idea that the synergy between photoperiod and temperatures together trigger and control the diapause phenomenon in this species. Regarding the influence of photoperiod on diapause, we observed a 50% diapause incidence of eggs at week 36 in 2019 and at week 37 in 2020, corresponding to a day length of 13 h 07 min and 12 h 49 min, respectively. Similarly, in the south of France in 2010 and 2011, week 36 with a day length of 12 h 41 min was mentioned as the critical period that induces a 50% diapause in eggs of *Ae. albopictus* [26]. Female adults of *Ae. japonicus*, and pupa to a lesser extent, are receptive to photoperiod to induce diapause in eggs [7]. The maternal day-length when 50% of the eggs laid are under diapause, is called the critical photoperiod (CPP). In *Ae. albopictus*, another invasive species also found in the northeast of France, the CPP determined in laboratory conditions was 13 h 30 min [26]. Our results in the field suggest that the CPP may vary between 13 h 31 min and 13 h 14 min for 2019 and 2020, respectively, but could increase to 13 h 57 min or 13 h 38 min if a two-week delay is taken into account as suggested by Lacour et al. [26]. As these authors suggest, the delay between the CPP observed in females and the 50% cut-off in eggs in the field may be due to environmental factors and physiological delay [26]. Eggs from the previous egg-laying season (i.e. 2018 and then 2019) seem to hatch at the end of February or the beginning of March. Consequently, we estimate the duration of diapause to be three months at least. Moreover, we found a correlation between diapause incidence and both width and volume in eggs. We also found that diapause incidence varied throughout the year and was even found at low levels at the beginning of the season, suggesting that photoperiod is not the only factor to induce diapause. Temperatures might also play a role and induce diapause [37]. On the whole, the results in this study suggest that within the same field population, both diapause incidence and the volume of the eggs increase while temperatures decrease.

With regard to seasonality of *Ae. japonicus* in our studied area, we showed that the period of the egg laying activity ran from the end of May to the end of October, and the beginning of November in the second year. This general pattern of adult activity observed in East Asian Bush mosquitoes in the colonised area is quite consistent with other studies in native areas [18, 48] as well as in colonised areas [15]. In Belgium [54], authors observed young larvae prior to the egg laying period, suggesting that *Ae. japonicus* eggs are thus likely to hatch at cooler temperatures and earlier than other invasive species like

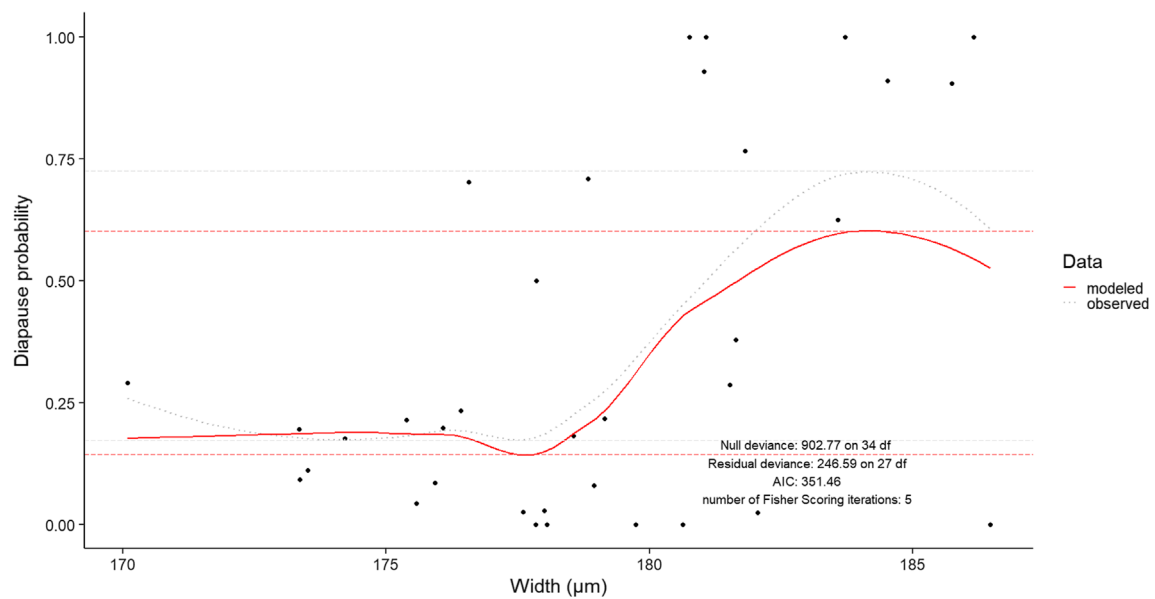


Figure 7. Field data and predicted model of diapause probability. Data come from the Reichstett field area. Mean per week is shown in black dots. Grey dotted line is the associated curve trend. A logistic model of regression, considering week of collection, year and width of eggs is shown with a solid red line. Diapause incidence is in both cases higher when width measurements increase. Minimum and maximum values of observed diapause probability and predicted diapause probability are highlighted in horizontal long dashed lines, in grey and red, respectively. Model estimators are directly written on the plot.

Ae. albopictus. As for the meteorological parameters linked to *Ae. japonicus* activity in this study, seasonal temperatures turned out to be the main parameter influencing egg abundance. A previous study showed that cooler temperatures increased *Ae. japonicus* presence in larval habitats [4]. Our results suggest that eggs are laid when temperatures are above 7.5 °C. A similar temperature threshold was evidenced by thermal experiments in laboratory conditions in which 7 °C was determined as the critical minimal temperature allowing larvae development [35]. In Japan, a field study including an altitudinal gradient found that fourth instar larvae were absent in temperatures below 10 °C [8]. This study proposed a model which predicted that a minimal temperature of 12.41 °C was necessary to reach fourth instar stage development. We also observed more eggs in the summer months (July and August) and later in October in our area of study. This corroborates the findings of Murrell et al. [31], who found that *Ae. japonicus* in North America laid more eggs in July than in September. A possible explanation for the decrease in the number of eggs laid may be the inhibition of larval development when temperatures rise above 34 °C and up to 40 °C [42]. In the case of our study, such an observation was made in August and September 2019 when heat waves with temperatures frequently above 30 °C preceded a decrease in egg abundance.

On average, the eggs measured in this study were 29 µm longer and 5 µm wider than those of a previous study [16]. This difference may reflect the origin of the eggs. In our study, these were collected in the field, whereas the egg measurements in the previous study came from a colony. More precisely, this *Ae. japonicus* colony was derived from specimens collected in the field (NJ, USA) and reared in an insectarium for 8–9 years [16]. A study on another species, namely *Ae. aegypti*, showed size variations between eggs from the field and those from

different laboratory colonies [14], suggesting that the origin of samples can have an incidence on egg morphology. Our study, which only focuses on eggs of *Ae. japonicus*, showed that width was the main factor of the volume variability of the eggs. Similar relationships between width and volume variability were demonstrated for *Ae. albopictus* eggs [25]. Egg morphometric analyses frequently showed intraspecific variation between mosquitoes collected in different places [14, 28]. For *Ae. aegypti*, it has been shown that an increase in the sizes of either the female body or the blood meal produce larger eggs [46]. Furthermore, the volume of the eggs was correlated with survival capacity suggesting that larger eggs survive for longer periods of time [45]. Since eggs are bigger in autumn than in spring, which corresponds to the period in which they prepare for the overwintering period, local environmental conditions are likely to impact egg size as well as diapause status.

Since a relationship between morphometrics and the diapause status was evidenced for *Ae. albopictus* [25], we hypothesised that this diapause phenomenon in *Ae. japonicus* would also induce a phenotype in eggs that could be detected by morphological measurements. The increase in egg size was shown to be linked to a gain in the quantity of lipids for *Ae. albopictus* [25]. Therefore diapause, as a strategy to survive harsh conditions, could lead to a seasonal phenotype in adults. While we showed a positive correlation between diapause incidence and eggs size, the width and volume measurements cannot ascertain the diapause status of eggs. More precisely, our model neither revealed a rate of 0% nor 100% in diapause incidence but showed a minimum of approximately 10% of eggs under diapause even at the very beginning of the season. As a consequence, an overlap in morphological measurements exists between diapaused and non-diapaused eggs suggesting that, despite being positively correlated, factors other than

diapause affect the volume of eggs. For instance, factors like physiological status, size of females and the amount of blood meals can alter the volume of eggs [46].

On the whole, the seasonality in diapause incidence for the Asian bush mosquito was described here at the intra-population level. Studying the influence of temperature on the oviposition behaviour of *Ae. japonicus* would greatly help to increase knowledge of its seasonality and could eventually lead to the development of a predictive model of invasion. In addition to field studies, laboratory experiments on *Ae. japonicus* colonies would be helpful to understand parameters such as egg morphology under various temperatures and day-length effects. The use of climatic chambers to investigate diapause would help to define CPP more precisely in *Ae. japonicus*. Similar experiments can be used to investigate factors of preparation, duration and termination of diapause under laboratory conditions. Moreover, some mechanisms observed in *Ae. albopictus* such as lipid storage in diapause eggs or genetic determination of diapause [11] have yet to be investigated for *Ae. japonicus*.

In this study, we demonstrated effective diapause of the East Asian Bush mosquito in the northeast of France and described the morphology and the diapause status of eggs in a field population. More particularly, this study showed that diapause eggs were laid during the entire oviposition season, even at the end of spring, provided that a mean value of 10% of diapause incidence was observed. While the oviposition period of *Ae. japonicus* ran from May to November, a 50% diapause incidence was determined between late August and early September. More precisely, diapause was found to increase when the photoperiod decreased and the subsequent maternal CPP was determined at 13 h 23 min. Other factors such as cold temperatures may induce an increase of diapause incidence and further laboratory experiments would be required. Regarding morphology, in this study we observed an increase in egg volume through the season. While a positive correlation was shown between both volume and width of eggs and the diapause status, the measurement of egg morphology cannot be used to predict it. Diapause and seasonality are one of many strategies involved in the successful invasion of *Ae. japonicus*. This study provides insights on their characterisation and improves our current knowledge of the invasive traits of the East Asian bush mosquito. Our findings could help in future predictive modelling for invasive species such as these.

Abbreviations

AIC	Akaike information criterion
CPP	Critical photoperiod
<i>df</i>	Degree of freedom
IQR	Interquartile range
<i>p</i>	<i>p</i> -value

Supplementary materials

Supplementary material is available at <https://www.parasite-journal.org/10.1051/parasite/2021045/olm>

Additional File 1 – Table 1. Sample size for morphological measurement, hatching success rate, mortality rate and diapause incidence. Data originate from the Reichstett field area.

Additional File 1 – Figure 1. Environmental parameters PCA. The first three components were retained: PC1 (51.4%), PC2 (15.2%) and PC3 (13.7%) and thus, 80.3% of variance was explained. Variables are projected in a plan formed by PC1 and PC2. All variables are projected in light grey, some are highlighted for better visualisation. From left to right and up to down: A, week number and year are in black and diapause incidence is in purple; B, morphological parameters, i.e. median width and median volume are in green; C, maximal temperature parameters are in red; D, minimal temperature parameters are in blue; E, light parameters, photoperiod is showed in orange and sunshine parameters are in yellow; F, rainfall parameters are in dark blue.

Additional File 1 – Figure 2. Mortality rate of *Aedes japonicus* eggs. Data originate from the Reichstett field area. Percentage of unsustainable eggs for each week are showed as black dots. Mean with standard-deviation is shown by a solid black line surrounded by grey. The mortality rate was on average 17.16% in 2019 and 16.69% in 2020. The corresponding months and seasons are also shown on the coloured horizontal bar (green = spring, yellow = summer, orange = autumn).

Additional File 1 – Figure 3. Example of two linear regressions between the width of eggs and the week of collection. Only the data for the 2019 season from the Reichstett field area are shown. Data for week 45 are discarded due to an insufficient sample size ($n = 5$). In panel A, all data (shown in red) are gathered in one dataset for linear regression. Adjusted R^2 is 17.69%. In panel B, data are subdivided in two datasets, from weeks 20 to 24 (in blue) and weeks 26 to 43 (in grey). Linear regressions are better fitted with these two data subsets (adjusted R^2 84.63% and 70.44%). The corresponding months and seasons are also shown on the coloured horizontal bar (green = spring, yellow = summer, orange = autumn).

Additional File 1 – Table 2. Morphological parameters on two groups of eggs. Data originate from the Reichstett field area. Group ND is chosen as the baseline for comparisons with group D. An increase of each morphological parameter is observed. Wilcoxon Sum rank tests were performed. Two stars represent a significant increase between groups ND and D.

Additional File 2 – Figure 1. Diapause incidence in *Ae. japonicus* eggs. Red dots represent the mean diapause incidence per week observed in eggs collected in the Bas-Rhin region in 2019. Diapause incidence was achieved after performing hatching tests and a bleaching treatment. The curve with the dashed red lines is the tendency of diapause incidence. The 50% diapause incidence observed in eggs at week 35 in 2019 is shown as a dotted grey line. Data for 2020 are not shown due to insufficient data. Corresponding months and seasons are also shown in the coloured horizontal bar (green = spring, yellow = summer, orange = autumn).

Additional File 2 – Figure 2. Changes in morphological parameters of *Ae. japonicus* eggs throughout the year. Figure 2A Length; Figure 2B Width; Figure 2C Volume, data of 2019. Figure 2D Length; Figure 2E Width; Figure 2F Volume, data for 2020. Data originate from the Bas-Rhin region. Eggs are batched according to the calendar week of collection. Corresponding months and seasons are also shown in the coloured horizontal bars (green = spring, yellow = summer, orange = autumn). Data for week 37 in 2019 are discarded.

Additional File 2 – Table 1. Details of morphological metrics measured on *Ae. japonicus* eggs. Data originate from the Bas-Rhin region. Length and width are measured 3 times per egg.

Additional File 2 – Table 2. Sample size for morphological measurements, hatching success rate, mortality rate and diapause incidence. Data come from the Bas-Rhin region.

Acknowledgements. The authors are greatly indebted to the *Syndicat de Lutte contre les Moustiques du Bas-Rhin (SLM67)*, which kindly made available the data from the surveillance network. We particularly wish to thank Christelle Bender, Jean-Martin Heck and Olivia Renoux. The authors would like to thank the three anonymous reviewers for their useful comments, which greatly improved this manuscript. EK and the research leading to these results were funded by the EU-Programme INTERREG Upper Rhine under the project number 11.7 TIGER. Part of the ovitraps in the Bas-Rhin Department were funded by the *Conseil Départemental du Bas-Rhin* and operated by the SLM67.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

References

1. Andreadis TG, Anderson JF, Munstermann LE, Wolfe RJ, Florin DA. 2001. Discovery, distribution, and abundance of the newly introduced mosquito *Ochlerotatus japonicus* (Diptera: Culicidae) in Connecticut, USA. *Journal of Medical Entomology*, 38, 774–779.
2. Armbruster P, Bradshaw WE, Ruegg K, Holzapfel CM. 2001. Geographic variation and the evolution of reproductive allocation in the pitcher-plant mosquito, *Wyeomyia smithii*. *Evolution*, 55, 439–444.
3. Armistead JS, Nishimura N, Arias JR, Lounibos LP. 2012. Community ecology of container mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Virginia following invasion by *Aedes japonicus*. *Journal of Medical Entomology*, 49, 1318–1327.
4. Bartlett-Healy K, Unlu I, Obenauer P, Hughes T, Healy S, Crepeau T, Farajollahi A, Kesavaraju B, Fonseca D, Schoeler G, Gaugler R, Strickman D. 2012. Larval mosquito habitat utilization and community dynamics of *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 49, 813–824.
5. Becker N, Huber K, Pluskota B, Kaiser A. 2011. *Ochlerotatus japonicus japonicus* – a neozoon in Germany and a revised list of the German mosquito fauna. *European Mosquito Bulletin*, 29, 88–102.
6. Bevins SN. 2007. Establishment and abundance of a recently introduced mosquito species *Ochlerotatus japonicus* (Diptera: Culicidae) in the Southern Appalachians, USA. *Journal of Medical Entomology*, 44, 945–952.
7. Bova J, Soghigian J, Paulson S. 2019. The prediapause stage of *Aedes japonicus japonicus* and the evolution of embryonic diapause in *Aedini*. *Insects*, 10, 222.
8. Chaves L, Moji K. 2017. Density dependence, landscape, and weather impacts on aquatic *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) abundance along an urban altitudinal gradient. *Journal of Medical Entomology*, 55, 329–341.
9. Day CA, Lewandowski K, Vonesh JR, Byrd BD. 2020. Phenology of rock pool mosquitoes in the southern Appalachian Mountains: surveys reveal apparent winter hatching of *Aedes japonicus* and the potential for asymmetrical stage-specific interactions. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 36, 216–226.
10. Delaunay P, Mathieu B, Marty P, Fauran P, Schaffner F. 2007. Historique de l'installation d'*Aedes albopictus* dans les Alpes-Maritimes (France) de 2002 à 2005. *Médecine Tropicale*, 67, 310–311. PMID: 17784689.
11. Diniz DFA, de Albuquerque CMR, Oliva LO, de Melo-Santos MAV, Ayres CFJ. 2017. Diapause and quiescence: dormancy mechanisms that contribute to the geographical expansion of mosquitoes and their evolutionary success. *Parasites & Vectors*, 10, 310.
12. Ewing DA, Purse BV, Cobbold CA, Schäfer SM, White SM. 2019. Uncovering mechanisms behind mosquito seasonality by integrating mathematical models and daily empirical population data: *Culex pipiens* in the UK. *Parasites & Vectors*, 12, 74.
13. Farajollahi A, Price DC. 2013. A rapid identification guide for larvae of the most common North American container-inhabiting *Aedes* species of medical importance. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 29, 203–221.
14. Faull KJ, Williams CR. 2015. Intraspecific variation in desiccation survival time of *Aedes aegypti* (L.) mosquito eggs of Australian origin. *Journal of Vector Ecology*, 40, 292–300.
15. Früh L, Kampen H, Koban MB, Pernat N, Schaub GA, Werner D. 2020. Oviposition of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) and associated native species in relation to season, temperature and land use in western Germany. *Parasites & Vectors*, 13, 623.
16. Haddow A, Moulton J, Gerhardt RR, McCuiston LJ, Jones CJ. 2009. Description of the egg of *Ochlerotatus japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) using variable pressure scanning electron microscopy. *Journal of Medical Entomology*, 46, 9–14.
17. Ibañez-Justicia A, Kampen H, Braks M, Schaffner F, Steeghs M, Walther geb. Werner D, Scheuch D, Hartog W den, Brooks MD, Dik M, Van de Vossenberg B, Scholte E-J. 2014. First report of established population of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) in the Netherlands. *Journal of the European Mosquito Control Association*, 32, 9–13.
18. Iriarte WLZ, Tsuda Y, Wada Y, Takagi M. 1991. Distribution of mosquitoes on a hill of Nagasaki City, with emphasis to the distance from human dwellings. *Tropical Medicine*, 33, 55–60.
19. Janssen N, Graovac N, Vignjević G, Bogojević MS, Turić N, Klobučar A, Kavran M, Petrić D, Čupina AI, Fischer S, Werner D, Kampen H, Merdić E. 2020. Rapid spread and population genetics of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) in southeastern Europe (Croatia, Bosnia and Herzegovina, Serbia). *PLoS One*, 15(10), e0241235.
20. Kampen H, Zielke D, Werner D. 2012. A new focus of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) distribution in Western Germany: rapid spread or a further introduction event? *Parasites & Vectors*, 5, 284.
21. Kaufman MG, Fonseca DM. 2014. Invasion biology of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae). *Annual Review of Entomology*, 59, 31–49.
22. Kostál V. 2006. Eco-physiological phases of insect diapause. *Journal of Insect Physiology*, 52, 113–127.
23. Krebs T, Bindler P, L'Ambert G, Toty C, Perrin Y, Jourdain F. 2014. First establishment of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera: Culicidae) in France in 2013 and its impact on public health. *Journal of Vector Ecology*, 39, 437–440.
24. Krupa E, Schaffner F, Bender C, Mathieu B. 2020. Progression du moustique tigre en France : surveillance transfrontalière dans le Grand-Est. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020, 53–61.
25. Lacour G, Vernichon F, Cadilhac N, Boyer S, Lagneau C, Hance T. 2014. When mothers anticipate: effects of the prediapause stage on embryo development time and of maternal photoperiod on eggs of a temperate and a tropical strains of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Insect Physiology*, 71, 87–96.

26. Lacour G, Chanaud L, L'Ambert G, Hance T. 2015. Seasonal synchronization of diapause phases in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *PLoS One*, 10(12), e0145311.
27. Lorenz AR, Walker ED, Kaufman MG. 2013. Does autochthonous primary production influence oviposition by *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) in container habitats? *Journal of Medical Entomology*, 50, 69–78.
28. Lounibos LP, Escher RL, Lourenço-de-Oliveira R. 2003. Asymmetric evolution of photoperiodic diapause in temperate and tropical invasive populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 96, 512–518.
29. Martinet J-P, Ferté H, Failloux A-B, Schaffner F, Depaquit J. 2019. Mosquitoes of north-western Europe as potential vectors of arboviruses: a review. *Viruses*, 11, 1059.
30. Medlock JM, Hansford KM, Versteirt V, Cull B, Kampen H, Fontenille D, Hendrickx G, Zeller H, Bortel WV, Schaffner F. 2015. An entomological review of invasive mosquitoes in Europe. *Bulletin of Entomological Research*, 105, 637–663.
31. Murrell EG, Noden BH, Juliano SA. 2015. Contributions of temporal segregation, oviposition choice, and non-additive effects of competitors to invasion success of *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae) in North America. *Biological Invasions*, 17, 1669–1681.
32. Peyton EL, Campbell SR, Candeletti TM, Romanowski M, Crans WJ. 1999. *Aedes (Finlaya) japonicus japonicus* (Theobald), a new introduction into the United States. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 15, 238–241. PMID: 10412119.
33. QGIS Development Team. 2016. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org/>.
34. R Core Team. 2019. R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>.
35. Reuss F, Wieser A, Niamir A, Bálint M, Kuch U, Pfenninger M, Müller R. 2018. Thermal experiments with the Asian bush mosquito (*Aedes japonicus japonicus*) (Diptera: Culicidae) and implications for its distribution in Germany. *Parasites & Vectors*, 11, 81.
36. Robert V, Günay F, Le Goff G, Boussès P, Sulesco T, Khalin A, Medlock J, Kampen H, Petrić D, Schaffner F. 2019. Distribution chart for Euro-Mediterranean mosquitoes (western Palaearctic region). *Journal of the European Mosquito Control Association*, 37, 1–28.
37. Saunders DS. 2014. Insect photoperiodism: effects of temperature on the induction of insect diapause and diverse roles for the circadian system in the photoperiodic response. *Entomological Science*, 17, 25–40.
38. Schaffner F, Karch S. 2000. First record of *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) in metropolitan France. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 323(4), 373–375.
39. Schaffner F, Chouin S, Guilloteau J. 2003. First record of *Ochlerotatus (Finlaya) japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in metropolitan France. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 19, 1–5. PMID: 12674526.
40. Schaffner F, Kaufmann C, Hegglin D, Mathis A. 2009. The invasive mosquito *Aedes japonicus* in Central Europe. *Medical and Veterinary Entomology*, 23, 448–451.
41. Schönenberger A, Wagner S, Tuten H, Schaffner F, Torgerson P, Furrer S, Mathis A, Silaghi C. 2016. Host preferences in host-seeking and blood-fed mosquitoes in Switzerland. *Medical and Veterinary Entomology*, 30, 39–52.
42. Scott J. 2003. The ecology of the exotic mosquito *Ochlerotatus (Finlaya) japonicus japonicus* (Theobald 1901)(Diptera: Culicidae) and an examination of its role in the West Nile virus cycle in New Jersey. New Brunswick, NJ: Ph.D. thesis, Rutgers University.
43. Scott J, Carle F, Crans WJ. 2001. *Ochlerotatus japonicus* collected from natural rock pools in New Jersey. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 17, 91–92. PMID: 11480826.
44. Seidel B, Montarsi F, Huemer HP, Indra A, Capelli G, Allerberger F, Nowotny N. 2016. First record of the Asian bush mosquito, *Aedes japonicus japonicus*, in Italy: invasion from an established Austrian population. *Parasites & Vectors*, 9, 284.
45. Sota T, Mogi M. 1992. Interspecific variation in desiccation survival time of *Aedes (Stegomyia)* mosquito eggs is correlated with habitat and egg size. *Oecologia*, 90, 353–358.
46. Steinwascher K. 1984. Egg size variation in *Aedes aegypti*: relationship to body size and other variables. *American Midland Naturalist*, 112, 76–84.
47. Sunahara T, Ishizaka K, Mogi M. 2002. Habitat size: a factor determining the opportunity for encounters between mosquito larvae and aquatic predators. *Journal of Vector Ecology*, 27, 8–20. PMID: 12125876.
48. Tanaka K, Mizusawa K, Saugstad ES. 1979. A revision of the adult and larval mosquitoes of Japan (including the Ryukyu Archipelago and the Ogasawara Islands) and Korea (Diptera: Culicidae). *Contributions of the American Entomological Institute*, 16, 1–987.
49. Tauber MJ, Tauber CA, Masaki S. 1986. Seasonal adaptations of insects. New York: Oxford University Press. ISBN: 0195036352, 9780195036350.
50. The Global Invasive Species Database. 2015. Invasive Species Specialist Group ISSG. <http://www.issg.org/database/>.
51. Trpiš M. 1970. A new bleaching and decalcifying method for general use in zoology. *Canadian Journal of Zoology*, 48, 892–893.
52. Tsuda Y, Takagi M, Wada Y. 1994. Ecological study on mosquito communities in tree holes in Nagasaki, Japan, with special reference to *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Medical Entomology and Zoology*, 45, 103–111.
53. Urbanski J, Mogi M, O'Donnell D, DeCotiis M, Toma T, Armbruster P. 2012. Rapid adaptive evolution of photoperiodic response during invasion and range expansion across a climatic gradient. *The American Naturalist*, 179, 490–500.
54. Versteirt V, Schaffner F, Garros C, Dekoninck W, Coosemans M, Van Bortel W. 2009. Introduction and establishment of the exotic mosquito species *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) in Belgium. *Journal of Medical Entomology*, 46, 1464–1467.
55. Werner D, Kampen H. 2013. The further spread of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera, Culicidae) towards northern Germany. *Parasitology Research*, 112, 3665–3668.



An international open-access, peer-reviewed, online journal publishing high quality papers on all aspects of human and animal parasitology

Reviews, articles and short notes may be submitted. Fields include, but are not limited to: general, medical and veterinary parasitology; morphology, including ultrastructure; parasite systematics, including entomology, acarology, helminthology and protistology, and molecular analyses; molecular biology and biochemistry; immunology of parasitic diseases; host-parasite relationships; ecology and life history of parasites; epidemiology; therapeutics; new diagnostic tools.

All papers in Parasite are published in English. Manuscripts should have a broad interest and must not have been published or submitted elsewhere. No limit is imposed on the length of manuscripts.

Parasite (open-access) continues **Parasite** (print and online editions, 1994-2012) and **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée** (1923-1993) and is the official journal of the Société Française de Parasitologie.

Editor-in-Chief:
Jean-Lou Justine, Paris

Submit your manuscript at
<http://parasite.edmgr.com/>

Chapitre V. Modélisation de la dynamique de population d'*Ae. japonicus*.

Caractérisation des traits d'histoire de vie

Introduction

Nous l'avons vu précédemment, les traits d'histoire de vie (THV) sont variés et importants pour caractériser la biologie de l'espèce. Les moustiques étant poïkilotherme, les conditions physico-chimiques du milieu vont influencer ces THV. L'un des paramètres clefs est la température.

Un intérêt croissant se porte sur *Ae. japonicus* et en particulier sur la relation et l'impact des températures avec sa distribution. En ce qui concerne cette espèce, sa présence est corrélée négativement avec la température (Bartlett-Healy et al., 2012). Plusieurs études se sont récemment intéressées à déterminer précisément l'impact de la température sur le développement de ce moustique et sur la mortalité (Reuss et al., 2018).

Nous souhaitons déterminer si (i) les œufs de notre population locale possèdent le même profil d'éclosion et de développement que ceux décrits dans la littérature et (ii) si une différence existe au sein des œufs au cours d'une même saison, c'est-à-dire si la durée de développement est dépendante du moment de ponte en plus de la température.

Matériel et méthodes

Des œufs d'*Ae. j. japonicus* ont été récoltés pendant deux années consécutives (2019 et 2020) dans le Bas-Rhin à l'aide de pièges pondoirs, et en particulier dans la zone d'étude de Reichstett (48.64 N, 7.75 E). L'espèce a été déterminée au stade œuf sous microscope Zeiss Standard 25 (Zeiss, Oberkochen, Allemagne) suivant la description de Haddow et al. (2009). Les larves et adultes obtenus après éclosion des œufs permettent de confirmer l'identification en utilisant les descriptions de Farajollahi and Price (2013) et de Tanaka et al. (1979). Comme

présenté dans le chapitre 3 de cette thèse et dans l'article associé (Krupa et al., 2021), une portion des œufs par piège pondoir est sélectionnée et disposée sur un morceau de ruban adhésif double face appliqué une lame en verre. Les œufs sont mis à éclore dans des pots de 120mL contenant 100mL d'eau à température ambiante pendant 24 heures. Par la suite, les œufs sont séchés pendant 24 heures puis remis à éclore. Un suivi journalier de la température, du nombre de larves, de leur stade respectif et de la présence d'individus morts est réalisé jusqu'à émergence ou mort de l'ensemble des individus. Les éclosions sont testées à des températures comprises entre 24 et 29°C. De l'eau à température ambiante est rajoutée tous les jours dans les pots afin de garantir un niveau d'eau constant et permet également de brasser et d'oxygéner le milieu. Les larves sont nourries tous les deux jours avec une quantité de nourriture pour chat adaptée au nombre et aux stades présents.

Les taux de mortalités sont respectivement calculés :

$$\text{Taux de mortalité larvaire} = \frac{\text{Nombre de larves mortes}}{\text{Nombre d'individus testés}}$$

$$\text{Taux de mortalité nymphale} = \frac{\text{Nombre de nymphes mortes}}{\text{Nombre d'individus testés}}$$

$$\text{Taux de mortalité stades immatures} = \frac{\text{Nombre de larves mortes} + \text{nombre de nymphes mortes}}{\text{Nombre d'individus testés}}$$

Le nombre d'individus testés correspond à la somme du nombre d'individus morts du stade ciblé et du nombre d'individus ayant atteint le stade adulte.

Des tests de Kruskal-Wallis suivis de tests de Wilcoxon (ajustés par la méthode de Bonferroni) sont réalisés afin de mesurer l'influence de la semaine de récolte des œufs et la température appliquée sur le temps de développement des œufs.

Résultats

1. Stades immatures

Les données proviennent des œufs issus de la collecte en zone d'étude à Reichstett ainsi que des pièges pondoirs du réseau de surveillance du Bas-Rhin. En 2019, 567 œufs, collectés une fois par semaine entre le 16/05 et le 15/10 soit 19 semaines consécutives, ont été soumis aux éclosions à une gamme de température qui varie entre 23,6°C et 28,3°C. En 2020, les œufs ont été collectés sur 18 semaines, entre 13/05 et 1/10, et 300 ont été soumis à des températures similaires comprises entre 23,9°C et 28,5°C.

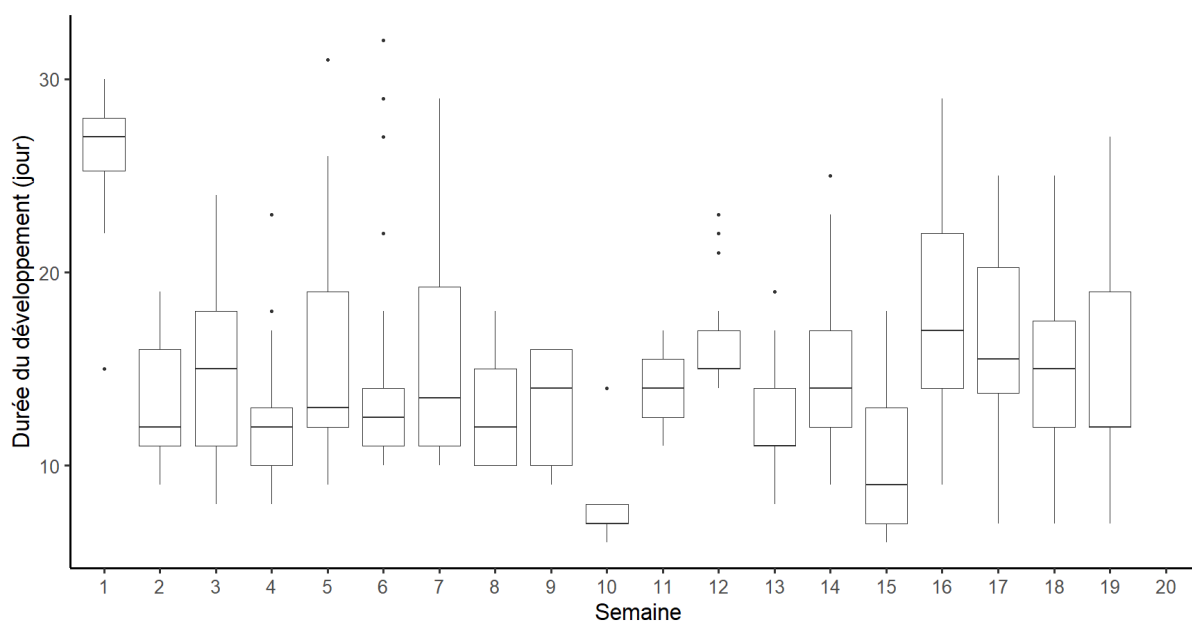


Figure 17. Durée de développement larvaire en fonction de la semaine calendaire de récolte des œufs. Cette durée est calculée entre l'éclosion de l'œuf et la nymphose de l'individu. Les données de 2019 et 2020 sont présentées ensemble.

La durée de développement la plus courte observée est de 4 jours à 26°C et 28°C et la durée la plus longue de 29 jours à 23°C. La semaine de récolte est un paramètre significatif (Test de Kruskal X2 : 109.12, df : 26, p-value $3.73 \cdot 10^{-12}$) influant sur la durée de développement. En effet, les premiers œufs à être pondus (semaine 1) mettent significativement plus de temps à atteindre l'âge adulte que les suivants (Figure 17, tests statistiques présentés en annexe 11). Cette différence n'est pas due au nombre de jours d'immersion nécessaire à l'éclosion des œufs (Tableau 6).

Tableau 6. Nombre de jours d'immersion nécessaire à l'éclosion des larves L1 d'*Ae. j. japonicus*. N représente le nombre d'œufs testés par température.

Température (°C)	23	24	25	26	27	28
N=	72	174	337	285	314	172
Moyenne (jours)	2,56	3,4	4,59	3,54	4,58	4,73
Ecart-type (jours)	1,83	2,42	3,45	2,37	2,67	1,36

Tableau 7. Durée de développement larvaire d'*Ae. j. japonicus* entre les stades L1 et L4 inclus. N représente le nombre de larves ayant achevés leur développement, c'est-à-dire qui ont atteint le stade nymphal.

Température (°C)	23	24	25	26	27	28
N=	60	118	253	150	157	131
Moyenne (jours)	10,58	11,43	10,83	9,27	9,96	10
Ecart-type (jours)	5,04	4,56	3,48	2,15	3,09	3,48

Le développement larvaire moyen entre 23°C et 28°C dure entre 9 et 11 jours (**Tableau 7**). Le **tableau 8** compile le nombre de jours total nécessaire jusqu'à la nymphose d'*Ae. j. japonicus*. Les mâles ont tendance à émerger plus tôt que les femelles, puisque les mâles, quelle que soit la température, mettent en moyenne 2 jours à émerger tandis que les femelles mettent 2,5 jours.

Tableau 8. Durée de développement aquatique d'*Ae. j. japonicus* jusqu'au stade nymphal. Il correspond à la somme des durées nécessaires à l'éclosion et de durées de vie des stades larvaires.

Température	23	24	25	26	27	28
Durée total moyenne des stades immatures	13,14	14,83	15,42	12,81	14,54	14,73

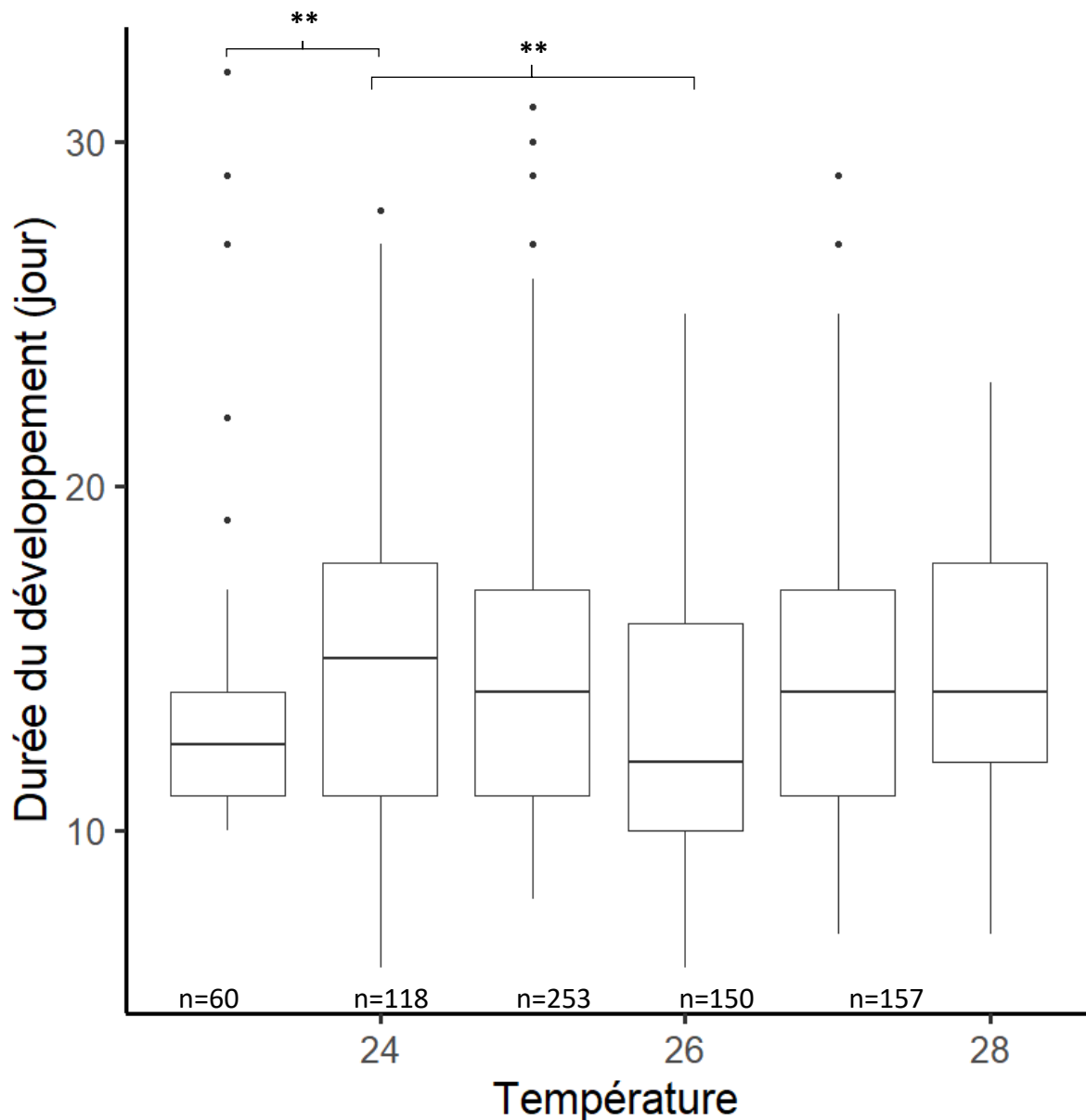


Figure 18. Durée de développement entre l'éclosion et la nymphose en fonction de la température du milieu. Les données 2019 et 2020 sont présentées ensemble. Le nombre d'individus est indiqué en bas de la figure. ** signifie une différence significative au seuil $\alpha = 0,01$, ici entre 23°C et 24°C et entre 24°C et 26°C.

Parmi la gamme de température testée, il ressort que le développement des stades immatures est le plus bas à 26°C, avec 12,8 jours nécessaires jusqu'à la nymphose (Tableau 9 et Figure 18). Le développement à 24°C est significativement plus long qu'à 23°C et 26°C (Kruskal X2 126.58 df 26, pvalue $3.062 \cdot 10^{-15}$, annexe 11).

Les taux de mortalités larvaires sont plus élevés que les taux de mortalités nymphales (**Tableau 9**). Selon la température, le taux de mortalité larvaire varie entre 16,7% et 46,8%. Pour les nymphes, le taux de mortalité est compris entre 0% et 10,8%.

Tableau 9. Taux de mortalité des stades immatures d'*Ae. j. japonicus*. Le taux de mortalité total correspond au cumul des larves et nymphes mortes.

Température (°C)	23	24	25	26	27	28
Nombre d'individus (vivants)	60	118	253	150	157	131
Nombre de larves mortes	12	47	69	128	138	36
Nombre de nymphes mortes	0	9	15	7	19	5
Taux de mortalité larvaire (%)	16,7	28,5	21,4	46	46,8	21,6
Taux de mortalité nymphal (%)	0	7,1	5,6	4,5	10,8	3,7
Taux de mortalité total (%)	16,7	32,2	24,9	47,4	50	23,8

2. Imagos

La sex-ratio, présentée sous forme ♂:♀, est légèrement en faveur des femelles, avec une valeur moyenne de 47:53 (n=351). La sex-ratio la plus basse a été mesurée à 41:59 (n=78), et la plus haute à 53:47(n=83).

Les femelles (n=186) ont tendance à vivre plus longtemps que les mâles (n=165), avec en moyenne 24 jours contre 19,25 jours respectivement.

Discussion

Les œufs éclosent et les larves se développent dans la gamme de températures testée (23 à 28°C). Les taux de mortalités des larves et nymphes cumulées sont inférieurs ou égaux à 50%. L'optimum de température est déterminé à 26°C. La sex-ratio à l'émergence est légèrement en faveur des femelles.

Dans sa zone d'origine, Chaves et Moji (2017) ont montré que les larves nécessitent au moins 12,41°C pour se développer jusqu'au stade adulte. Des études ultérieures en 2018 ont montré que le développement complet avec émergence d'adultes était réalisable entre 10 et 31°C, avec un optimum à 25°C (Reuss et al., 2018). Nos résultats, testés sur une gamme de température plus restreinte (entre 23°C et 28°C) et l'optimum de température permettant le développement le plus rapide a été déterminé à 26°C.

Sur notre gamme de températures testées, Reuss et al. (2018) ont obtenu des taux de mortalité différents des nôtres avec 48,5% à 23°C, 13,8% à 25°C, 6% à 26°C, 41,5% à 27°C et 28% à 28°C.

Contrairement à ces derniers auteurs, qui ont testé l'éclosion à 25°C avant d'utiliser les larves à diverses températures (Reuss et al., 2018), nous avons placés les œufs directement aux températures testées, ce qui peut expliquer la variabilité de nos résultats. De plus, les auteurs ont utilisé des œufs collectés de mai à août, afin d'éviter d'éventuels œufs diapausants. Ayant étudié la diapause, nous avons utilisé des œufs collectés entre mai et novembre, en n'analysant que les œufs ayant éclos, éliminant ainsi les œufs diapausants de notre étude.

En ce qui concerne la différence entre les deux sexes, les mâles mettent 8 jours entre l'éclosion et la nymphe entre 26 et 29°C, les femelles 1 jour de plus (Reuss et al., 2018). Aux températures testées dans notre étude, nous avons constaté également une différence de 0,5 jours entre l'émergence des mâles et des femelles. A la température la plus basse (10°C) la nymphose n'a lieu qu'au bout de 40 jours, soulignant l'impact réel de la température sur le développement de ce moustique. Sur cette même étude (Reuss et al., 2018), les données ont une grande distribution entre 23 et 29°C. Une relation linéaire entre 10 et 29°C est aussi montrée.

Reuss et al. (2018) n'ont trouvé une déviation à l'équilibre au niveau de la sex-ratio qu'à certaines températures (15,23 et 31°C) mais soulignent tout de même un nombre légèrement supérieur de femelles par rapport aux mâles, ce que nos résultats ont aussi montré.

Références

- Bartlett-Healy, K., Unlu, I., Obenauer, P., Hughes, T., Healy, S., Crepeau, T., Farajollahi, A., Kesavaraju, B., Fonseca, D., Schoeler, G., Gaugler, R., & Strickman, D. (2012). Larval mosquito habitat utilization and community dynamics of *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, *49*(4), 813-824.
- Chaves, L., & Moji, K. (2017). Density dependence, landscape, and weather impacts on aquatic *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) abundance along an urban altitudinal gradient. *Journal of Medical Entomology*, *55*. <https://doi.org/10.1093/jme/tjx200>
- Farajollahi, A., & Price, D. C. (2013). A rapid identification guide for larvae of the most common North American container-inhabiting *Aedes* species of medical importance. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *29*(3), 203-221. <https://doi.org/10.2987/11-6198R.1>
- Haddow, A., Moulton, J., R Gerhardt, R., J McCuiston, L., & J Jones, C. (2009). Description of the egg of *Ochlerotatus japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) using variable pressure scanning electron microscopy. *Journal of medical entomology*, *46*, 9-14. <https://doi.org/10.1603/033.046.0102>
- Krupa, E., Henon, N., & Mathieu, B. (2021). Diapause characterisation and seasonality of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera, Culicidae) in the northeast of France. *Parasite*, *28*, 45. <https://doi.org/10.1051/parasite/2021045>
- Reuss, F., Wieser, A., Niamir, A., Bálint, M., Kuch, U., Pfenninger, M., & Müller, R. (2018). Thermal experiments with the Asian bush mosquito (*Aedes japonicus japonicus*) (Diptera : Culicidae) and implications for its distribution in Germany. *Parasites & Vectors*, *11*(1), 81. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2659-1>
- Tanaka, K., Mizusawa, K., & Saugstad, E. S. (1979). A revision of the adult and larval mosquitoes of Japan (including the Ryukyu Archipelago and the Ogasawara Islands) and Korea (Diptera : Culicidae). *Contributions of the American Entomological Institute*, *16*, vii 1–987.

Introduction

Les modèles sont par définition prédictifs, permettant d'anticiper l'effet de mesures de contrôle ou les nouvelles distributions des populations sous l'effet de divers scénarios tels que le réchauffement climatique (Cunze et al., 2016, 2019; Marcantonio et al., 2016; Peach et al., 2019). Les modèles sont généralement basés sur le climat ou le paysage : le climat définit une gamme de température associée à un régime de précipitation tandis que le paysage va influencer sur la présence d'autres espèces (compétitrices, prédateurs) et la présence de divers gîtes larvaires (Kerkow et al., 2019). Les modèles réalisés sur *Ae. japonicus* en zones colonisées ont généralement pour but de comparer sa distribution (présente ou future) avec d'autres espèces locales telles que *Ae. togoi* (Peach et al., 2019) ou également invasives telles que *Ae. albopictus* (Cunze et al., 2016) en se basant sur la présence de l'espèce et le climat. En effet, la température reste le principal facteur influençant la distribution actuelle et future des moustiques (Marcantonio et al., 2016). D'autres approches comme l'utilisation des niches écologiques (Cunze et al., 2019) permettent d'extrapoler la distribution future d'*Ae. japonicus* dans un contexte de changement climatique ou encore d'utilisation des sols (Kerkow et al., 2019). Enfin, les modèles permettent aussi de tester des scénarios de contrôles avant leur utilisation, comme en Allemagne sur *Ae. japonicus* (Wieser et al., 2019)

Sur la base de l'adaptation d'un modèle existant, notre but est de modéliser et prédire la dynamique de population du moustique invasif *Ae. japonicus* dans le Bas-Rhin.

Matériel et méthodes

Wieser et al. (2019) propose un modèle à compartiments (œufs – larves – nymphes – adultes). Dans cette dernière étude, la diapause est intégrée sous la forme d'un seuil de température en dessous duquel, le temps de développement des œufs est fortement rallongé. Notre adaptation consiste à découper ce compartiment œuf en deux : diapausant et non diapausant, comme le présente la **Figure 19**.

Le modèle utilisé par Wieser et al. (2019) s'appuie sur le package R « Stagepop » (Kettle & Nutter, 2015) pour modéliser la dynamique de population. Ce modèle a donc recours à des

équations différentielles à retard sur du temps continue. Les taux de transitions entre les différents compartiments sont donnés par :

$$\frac{dNi(t)}{dt} = Ri(t) - Mi(t) - \delta i(t)Ni(t)$$

avec Ni le nombre d'individus du compartiment i selon le temps t , $Ri(t)$ le recrutement au compartiment i , $Mi(t)$ le taux de maturation depuis le compartiment i , détaillé par la suite, et $\delta i(t)$ la perte au compartiment i , correspondant entre autre à la mortalité mais aussi tout autre facteurs empêchant la transition au compartiment supérieur.

$$Mi(t) = Ri(t - \tau i(t))Pi(t) \left(1 - \frac{d\tau i(t)}{dt}\right)$$

avec $Ri(t)$ le recrutement au compartiment i , $Pi(t)$ la fraction d'individus entrant dans le compartiment i à $t - \tau i(t)$ qui ont survécu au temps t . Comme Wieser et al. (2019), l'immigration et l'émigration sont négligées.

Nous proposons une modélisation de la dynamique de population sur 5 années, représentées par une répétition d'année type. Cette année type propose pour chaque jour une moyenne des températures journalières de Strasbourg observées sur la période 2018 – 2021.

Concernant les valeurs des paramètres des autres compartiments (larves, nymphes et adultes), nous utilisons les données de THV déterminées dans ce chapitre à la partie précédente sur la plage de températures entre 23°C et 28°C. En dehors de ces températures, ainsi que les paramètres de durée de vie des adultes, du taux de reproduction et des taux de mortalités à chaque stade, nous conservons les données issues de Wieser et al. (2019).

Pour l'ensemble des compartiments, les données de températures journalières utilisées pour ce modèle couvrent la période 2015-2020 à l'échelle du Bas-Rhin.

Après simulation, les résultats du modèle sont comparés aux données de validation constituées de relevés entomologiques réalisés entre 2018 et 2020 par le SLM67. Ces relevés correspondent au nombre d'œufs récoltés sur l'ensemble du Bas-Rhin toutes les deux semaines chaque année entre Mai et Novembre à l'aide de pièges pondoirs.

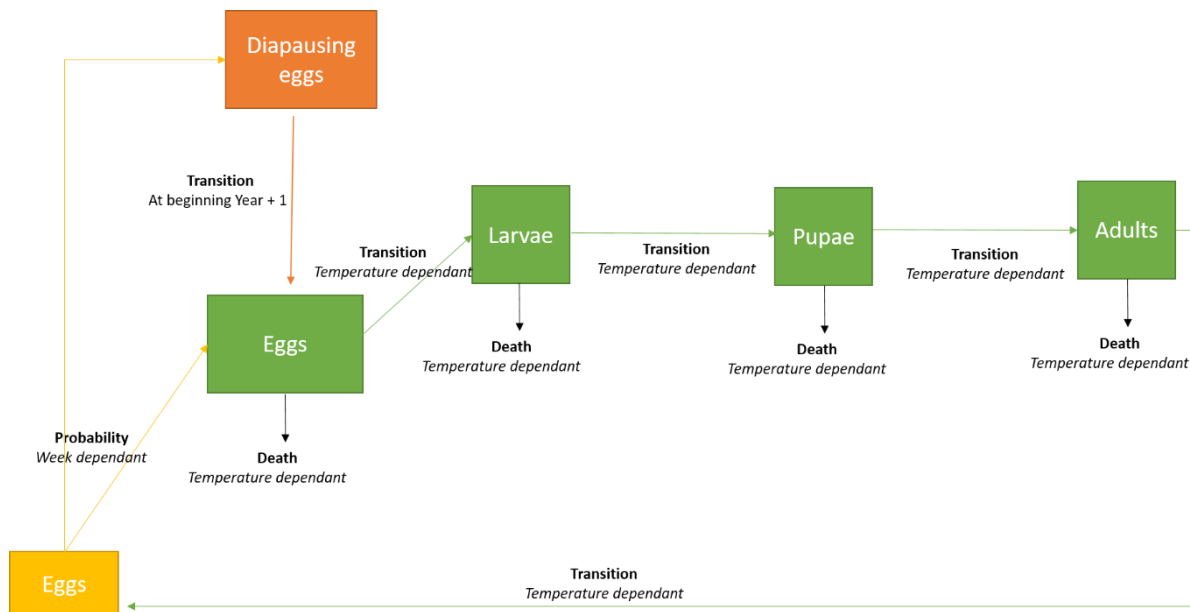


Figure 19. Représentation graphique du modèle à compartiments adapté à partir de Wieser et al. (2019). Le modèle est constitué de quatre compartiments (œufs, larves, nymphes et adultes). Les taux de transitions entre les compartiments sont dépendants de la température. De plus, des taux de mortalités s’appliquent à chaque compartiment. Dans un but d’améliorer le modèle, nous proposons d’ajouter un compartiment « œufs diapausants » (en orange), dont la transition (et donc la poursuite du développement) dépend du facteur temps.

Résultats

1. Ajustement des valeurs des paramètres

Les données de températures sont moyennées sur la période 2015-2020 afin d’obtenir une année « type » qui servira pour l’ensemble des simulations. Dans cette partie, nous exposons des simulations indépendantes pour chaque paramètre.

Pour le développement embryonnaire, c’est-à-dire le temps entre la ponte et l’éclosion de l’œuf, deux ruptures de pentes sont observables avec un passage brut de la durée de développement de 40 à 100 jours (Figure 20). L’une correspond à la condition énoncée par Weiser et al. (2019) que le temps de développement des œufs est fortement augmenté (100 jours) en dessous de 7°C. La seconde rupture de pente observée, autour du 200^{ème} jour de l’année (Figure 20) correspond à l’intégration des THV observés entre 23°C et 28°C au cours de cette thèse.

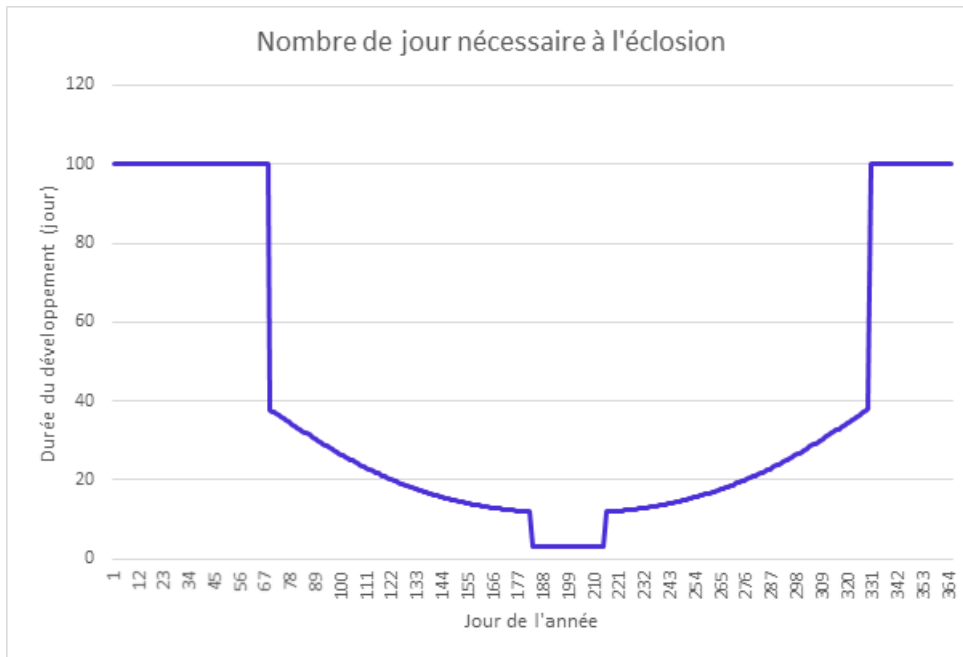


Figure 20. Variation de la durée de développement des œufs sur l'année type. La diapause n'est pas prise en compte. Pour les températures entre 23 et 28°C observées entre les jours 180 (fin juin) et 220 (début Août), la durée de développement est paramétrée avec les temps observés sur notre population. La durée de développement est considérée comme longue en dessous de 7,5°C et pour les autres plages de températures, nous avons repris les paramètres proposés par Wieser et al. (2019).

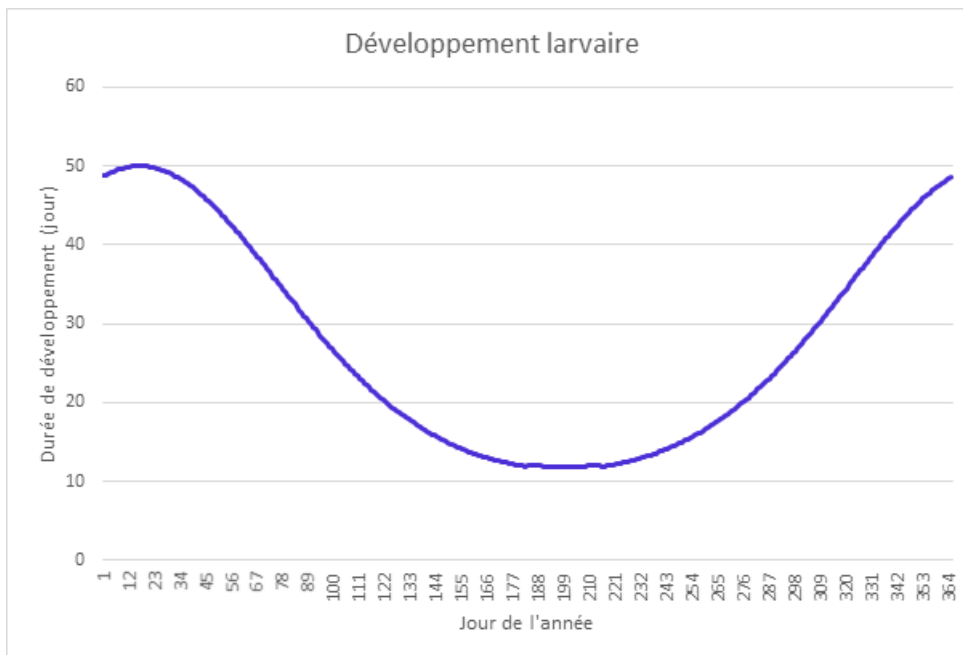


Figure 21. Variation de la durée de développement larvaire sur l'année type. Pour les températures entre 23 et 28°C observées entre les jours 180 (fin juin) et 220 (début Août), la durée de développement est paramétrée avec les temps observés sur notre population. La durée de développement est considérée comme longue en dessous de 7,5°C et pour les autres plages de températures, nous avons repris les paramètres proposés par Wieser et al. (2019).

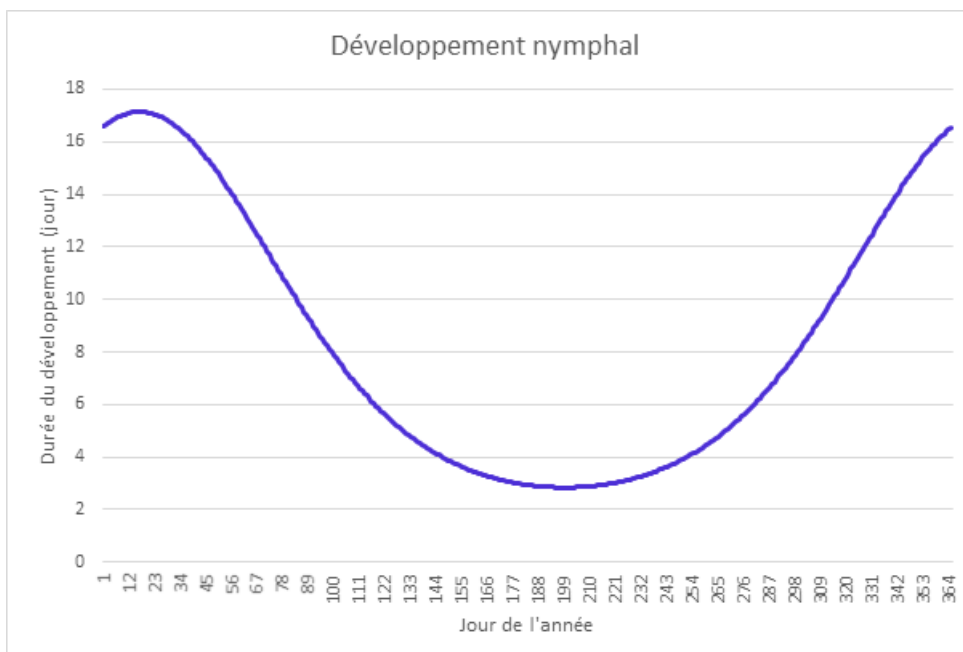


Figure 22. Variation de la durée de développement nymphal sur l'année type. Pour les températures entre 23 et 28°C observées entre les jours 180 (fin juin) et 220 (début Août), la durée de développement est paramétrée avec les temps observés sur notre population. La durée de

développement est considérée comme longue en dessous de 7,5°C et pour les autres plages de températures, nous avons repris les paramètres proposés par Wieser et al. (2019).

Pour les larves (Figure 21) et les nymphes (Figure 22), nous n’observons pas de rupture de pente du fait d’avoir inclus nos données de THV pour les développements entre 23 et 28°C (tout en maintenant les données de Wieser et al. (2019) en dehors de ces températures).

2. Exploration de l’influence de la diapause dans la modélisation

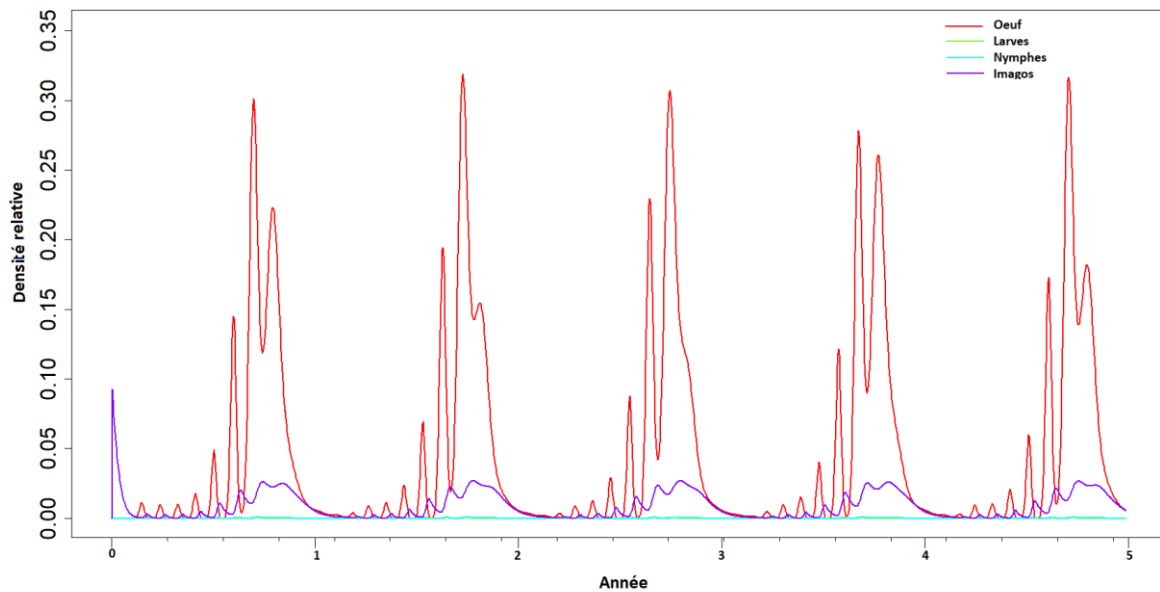


Figure 23. Modélisation de la dynamique de population d'*Ae. japonicus* dans le Bas-Rhin, sans prise en compte de la diapause. L’année 1 est montrée mais met en place le modèle, les données ne sont donc pas interprétées. Les œufs sont présentés en rouge, les imagos en violet, les larves en vert et les nymphes en bleu. Le nombre d’années est présenté en graduation principale de l’axe des abscisses, les graduations secondaires présentent le nombre de jours.

Une première simulation intégrant l’ensemble des paramètres sauf la diapause, est réalisée et représentée sur la Figure 23. On observe que la population d'*Ae. japonicus* se maintient sur au moins cinq années consécutives. Le compartiment œufs est de loin le plus important et regroupe le plus d’individus. Les imagos comparativement sont moins nombreux, de mêmes que les stades aquatiques. Entre les mois de juillet, août et septembre, les œufs présentent une distribution bimodale. Entre janvier et juillet (de 0 à 200 jours), des pics moins importants sont présents, montrant que, en l’absence de diapause, des températures favorables à l’éclosion surviennent dans le Bas-Rhin avant l’été. De ce fait, le modèle n’est pas réaliste avec la saisonnalité des œufs observées dans le Bas-Rhin (Figure 24).

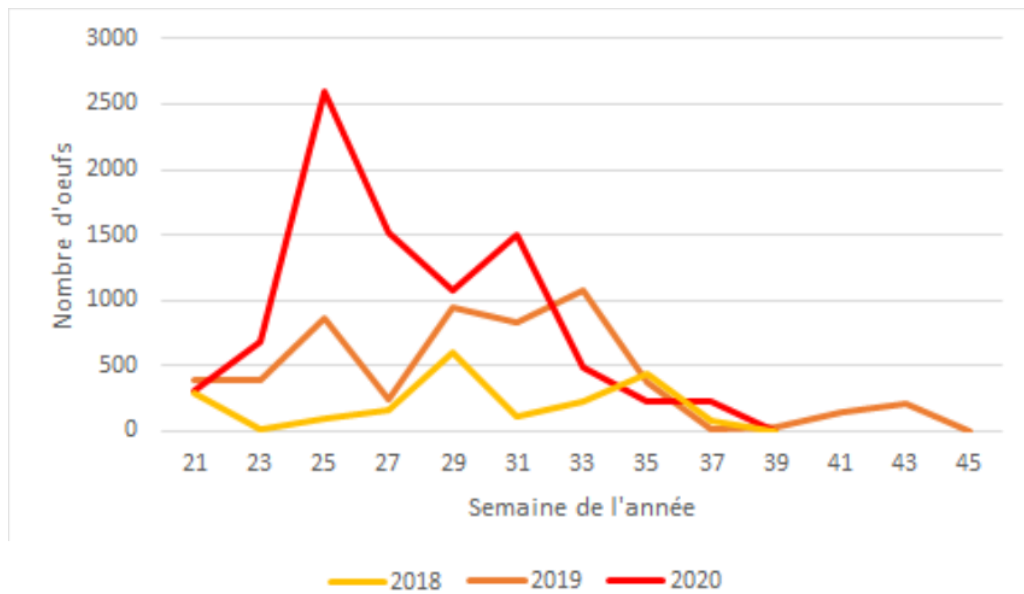


Figure 24. Saisonnalité des œufs dans le Bas-Rhin. Les années de 2018 à 2020 sont représentées, entre les semaines 21 (fin Mai) et la semaine 45 (début Novembre). En dehors des semaines présentées, aucun œuf n'a été collecté. Les courbes de chaque année présentent deux pics distincts.

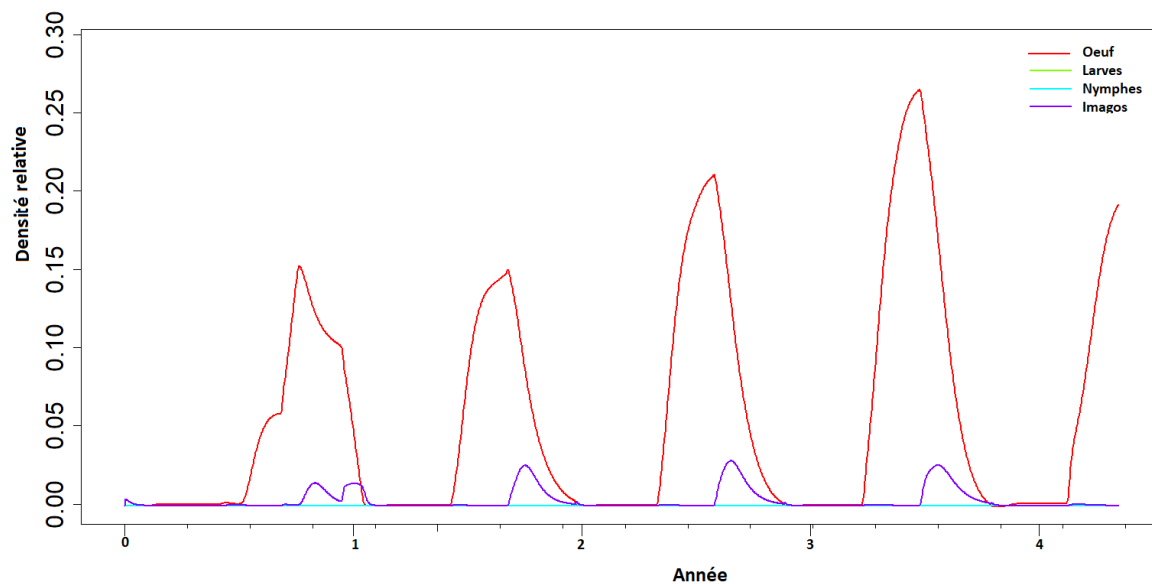


Figure 25. Modélisation de la dynamique de population d'*Ae. japonicus* dans le Bas-Rhin, en prenant en compte un taux fixe de diapause. L'année 1 est montrée mais met en place le modèle, les données ne sont donc pas interprétées. Les œufs sont présentés en rouge, les imagos en violet, les larves en vert et les nymphes en bleu. Le nombre d'années est présenté en graduation principale de l'axe des abscisses, les graduations secondaires présentent le nombre de jours.

Une seconde simulation intégrant l'ensemble des paramètres incluant un taux fixe de la diapause (90% entre les mois de septembre et décembre) est représentée sur la **Figure 25**. On constate que ce modèle ne présente plus les multiples pics de présence d'œufs durant les mois d'hiver. Cependant la distribution bimodale des œufs n'est plus présente.

Discussion

L'exploration de simulations à partir d'une adaptation du modèle de Wieser et al. (2019) nous a permis de montrer que les populations d'*Ae. japonicus* peuvent se maintenir sur plusieurs années dans le Bas-Rhin. La prise en compte de la diapause améliore grandement la modélisation. Le compartiment œuf est celui présentant la densité la plus élevée et suit une distribution bimodale.

Toutefois, à ce stade seule une diapause fixe a été incluse dans les simulations, *i.e.* l'ensemble des œufs deviennent diapausants à partir du 15 septembre et jusqu'à fin décembre. Une première perspective viserait à intégrer l'évolution saisonnière du taux de diapause des œufs. En effet, sur la base des résultats de l'étude de la diapause décrits précédemment (Krupa et al. 2021), nous déterminons quatre paliers de ratio œufs diapausants/non diapausants afin d'améliorer l'apport de la diapause dans l'interprétation du modèle :

- Entre janvier et fin avril, aucun œuf n'est diapausant,
- Entre le 1^{er} Mai et le 1^{er} août, 10% des œufs sont diapausants,
- En été entre le 1^{er} août et le 15 septembre, 50% des œufs sont diapausants,
- Et enfin entre le 15 septembre et fin décembre, 90% des œufs sont diapausants.

En ce qui concerne d'autres modélisations pour *Ae. japonicus*, Peach et al. (2019) montrent dans leur modèle une expansion vers le Nord des Etats-Unis. En Europe, Cunze et al. (2016) montrent que le changement climatique va diminuer la distribution d'*Ae. japonicus*, limitant sa présence à une zone centrale en Europe correspondant à la vallée du Rhin supérieur, la Suisse et la Croatie. Selon le modèle appliqué, la température moyenne du quart le plus froid (Cunze et al., 2016; Peach et al., 2019), la différence de températures diurnes (Peach et al., 2019) ou les précipitations annuelles (Cunze et al., 2016) ont le plus d'impact sur la présence d'*Ae japonicus*.

De manière générale, les modèles sont principalement limités par le manque de données. Ainsi, les difficultés d'échantillonnage peuvent provoquer des absences de données et le modèle lié peut donc sous-estimer l'occurrence actuelle et donc sous-estimer la prédiction de distribution future (Peach et al., 2019). L'absence de réelles données d'absence d'une espèce (et non pas l'absence de données) peuvent aussi impacter l'évaluation du modèle (Kerkow et al., 2019). Par ailleurs, certains facteurs comme la compétition peuvent ne pas être pris en compte pour simplifier le modèle (Peach et al., 2019).

Nous avons utilisé les valeurs de paramètres indiquées par Wieser et al. (2019) et issues de la littérature (Reuss et al., 2018; Wieser et al., 2019), en modifiant les valeurs des paramètres pour lesquels ils avaient été déterminées sur notre population (**chapitre VI**). Dans la représentation indépendante du paramètre diapause, la simplification de la diapause faite par Wieser et al. (2019) avec le seuil de température de 7°C auquel les œufs n'éclosent pas, a été légèrement augmentée à 7,5°C sur la base des observations de notre population locale (Krupa et al., 2021). Les adaptations issues de l'étude des THV sur notre population, n'ont pas le même impact sur la modélisation : celles réalisées sur le compartiment œuf sont celles qui ont le plus impacté le modèle. Concernant les autres compartiments, les ajustements des paramètres des compartiments larves et nymphes ont peu influencé le modèle.

Les auteurs du modèle rapportent que dans certaines zones d'Allemagne, *Ae. japonicus* persiste d'année en année (Schwarzwald, proche de la frontière française) alors que dans d'autres zones (Allgäu, proche de la frontière autrichienne), les populations ne se maintiennent pas et l'espèce s'éteint (Wieser et al., 2019). Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus en Forêt Noire (Schwarzwald) confirmant donc cette dernière étude qui suspectait que le long du Rhin était une zone très favorable à *Ae. japonicus* et à son implantation durable.

On retrouve un patron de distribution bimodale pour le compartiment œuf au cours des années, ce qui est observé à l'état naturel (Krupa et al., 2021). Ce compartiment est celui qui présente à la fois le plus grand nombre d'individus, mais aussi le taux de mortalité le plus élevé. Le nombre d'œufs produits pourrait compenser la mortalité induite par des événements hasardeux défavorables (Wieser et al., 2019).

La prise en compte de la diapause apporte un réel atout à la modélisation. D'autres paramètres pourraient être ajoutés au modèle, comme la mortalité due à la prédation et au parasitisme comme suggéré par Wieser et al. (2019). De même, les capacités de dispersion

pourraient être ajoutées, permettant de spatialiser le modèle. Un tel modèle permettrait de prédire la colonisation de territoire et à terme d'évaluer les échanges entre les populations de moustiques.

Références

- Cunze, S., Koch, L. K., Kochmann, J., & Klimpel, S. (2016). *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus*—Two invasive mosquito species with different temperature niches in Europe. *Parasites & Vectors*, 9(1), 573. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1853-2>
- Cunze, S., Kochmann, J., & Klimpel, S. (2019). Global occurrence data improve potential distribution models for *Aedes japonicus japonicus* in non-native regions. *Pest Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.5710>
- Kettle H, Nutter D. stagePop: modelling stage-structured populations in R. *Methods Ecol Evol*. 2015;6:1484–90.
- Kerkow, A., Wieland, R., Koban, M. B., Hölker, F., Jeschke, J. M., Werner, D., & Kampen, H. (2019). What makes the Asian bush mosquito *Aedes japonicus japonicus* feel comfortable in Germany ? A fuzzy modelling approach. *Parasites & Vectors*, 12(1), 106. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3368-0>
- Krupa, E., Henon, N., & Mathieu, B. (2021). Diapause characterisation and seasonality of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera, Culicidae) in the northeast of France. *Parasite*, 28, 45. <https://doi.org/10.1051/parasite/2021045>
- Marcantonio, M., Metz, M., Baldacchino, F., Arnoldi, D., Montarsi, F., Capelli, G., Carlin, S., Neteler, M., & Rizzoli, A. (2016). First assessment of potential distribution and dispersal capacity of the emerging invasive mosquito *Aedes koreicus* in Northeast Italy. *Parasites & Vectors*, 9(1), 63. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1340-9>
- Peach, D., Almond, M., & C. Pol, J. (2019). Modeled distributions of *Aedes japonicus japonicus* and *Aedes togoi* (Diptera : Culicidae) in the United States, Canada, and northern Latin America. *Journal of Vector Ecology*, 44, 119-129. <https://doi.org/10.1111/jvec.12336>
- Reuss, F., Wieser, A., Niamir, A., Bálint, M., Kuch, U., Pfenninger, M., & Müller, R. (2018). Thermal experiments with the Asian bush mosquito (*Aedes japonicus japonicus*)

(Diptera : Culicidae) and implications for its distribution in Germany. *Parasites & Vectors*, 11(1), 81. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2659-1>

Wieser, A., Reuss, F., Niamir, A., Müller, R., O'Hara, R. B., & Pfenninger, M. (2019). Modelling seasonal dynamics, population stability, and pest control in *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae). *Parasites & Vectors*, 12(1), 142. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3366-2>

Chapitre VI. Discussion et conclusion

Bioécologie de l'invasion

Comprendre l'introduction et l'invasion des espèces passe par la compréhension des moyens d'introduction et de transport, l'environnement local, l'écologie de l'espèce introduite et des communautés d'espèces locales (Crowl et al., 2008). Les interventions humaines, via le transport voulu ou non des espèces hôtes et des pathogènes facilitent l'émergence de maladies humaines ou animales (Stuart et al., 2020). La modification de l'environnement est aussi un facteur clef dans l'introduction et l'expansion des espèces invasives (Wilkerson et al., 2021). L'augmentation de la fréquence des mouvements de populations humaines affecte alors les invasions biologiques (Crowl et al., 2008). Ces invasions biologiques influencent la biodiversité et les relations des systèmes hôte/vecteur/pathogène (Stuart et al., 2020). La fréquence et l'amplitude des invasions biologiques sont déterminées entre autre par le climat, l'utilisation des sols et le transport humain. Ces facteurs interagissent entre eux lors de la colonisation des espèces invasives (Crowl et al., 2008; Wilkerson et al., 2021). L'invasion d'une espèce modifie aussi la structure et la fonction de l'écosystème colonisé, impactant les services écosystémiques produits (Crowl et al., 2008). Les pathogènes liés à l'espèce invasive peuvent aussi être introduits, impactant la santé humaine et animale et modifient les interactions biotiques de l'écosystème (Crowl et al., 2008; Stuart et al., 2020).

Le succès d'invasion d'une espèce et son impact vont dépendre du stade d'invasion auquel elle se place (introduction de l'espèce, adaptation et naturalisation, expansion de son aire de répartition). L'impact est donc d'autant plus important que l'espèce invasive est présente depuis longtemps, car elle est d'autant plus susceptible d'être adaptée à l'environnement (Stuart et al., 2020). Le climat et l'utilisation des sols interagissent de plus avec le réseau des populations humaines (Crowl et al., 2008). Le climat crée par ailleurs de nouvelles associations vecteur/pathogène (Stuart et al., 2020).

En ce qui concerne le succès d'invasion d'*Ae. japonicus*, bien que ce moustique ne soit ni un compétiteur supérieur ni un colonisateur exigeant (Murrell et al., 2015), l'altération des habitats couplée à son comportement et ses larges préférences de sites de pontes favorisent l'expansion de cette espèce (Hardstone & Andreadis, 2012). Bien que la diapause

d'*Ae. japonicus* n'avait jamais été clairement démontrée au début de cette thèse, Hardstone et Andrealis (2012) estimaient que la diapause et la résistance à la sécheresse des œufs pouvaient faciliter son implantation et sa survie en zone colonisée.

Paramètres importants du succès d'invasion

1. Dispersion

La dispersion est un élément clef dans la caractérisation des espèces invasives qui, par définition, s'étendent hors de leur aire de distribution native. De plus, l'augmentation de l'aire de distribution est une donnée importante pour caractériser le succès d'invasion (Stuart et al., 2020).

Lorsqu'une espèce disperse, elle peut transporter avec elle ses pathogènes, créant des occasions pour l'émergence de maladies (Stuart et al., 2020). La caractérisation des capacités de dispersion est donc d'autant plus importante qu'elle concerne des espèces vectrices comme certains moustiques dont *Ae. japonicus*. Comme nous l'avons vu au **chapitre I** (page 26) cette espèce est entre autre vectrice du virus de Cache Valley, du virus de l'encéphalite La Crosse et du virus du Nil Occidental. *Aedes japonicus* est mammalophile mais aussi ornithophile (Schönenberger et al., 2016) et une dispersion active verticale a été observée par des collectes jusqu'à 7 mètres de haut dans la canopée des arbres (Anderson et al., 2006).

Il est possible de mettre en place plusieurs méthodes pour obtenir des paramètres de dispersion sur les moustiques. Pour étudier la dispersion, il faut généralement commencer par déterminer les zones de présence de l'espèce. Cela passe par la capture des individus et le piégeage d'*Ae. japonicus* ne s'avère pas si aisé. En effet, alors que certains auteurs réussissent à capturer des imagos à l'aide de pièges de type CDC miniature light trap (Gainesville, FL, U.S.A) (Anderson et al., 2006), d'autres comme Egizi et Fonseca (2015) n'ont pas réussi à collecter ce moustique à l'aide de ce même piège. De même, au cours de cette dernière étude, aucune capture n'a été réalisée à l'aide du piège Biogent sentinel trap et les auteurs ont donc privilégié la collecte d'*Ae. japonicus* aux stades immatures aquatiques (Egizi & Fonseca, 2015). Balestrino et al. (2016) ont déterminé ultérieurement l'efficacité du piège CDC dans la capture d'*Ae. japonicus* par l'utilisation de lumière ou d'attractant (CDC-IGU, basé sur de l'octénol) pour augmenter le succès de capture des adultes. Même en présence de fortes abondances

de ce moustique, la capture d'adultes d'*Ae. japonicus* reste donc hasardeuse, ce qui peut être un frein pour la mise en place de futures études portant sur les capacités de dispersion de cette espèce, via notamment la technique du capture-marquage-recapture. Par ailleurs, la collecte des œufs à l'aide de pièges pondoirs est généralement privilégiée pour la capture de ce moustique (Balestrino et al., 2016). Cependant, cette même étude a montré que l'ajout d'infusion de foin ou de feuilles de chênes comme attractif n'augmentait pas significativement les collectes d'œufs. Les pièges pondoirs sont d'ailleurs la méthode recommandée pour le suivi des espèces de creux d'arbres et en particulier pour les espèces invasives telles que *Ae. albopictus* et *Ae. japonicus* (Schaffner et al., 2013).

Les études qui se réalisent *in situ* permettent alors de déterminer les capacités de dispersion réelles sur le terrain (Verhulst et al., 2013). L'une des techniques les plus utilisées sur le terrain est la capture-marquage-recapture, qui utilise les pièges cités précédemment lors des phases de capture et recapture. Ces études sont cependant soumises aux conditions environnementales locales et peu reproductibles, ce qui peut limiter l'utilisation des résultats obtenus. Les paramètres étudiés qui influencent la dispersion sont généralement de type climatique (températures) ou physique (vitesse du vent, présence de végétation). Une seconde approche pour obtenir des paramètres de dispersion consiste à réaliser des expériences en laboratoire. L'avantage principal est le contrôle de divers paramètres connus pour influencer la dispersion et les capacités de vol, comme la physiologie ou le statut nutritionnel (Minter et al., 2018). Des paramètres supplémentaires peuvent être aussi testés au laboratoire comme l'effet de diverses odeurs, combinant l'étude des capacités de vol avec le comportement des moustiques, dans un but de mieux comprendre les mécanismes propres du moustique qui influencent sur sa dispersion. Une dernière approche d'études de la dispersion consiste à faire appel à des modèles mathématiques. Ces derniers sont à la fois un outil permettant de déterminer les capacités de dispersion, en modélisant la progression d'une espèce dans le temps, mais aussi un outil d'application des données de dispersion obtenues par les approches présentées précédemment (Cailly et al., 2012; Lutambi et al., 2013). Les modèles doivent cependant être alimentés par des paramètres, obtenus par les techniques présentées précédemment. Les avantages et inconvénients de ces techniques sont présentés en **annexe 12**.

Pour étudier pour la première fois les capacités de vol d'*Ae. japonicus*, une approche en laboratoire semblait alors plus intéressante et réalisable.

L'étude du comportement, de vol notamment, s'est démocratisée avec la baisse des coûts de matériels électroniques et les logiciels open sources et pouvant être modifiés par l'utilisateur pour s'adapter au mieux à son protocole. D'autres approches permettent également de réduire le coût. Ainsi, pour étudier le comportement de drosophiles, Geissmann et al. (2017) ont utilisé des ordinateurs miniatures (Raspberry Pi) et des structures en Lego®, en carton ou imprimées en 3D. Les caméras infrarouges ont été utilisées de manière automatisée afin de réaliser le budget temps individuel de plusieurs drosophiles (Branson et al., 2009).

Bien que le flight mill soit une technique utilisée depuis longtemps (Rowley et al., 1967), la méthode de récolte des données est variable : détecteur optique de toutes sortes (Attisano et al., 2015; Castro et al., 2014; Rowley et al., 1967), détection du champ magnétique lié à l'utilisation d'aimants (Hahn et al., 2017), ou enregistrement vidéo. Nous avons décidé d'utiliser un système vidéo, afin de conserver une trace de chaque vol et de pouvoir ultérieurement réaliser des analyses approfondies. Afin de faciliter l'exploitation des résultats obtenus par le flight mill et le système d'enregistrement vidéo, nous avons également choisi d'utiliser un logiciel de tracking.

Plusieurs logiciels existent, chacun développé dans un certain but et présentant donc chacun leurs avantages (comme la possibilité de réaliser un suivi en 3 dimensions ou un suivi de plusieurs individus en même temps) mais aussi leurs inconvénients, en terme de format de vidéos par exemple. Pour nos analyses de flight mill, la trajectoire est fixe (cercle de 34,54cm) et en 2 dimensions. Un seul individu est suivi à la fois mais la taille du moustique peut être limitante pour la détection par le logiciel. Les logiciels réalisant du suivi en 3 dimensions comme 3Dtracker (3dtracker.org), Winanalyse (Mikromak, Berlin, Allemagne) ne sont donc pas adaptés à notre étude. Le logiciel Biosence (Patman et al., 2018) a montré ses capacités à détecter divers insectes de toutes tailles et peut même réaliser du suivi simultané de plusieurs individus. Cependant le logiciel n'était pas encore disponible au moment du démarrage de notre étude. IdTracker (Pérez-Escudero et al., 2014) offre la possibilité de suivre simultanément plusieurs individus et de conserver l'identité de chacun des individus, même lorsqu'ils disparaissent momentanément du champ de la caméra. Ce logiciel n'a pour le

moment pas été testé sur insectes et ses fonctionnalités innovantes n'étaient pas nécessaires pour notre étude. Le suivi de plusieurs fourmis en simultané a été réalisé par un logiciel similaire, Biotracking (bio-tracking.org). Cependant les besoins informatiques du logiciel n'étaient pas en adéquations avec nos systèmes. Le logiciel Toxtrac (Rodriguez et al., 2018) nous a donc paru être le logiciel le plus adéquat à utiliser pour l'analyse des vidéos du flight mill et de futures expériences sur les capacités de vol des moustiques. En effet ce logiciel a fait ses preuves en réalisant le suivi sur plusieurs familles d'insectes différentes. Il offre de plus, pour des études futures, la possibilité de suivi simultané de plusieurs individus et de sélectionner des zones d'intérêt. Nous avons utilisé cette dernière fonctionnalité afin de limiter le suivi du moustique dans un cercle défini, afin que des éventuelles perturbations hors de cette zone n'affectent pas le suivi. La majorité des logiciels cités précédemment repose sur une méthode d'analyse de type "retrait de l'environnement" (*background subtraction*), où l'animal en mouvement est détecté par rapport à la modification de l'environnement (apparition/disparition) qu'il entraîne à l'image. Pour que cette méthode soit optimale, il est donc nécessaire d'avoir un environnement uniforme, fixe, en lumière constante et que le contraste entre l'animal suivi et le fond soit le plus élevé possible.

Le vol forcé par le flight mill n'est pas naturel mais il convient à l'observateur de déterminer et de réaliser son protocole afin que ce vol soit le plus similaire (Minter et al., 2018). Les études réalisées à l'aide d'un dispositif de flight mill peuvent donc varier selon la méthodologie appliquée et selon le dispositif lui-même. Les comparaisons sont donc plus objectives lorsqu'elles proviennent d'études utilisant un même dispositif et une même méthodologie (Briegel, Knüsel, et al., 2001; Briegel, Waltert, et al., 2001; Kaufmann et al., 2013). Dans l'article présenté au **chapitre III**, nous avons comparé les distances obtenues chez *Ae. japonicus* avec *Ae. aegypti* (Briegel, Knüsel, et al., 2001) et *Ae. albopictus* (Kaufmann et al., 2013). Ces deux dernières espèces mentionnées peuvent être élevées en laboratoire. Reproduire les expériences du flight mill avec ces espèces dans notre laboratoire permettrait d'obtenir des résultats supplémentaires pour comparer ces espèces à *Ae. japonicus*, dans les mêmes conditions expérimentales, et également de mesurer l'impact du dispositif et de la méthodologie sur les résultats obtenus, en comparaison avec la littérature.

En laboratoire justement, *Ae. albopictus* montre des capacités de vol de plusieurs kilomètres (Kaufmann et al., 2013). Sur le terrain pourtant, ce sont plutôt de 75 à 200 mètres

environ qu'il parcourt (Verdonschot & Besse-Lototskaya, 2014), même si de récentes études tendent vers le kilomètre parcouru, comme par exemple avec 844 mètres observés en Suisse (Vavassori et al., 2019). *Aedes albopictus* disperserait majoritairement par dispersion passive, à l'aide du trafic routier par exemple (Müller et al., 2020) : le vol actif des femelles est secondaire face au transport passif des œufs ou des imagos (Trájer et al., 2017). Au contraire, la dispersion d'*Ae. japonicus* est plus en faveur d'une dispersion active (Müller et al., 2020), et nous avons montré qu'*Ae. japonicus* était capable de voler en une seule fois jusqu'à 11 kilomètres. Au vue de sa taille supérieure et de nos résultats sur flight mill (**chapitre IV**), nous pouvons donc raisonnablement supposer qu'en conditions naturelles, *Ae. japonicus* est un plus grand disperseur que le moustique tigre. Ce raisonnement est d'autant plus probable qu'*Ae. japonicus* a une large préférence trophique pouvant guider cette dispersion, alors qu'*Ae. albopictus*, très anthropophile, peut restreindre son périmètre de dispersion en zone urbaine en raison de la forte densité d'hôtes et de gîtes.

Les données obtenues par le flight mill pourront être complétées par des études de budget temps. En effet dans de telles études, les moustiques sont laissés en vol libre, et l'enregistrement vidéo sur 24 heures, après analyse, peut permettre de déterminer le temps passé aux divers comportements, comme le vol (Lebon et al., 2018; Wilkinson et al., 2014). En utilisant ce temps par rapport aux données de vol jusqu'à épuisement, ces expériences complémentaires permettraient d'estimer de façon plus réaliste la distance journalière parcourue par *Ae. japonicus*. De façons similaires, du capture-marquage-recapture pourrait aussi être une piste envisagée pour compléter l'étude de la dispersion d'*Ae. japonicus* en milieu naturel, tout en prenant en compte que le piégeage de cette espèce au stade adulte est hasardeux comme présenté précédemment et que son élevage en laboratoire en vue d'obtenir de fortes densités d'individus à relâcher reste difficile (voir **Encart informatif n°1** ci-dessous). Initialement prévues dans l'étude des capacités de vol en utilisant le flight mill (**chapitre III**), les conditions « femelles gorgées » et « femelles gravides » n'ont pas pu être intégrées pour la même raison, à savoir les difficultés d'obtenir de telles femelles dans notre élevage.

Encart informatif n°1 : captivité en laboratoire

Durant ces trois années, nous avons tenté d'élever *Ae. japonicus* en insectarium à partir d'une souche sauvage, collectée à Reichstett, afin de disposer de l'espèce toute l'année et de

ne pas être dépendant des abondances variables dans l'environnement. Le maintien et le développement des stades immatures ont été réalisés avec succès. La première difficulté rencontrée a été le maintien des individus adultes, qui a été résolu en augmentant l'humidité à plus de 70% et en réalisant une cage spécifique, contenant de la vermiculite pour conserver l'humidité ainsi que diverses cachettes pour offrir de l'ombre. Le repas de sang reste une étape délicate, nécessitant de collecter les femelles et de les gorger avec un système Hémothek® dans une boîte dédiée, afin de les contraindre dans l'espace, agrémentée d'un bas de collant porté par un humain durant 2 à 4 heures auparavant pour stimuler la prise de repas de sang. L'étape critique est la reproduction, en particulier l'accouplement. Nous avons testé l'utilisation d'une lumière stroboscopique (Somboon & Suwonkerd, 1997) pour stimuler l'accouplement, de même que l'utilisation d'une cage plus grande (100cm x 45cm x 45cm contre 30cm x 30cm x 30cm en routine), sans succès.

Bien que nous n'ayons pas réussi à maintenir cette espèce en insectarium à l'année, l'élevage d'*Ae. japonicus* reste possible. Williges et al. (2008) ont réussi à maintenir *Ae. japonicus* pendant 28 générations, dans des cages de 61cm x 61cm x 61cm, avec des gorgements sur oiseaux. Cependant l'un des problèmes qu'ils ont rencontré fut la forte mortalité des œufs. L'accouplement libre n'est possible qu'à fortes densités (Williges et al., 2008). Hoshino et al. (2010) ont utilisé des cages de 40cm x 40cm x 100cm avec des gorgements sur souris. Ils ont maintenu l'espèce sur 5 ans, obtenant 35 générations. Les premières générations ont été gorgées sur Homme et les auteurs ont eu recours aux accouplements forcés. Cependant l'accouplement forcé ne permet l'obtention que de rares œufs et est donc un challenge supplémentaire pour l'élevage en laboratoire (Bova et al., 2019).

2. Diapause

Aedes albopictus et *Ae. japonicus* sont toutes deux des espèces invasives en Europe et présentes dans le nord-est de la France. Étant l'espèce de moustique la plus invasive au monde et vectrice de graves maladies (causées par les virus de la dengue, du Zika, ou du chikungunya), la biologie du moustique tigre est plus étudiée que celle d'*Ae. japonicus*, et notamment la diapause.

Le mécanisme de la diapause est alors considéré comme adaptatif, répondant aux conditions de l'environnement puisque la diapause est expérimentalement devenue plus

importante en seulement 3 générations lors d'un transfert de populations de moustiques tigre (Medley et al., 2019). Une adaptation aussi rapide démontre également du rôle clef que joue la diapause dans la survie de l'espèce en zones tempérées. La diapause est donc connue comme un avantage chez les espèces invasives, pour le passage de l'hiver de l'espèce en zone colonisée mais aussi pour sa dispersion (Tauber et al., 1986).

Chez *Ae. albopictus* et *Ae. japonicus*, le stade prédiapausant est l'imago femelle (Bova et al., 2019; Lacour et al., 2014a) ce qui est similaire à des espèces phylogénétiquement proches comme *Ae. togoi* et *Ae. atropalpus* (Bova et al., 2019). La photopériode influence ces deux premières espèces mais est mieux connue chez le moustique tigre (P. A. Armbruster, 2016; Lounibos et al., 2003). Bien que séparés de plusieurs centaines de kilomètres, la photopériode critique d'*Ae. japonicus* dans le nord-est de la France (Krupa et al., 2021) est proche de celle du moustique tigre dans le sud de la France (Lacour et al., 2015a). Par ailleurs, les deux espèces mentionnées pondent des œufs résistants à la sécheresse (Urbanski, Benoit, et al., 2010; Versteirt et al., 2009).

En plus de démontrer l'existence d'une vraie diapause chez *Ae. japonicus*, nous avons montré au **chapitre IV** que le taux de diapause chez *Ae. japonicus* était variable au cours de l'année, avec notamment un taux basal de 10% dès le début de saison de ponte de ce moustique. Chez le moustique tigre, le taux de diapause est aussi connu et variable au cours de la saison de ponte, dans différents pays ou régions (P. A. Armbruster, 2016; Lounibos et al., 2003; Medley et al., 2019; Mori et al., 1981). La croissance du taux de diapause est retrouvée constante d'une année sur l'autre pour les deux espèces (Krupa et al., 2021; Lacour et al., 2015b).

Cependant, la diapause chez *Ae. japonicus* reste un élément de connaissance à approfondir. Chez *Ae. albopictus* le taux de diapause est différent entre les souches tropicales et celles issues de pays tempérés (Lacour et al., 2014b; Lounibos et al., 2003). L'hypothèse d'une différence entre des populations d'*Ae. japonicus* sur la production d'œufs diapausant n'a pas été testée. L'influence de la diapause pourrait varier selon un gradient longitudinal, supporté par des différences génétiques et phénotypiques (Medley et al., 2019). Comparativement, l'embryogenèse des œufs du moustique tigre est décrite dans la littérature, et notamment les différences qui existent entre les œufs non-diapausants et diapausants (Lacour et al., 2014b). Le mécanisme de stockage des lipides ainsi que leur utilité dans la

diapause a également été décrit à plusieurs reprises (Batz & Armbruster, 2018; Reynolds et al., 2012). De même, les facteurs terminant la diapause sont aussi connus pour cette espèce (Suman, Wang, et Gaugler 2015), alors qu'ils restent inconnus à ce jour chez *Ae. japonicus*. L'expression d'un gène exprimant une protéine de la membrane épithéliale a été décrit comme pouvant jouer un rôle dans la diapause (Urbanski, Aruda, et al., 2010). Chez *Anopheles gambiae*, Meuti et al. (2015) ont montré que le cycle circadien influençait l'expression de différents gènes. Chez un autre moustique, *Culex pipiens*, ce sont les gènes impliqués dans le récepteur à insuline FOXO qui entraînent la diapause chez les femelles hivernantes (Sim et al., 2015). Les découvertes présentées dans ces articles pourraient donc servir de pistes de recherches pour comprendre les facteurs génétiques qui entrent en jeu dans le mécanisme de la diapause d'*Ae. japonicus*.

3. Traits d'histoire de vie

Dans le but d'aborder ultérieurement la modélisation de dynamique de population d'*Ae. japonicus* dans le nord-est de la France, nous avons mesuré des THV sur notre population. *Aedes japonicus*, comme beaucoup d'insectes, présente un syndrome de THV de type stratégie R (Egizi & Fonseca, 2015), avec beaucoup d'œufs produits mais avec une mortalité non nulle. Ainsi, nous avons déterminé chez *Ae. japonicus* un taux constant moyen d'environ 17% de mortalité dans les pontes (**chapitre IV**). Pour les larves, ce taux est variable selon les températures testées, mais est inférieur à 50% (**chapitre V**). Les nymphes sont le stade présentant le taux de mortalité le plus faible avec 11% ou moins, selon la température (**chapitre V**). Comparativement chez *Ae. albopictus*, le taux de mortalité est aussi variable et inférieur à 50% entre 15°C et 30°C (Delatte et al., 2009).

La température est connue pour influencer le temps de développement des stades immatures, le taux de survie et la longévité des imagos (Delatte et al., 2008). De même, la température va influencer la taille des imagos et la durée du cycle gonotrophique des femelles, et donc indirectement la fécondité (P. Armbruster & Hutchinson, 2002; Briegel & Timmermann, 2001; Delatte et al., 2008). Chaque espèce a ainsi ses préférences thermiques et une même variation de température peut affecter différemment les espèces. Ainsi, les taux de mortalités des stades immatures d'*Ae. japonicus* sont supérieurs à 50% lorsque les températures sont inférieures à 5°C (Reuss et al., 2018). Ces mêmes auteurs ont montré que

le développement jusqu'au stade adulte était possible pour *Ae. japonicus* entre 10°C et 31°C, avec un optimum à 25°C. Au cours de cette thèse, nous avons trouvé sur nos spécimens un optimum à 26°C, proche de l'étude de Reuss *et al.* (2018) (**chapitre V**). À l'aide de la modélisation, cette même étude a montré que la température minimale requise pour le développement de cette espèce est de 7°C. Pour le moustique tigre, la gamme est décalée vers des températures plus chaudes pour une population provenant de l'Océan Indien, avec un développement possible entre 15°C et 35°C et un optimum de 29,7°C (Delatte *et al.*, 2009). La température minimale requise déterminée par modélisation est de 10,4°C (Delatte *et al.*, 2009), soit 3,4°C de plus que pour *Ae. japonicus*. Les gammes de températures et optimum peuvent donc varier selon la région d'où provient la population (Reinhold *et al.*, 2018). Par exemple pour *Ae. aegypti*, une espèce plutôt tropicale, le développement jusqu'au stade adulte se réalise entre 16°C et 34°C, avec un optimum bien supérieur que ceux décrit précédemment, à 32°C (Christophers, 1960).

Pour *Ae. albopictus*, le développement varie entre 8,8 jours (30°C) et 35 jours (15°C) (Delatte *et al.*, 2009). Pour *Ae. japonicus*, celui-ci varie entre 10 et 10,8 jours (29°C) pour les mâles et les femelles respectivement, et entre 31,1 et 32,4 jours (15°C) (Reuss *et al.*, 2018). Nous avons testé une gamme de température plus réduite, et nos résultats présentent donc une variation moins importante, avec un développement achevé entre 9,3 et 11,4 jours à 26°C et 24°C respectivement. Le développement est encore ralenti à 10°C chez *Ae. japonicus* avec 57,5 à 59,3 jours nécessaire pour atteindre le stade adulte (Reuss *et al.*, 2018), alors qu'aucune larve d'*Ae. albopictus* ne survivrait à cette température (Delatte *et al.*, 2009).

D'autres facteurs peuvent également influencer ces paramètres. Par exemple, il a été montré que le taux de protéine contenu dans la nourriture a une influence sur la rapidité de développement et réduit la mortalité des larves. De plus, ce taux de protéine est associé à l'augmentation de la taille des imagos à l'émergence (Bock *et al.*, 2015).

Nous avons montré que l'abondance d'*Ae. japonicus* dans le nord-est de la France suivait une distribution bimodale entre Mai et Novembre, avec une abondance plus forte en été et au mois d'Octobre (Krupa *et al.*, 2021) (**chapitre IV**). Cette phénologie est similaire à celle observée sur d'autres populations rencontrées aussi bien dans son aire d'origine comme en Asie (Iriarte *et al.*, 1991; Tanaka *et al.*, 1979) qu'à celles issues de zones colonisées comme en Allemagne (Früh *et al.*, 2020). Selon les conditions environnementales, les températures

rencontrées en Europe permettent la survie d'au moins une génération d'*Ae. japonicus* par an, le plus souvent plusieurs, notamment en Allemagne (Reuss et al., 2018). Rochlin et al. (2013) ont par ailleurs déterminé que les étés humides favorisent la présence d'*Ae. japonicus* tandis que les hivers cléments sont favorables à la présence d'*Ae. albopictus* l'année suivante. Le changement climatique pourrait donc favoriser l'expansion de ces espèces, laissant la place à tout un champ d'investigation future.

Les interactions entre *Ae. japonicus* et d'autres espèces parasites ou prédatrices sont peu étudiées. Or, les interactions biologiques peuvent influencer les THV : les prédateurs exercent une pression sur les THV de leurs proies, réduisant souvent la durée des stades immatures (Michalakis & Hochberg, 1994). De même, les parasites influencent les THV de leur hôtes selon le stade infesté (Michalakis & Hochberg, 1994).

4. Dynamique de population et modélisation

La modélisation nécessite des connaissances sur la distribution spatiale, la démographie et le comportement de l'espèce ou des espèces ciblées, de même que des caractéristiques de l'environnement biotique et abiotique (Crowl et al., 2008).

Par exemple chez le moustique tigre, ses données de présence et d'abondance, couplées à des données environnementales mais aussi humaines, comme les densités de populations ou les axes routiers, permettent d'expliquer et de prédire la dispersion de cette espèce (Roche et al., 2015).

La niche écologique est basée sur la présence de l'espèce cible à une localisation précise, permettant de définir un climat et un paysage, considérés comme de fait favorables (Cunze et al., 2019). Pour *Ae. japonicus*, divers modèles montrent que sa niche écologique de température en zone colonisée en Europe ressemble à celle de son aire d'origine, et est plus restreinte que celle d'*Ae. albopictus* (Cunze et al., 2016). En Europe, la niche écologique colonisée correspond à 48% à celle de son aire d'origine. Aux Etats-Unis, la niche colonisée ne reprend que 52% de la niche de son aire d'origine, et subit une expansion de 25% (Cunze et al., 2019). Ce phénomène peut être dû au processus d'invasion : la niche écologique d'origine n'est pas remplie car elle est limitée par la présence d'autres espèces qui ne sont pas présentes dans l'aire d'origine (Cunze et al., 2019).

Kerkow et al. (2019) proposent une approche de modèle « flou » (*fuzzy model*), combinant plusieurs modèles entre eux. Il ressort de leur étude que les combinaisons ayant un paysage favorable à très favorable (échelle de 1 à 4), couplé à un climat bon à très bon (échelle de 1 à 4) et une vitesse de vent confortable (échelle 1 à 3) en Allemagne, sont celles qui sont le plus favorables à la présence et à l'expansion d'*Ae. japonicus*, représentant une large zone dans la moitié sud-ouest du pays.

Certains modèles génériques sont utilisés et adaptés à des conditions particulières, comme celui de Tran et al. (2013) et Jia et al. (2016), basés tous deux sur Cailly et al. (2012). Cette dernière étude propose un modèle générique pour prédire l'abondance des moustiques, basé sur des équations différentielles ordinaires et avec dix compartiments (œuf, larve, nymphe, et plusieurs stades adultes répartis entre pare et nullipare, recherche d'hôte, gorgée et en recherche de site de ponte) (Cailly et al., 2012). Le modèle a été adapté une première fois sur une espèce invasive : le moustique tigre. Avec dix compartiments, ce modèle prend en compte l'impact de la densité mais néglige la dispersion (Tran et al., 2013). Il a été déterminé que le modèle était sensible à certaines variables (comme le taux de mortalité à l'émergence, la transition femelle en recherche d'hôte à femelle gorgée, ou de femelle en recherche de site de ponte à femelle en recherche d'hôte) et qu'il était d'autant amélioré que ces variables étaient précises. Une meilleure connaissance de ces paramètres est donc importante, de même les mesures de contrôle qui affectent ces mêmes variables sont donc plus efficaces (Tran et al., 2013). Une autre adaptation est réalisée par Jia et al. (2016) sur le moustique tigre où les auteurs incorporent le paramètre diapause. Le modèle proposé comporte alors huit compartiments et il en ressort que le modèle est meilleur en tenant compte de la diapause, démontrant l'intérêt de caractériser et de prendre en compte ce phénomène. La diapause est ici contrôlée par la température (inférieure à 21°C) et la photopériode (entre 13 et 14 heures). Durant le cadre de cette thèse, nous n'avons pas pu exploiter ce type de modèle à cause des nombreux compartiments définis, qui nécessitent de nombreuses informations inconnues sur la biologie d'*Ae. japonicus*. Le modèle proposé par Wieser et al. (2019), déjà adapté sur notre espèce cible, a aussi pour avantage de présenter des données de populations d'*Ae. japonicus* géographiquement proche de nos populations du nord-est de la France, ce qui a permis des comparaisons pertinentes. Notre population persiste d'années en années, comme celles présentent à certaines localités en Allemagne, qui se trouvent aussi le long du Rhin.

Alors qu'*Ae. japonicus* est un moustique de zones tempérées, la diversité génétique et la différenciation entre populations proches ne concordent pas avec les modèles mathématiques d'expansion spatiale de l'espèce (Egizi & Fonseca, 2015). *Aedes japonicus* présente en effet une distribution en patch : Egizi et Fonseca (2015) proposent que les échanges génétiques entre deux zones colonisées permettent une rapide adaptation au nouvel habitat.

Conclusion

Afin d'expliquer le succès d'invasion de *Aedes japonicus japonicus* (Theobald) (Diptera : Culicidae) dans le Nord-Est de la France, nous avons caractérisé certains traits biologiques de ce moustique invasif :

- Nous avons tout d'abord déterminé que l'espèce *Ae. j. japonicus* était celle présente dans cette région, et qu'elle présentait une variabilité génétique (**chapitre II**). Cette variabilité génétique peut permettre une adaptation rapide ou permettre à l'espèce de faire face aux conditions environnementales variables.
- À l'aide d'un flight mill, nous avons déterminé en laboratoire que cette espèce est capable de disperser de plusieurs kilomètres (**chapitre III**). Couplé à ses préférences trophiques et de sites de pontes déjà caractérisés, nous pouvons donc supposer que sa dispersion en milieu naturel est aussi importante.
- Nous avons enfin démontré formellement la diapause chez ce moustique, qui se déroule au stade œuf (**chapitre IV**). La photopériode joue un rôle clef dans le déclenchement de celle-ci, mais nous supposons également que le mécanisme de diapause soit également régulé par la température ou des facteurs internes puisque dès le début de la saison, des œufs diapausants sont retrouvés (environ 10% de la ponte). La caractérisation de traits d'histoire de vie a pu permettre d'ajuster et d'appliquer un modèle de dynamique des populations sur notre population du Bas-Rhin (**chapitre V**), démontrant que les conditions locales étaient favorables à la persistance de l'espèce.

Ces nouvelles données sur la biologie d'*Ae japonicus* permettent alors de concevoir de nouvelles expériences pour approfondir ces connaissances, comme l'étude de la dispersion en

milieu naturel ou la caractérisation moléculaire d'autres populations de ce moustique. Les résultats de ce travail de thèse permettent de prendre en compte la diapause et les capacités de vol actif dans les réflexions sur le développement de nouvelles stratégies de lutte contre cette espèce invasive. Enfin, les connaissances acquises sur cette espèce permettent de mieux connaître les espèces invasives de manière générale et donc de caractériser leur invasion biologique respective, ce qui peut permettre de mettre en place des moyens de luttés préventifs sur les espèces susceptibles d'employer les mêmes mécanismes.

Références

- Anderson, J. F., Andreadis, T. G., Main, A. J., Ferrandino, F. J., & Vossbrinck, C. R. (2006). West Nile virus from female and male mosquitoes (Diptera : Culicidae) in subterranean, ground, and canopy habitats in Connecticut. *Journal of Medical Entomology*, 43(5), 1010-1019. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2006\)43\[1010:wvffa\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2006)43[1010:wvffa]2.0.co;2)
- Armbruster, P. A. (2016). Photoperiodic diapause and the establishment of *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae) in North America. *Journal of Medical Entomology*, 53(5), 1013-1023. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw037>
- Armbruster, P., & Hutchinson, R. A. (2002). Pupal mass and wing length as indicators of fecundity in *Aedes albopictus* and *Aedes geniculatus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 39(4), 699-704. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.4.699>
- Attisano, A., Murphy, J. T., Vickers, A., & Moore, P. J. (2015). A simple Flight Mill for the study of tethered flight in insects. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 106. <https://doi.org/10.3791/53377>
- Balestrino, F., Schaffner, F., La Forgia, D., Paslaru, A., Torgerson, P., Mathis, A., & Veronesi, E. (2016). Field evaluation of baited traps for surveillance of *Aedes japonicus japonicus* in Switzerland. *Medical and veterinary entomology*, 30, 64-72. <https://doi.org/10.1111/mve.12152>
- Batz, Z. A., & Armbruster, P. A. (2018). Diapause-associated changes in the lipid and metabolite profiles of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*. *Journal of Experimental Biology*, 221(24). <https://doi.org/10.1242/jeb.189480>

- Bock, F., Kuch, U., Pfenninger, M., & Müller, R. (2015). Standardized Laboratory Feeding of Larval *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Insect Science (Online)*, 15. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iev126>
- Bova, J., Soghigian, J., & Paulson, S. (2019). The prediapause stage of *Aedes japonicus japonicus* and the evolution of embryonic diapause in Aedini. *Insects*, 10(8), 222. <https://doi.org/10.3390/insects10080222>
- Branson, K., Robie, A., Bender, J., Perona, P., & Dickinson, M. (2009). High-throughput Ethomics in Large Groups of *Drosophila*. *Nature methods*, 6(6), 451-457. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1328>
- Briegel, H., Knüsel, I., & Timmermann, S. E. (2001). *Aedes aegypti* : Size, reserves, survival, and flight potential. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 26(1), 21-31.
- Briegel, H., & Timmermann, S. E. (2001). *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae) : Physiological aspects of development and reproduction. *Journal of Medical Entomology*, 38(4), 566-571. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.4.566>
- Briegel, H., Waltert, A., & Kuhn, A. R. (2001). Reproductive physiology of *Aedes* (Aedimorphus) *vexans* (Diptera : Culicidae) in relation to flight potential. *Journal of Medical Entomology*, 38(4), 557-565. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.4.557>
- Cailly, P., Tran, A., Balenghien, T., L'Ambert, G., Toty, C., & Ezanno, P. (2012). Climate-driven abundance model to assess mosquito control strategies. *Ecological Modelling*, 227, 7-17. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2011.10.027>
- Castro, L. A., Peterson, J. K., Saldaña, A., Perea, M. Y., Calzada, J. E., Pineda, V., Dobson, A. P., & Gottdenker, N. L. (2014). Flight behavior and performance of *Rhodnius pallescens* (Hemiptera : Reduviidae) on a tethered Flight Mill. *Journal of Medical Entomology*, 51(5), 1010-1018. <https://doi.org/10.1603/ME14014>
- Christophers, S. R. (1960). *Aedes aegypti* (L.) the yellow fever mosquito; its life history, bionomics, and structure. University Press.
- Crowl, T. A., Crist, T. O., Parmenter, R. R., Belovsky, G., & Lugo, A. E. (2008). The spread of invasive species and infectious disease as drivers of ecosystem change. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(5), 238-246. <https://doi.org/10.1890/070151>

- Cunze, S., Koch, L. K., Kochmann, J., & Klimpel, S. (2016). *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus*—Two invasive mosquito species with different temperature niches in Europe. *Parasites & Vectors*, *9*(1), 573. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1853-2>
- Cunze, S., Kochmann, J., & Klimpel, S. (2019). Global occurrence data improve potential distribution models for *Aedes japonicus japonicus* in non-native regions. *Pest Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.5710>
- Delatte, H., Dehecq, J. s., Thiria, J., Domerg, C., Paupy, C., & Fontenille, D. (2008). Geographic distribution and developmental sites of *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae) during a Chikungunya epidemic event. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *8*(1), 25-34. <https://doi.org/10.1089/vbz.2007.0649>
- Delatte, H., Gimonneau, G., Triboire, A., & Fontenille, D. (2009). Influence of temperature on immature development, survival, longevity, fecundity, and gonotrophic cycles of *Aedes albopictus*, vector of chikungunya and dengue in the Indian Ocean. *Journal of Medical Entomology*, *46*(1), 33-41. <https://doi.org/10.1603/033.046.0105>
- Egizi, A., & Fonseca, D. M. (2015). Ecological limits can obscure expansion history : Patterns of genetic diversity in a temperate mosquito in Hawaii. *Biological Invasions*, *17*(1), 123-132. <https://doi.org/10.1007/s10530-014-0710-5>
- Früh, L., Kampen, H., Koban, M. B., Pernat, N., Schaub, G. A., & Werner, D. (2020). Oviposition of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) and associated native species in relation to season, temperature and land use in western Germany. *Parasites & Vectors*, *13*(1), 623. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04461-z>
- Geissmann, Q., Garcia Rodriguez, L., Beckwith, E. J., French, A. S., Jamasb, A. R., & Gilestro, G. F. (2017). Ethoscopes : An open platform for high-throughput ethomics. *PLoS Biology*, *15*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003026>
- Hahn, N. G., Hwang, M. C., & Hamilton, G. C. (2017). Circuitry and coding used in a Flight Mill system to study flight performance of *Halyomorpha halys* (Hemiptera : Pentatomidae). *Florida Entomologist*, *100*, 195-198. <https://doi.org/10.1653/024.100.0133>
- Hardstone, M. C., & Andreadis, T. G. (2012). Weak larval competition between the invasive mosquito *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) and three resident

- container-inhabiting mosquitoes in the laboratory. *Journal of Medical Entomology*, 49(2), 277-285.
- Hoshino, K., Isawa, H., Tsuda, Y., & Kobayashi, M. (2010). Laboratory colonization of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) collected in Narita, Japan and the biological properties of the established colony. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 63(6), 401-404.
- Iriarte, W. L. Z., Tsuda, Y., Wada, Y., & Takagi, M. (1991). Distribution of Mosquitoes on a Hill of Nagasaki City, with Emphasis to the Distance from Human Dwellings. *熱帯医学 Tropical medicine*, 33(3), 55-60.
- Jia, P., Lu, L., Chen, X., Chen, J., Guo, L., Yu, X., & Liu, Q. (2016). A climate-driven mechanistic population model of *Aedes albopictus* with diapause. *Parasites & Vectors*, 9, 175. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1448-y>
- Kaufmann, C., Collins, L. F., & Brown, M. R. (2013). Influence of age and nutritional status on flight performance of the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae). *Insects*, 4(3), 404-412. <https://doi.org/10.3390/insects4030404>
- Kerkow, A., Wieland, R., Koban, M. B., Hölker, F., Jeschke, J. M., Werner, D., & Kampen, H. (2019). What makes the Asian bush mosquito *Aedes japonicus japonicus* feel comfortable in Germany ? A fuzzy modelling approach. *Parasites & Vectors*, 12(1), 106. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3368-0>
- Krupa, E., Henon, N., & Mathieu, B. (2021). Diapause characterisation and seasonality of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera, Culicidae) in the northeast of France. *Parasite*, 28, 45. <https://doi.org/10.1051/parasite/2021045>
- Lacour, G., Chanaud, L., L'Ambert, G., & Hance, T. (2015a). Seasonal Synchronization of Diapause Phases in *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae). *PloS One*, 10(12), e0145311. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145311>
- Lacour, G., Chanaud, L., L'Ambert, G., & Hance, T. (2015b). Seasonal Synchronization of Diapause Phases in *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae). *PloS One*, 10(12), e0145311. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145311>
- Lacour, G., Vernichon, F., Cadilhac, N., Boyer, S., Lagneau, C., & Hance, T. (2014a). When mothers anticipate : Effects of the prediapause stage on embryo development time

- and of maternal photoperiod on eggs of a temperate and a tropical strains of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Insect Physiology*, *71*, 87-96.
<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.10.008>
- Lacour, G., Vernichon, F., Cadilhac, N., Boyer, S., Lagneau, C., & Hance, T. (2014b). When mothers anticipate : Effects of the prediapause stage on embryo development time and of maternal photoperiod on eggs of a temperate and a tropical strains of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Insect Physiology*, *71*, 87-96.
<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.10.008>
- Lebon, C., Soupapoule, K., Wilkinson, D. A., Le Goff, G., Damiens, D., & Gouagna, L. C. (2018). Laboratory evaluation of the effects of sterilizing doses of γ -rays from Caesium-137 source on the daily flight activity and flight performance of *Aedes albopictus* males. *PLoS One*, *13*(8), e0202236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202236>
- Lounibos, L. P., Escher, R. L., & Lourenço-De-Oliveira, R. (2003). Asymmetric Evolution of Photoperiodic Diapause in Temperate and Tropical Invasive Populations of *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae). *Annals of the Entomological Society of America*, *96*(4), 512-518. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2003\)096\[0512:AEOPDI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2003)096[0512:AEOPDI]2.0.CO;2)
- Lutambi, A. M., Penny, M. A., Smith, T., & Chitnis, N. (2013). Mathematical modelling of mosquito dispersal in a heterogeneous environment. *Mathematical Biosciences*, *241*(2), 198-216. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2012.11.013>
- Medley, K. A., Westby, K. M., & Jenkins, D. G. (2019). Rapid local adaptation to northern winters in the invasive Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* : A moving target. *Journal of Applied Ecology*, *56*(11), 2518-2527. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13480>
- Meuti, M. E., Stone, M., Ikeno, T., & Denlinger, D. L. (2015). Functional circadian clock genes are essential for the overwintering diapause of the Northern house mosquito, *Culex pipiens*. *The Journal of Experimental Biology*, *218*(3), 412-422.
<https://doi.org/10.1242/jeb.113233>
- Michalakis, Y., & Hochberg, M. E. (1994). Parasitic effects on host life-history traits : A review of recent studies. *Parasite*, *1*(4), 291-294.
<https://doi.org/10.1051/parasite/1994014291>

- Minter, M., Pearson, A., Lim, K.-S., Wilson, K., Chapman, J., & Jones, C. (2018). The tethered flight technique as a tool for studying life-history strategies associated with migration in insects : Tethered flight for studying insect movement. *Ecological Entomology*, *43*. <https://doi.org/10.1111/een.12521>
- Mori, A., Oda, T., & Wada, Y. (1981). Studies on the egg diapause and overwintering of *Aedes albopictus* in Nagasaki. *Trop. Med.*, *23*.
- Müller, P., Engeler, L., Vavassori, L., Suter, T., Guidi, V., Gschwind, M., Tonolla, M., & Flacio, E. (2020). Surveillance of invasive *Aedes* mosquitoes along Swiss traffic axes reveals different dispersal modes for *Aedes albopictus* and *Ae. Japonicus*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *14*(9), e0008705. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008705>
- Murrell, E. G., Noden, B. H., & Juliano, S. A. (2015). Contributions of temporal segregation, oviposition choice, and non-additive effects of competitors to invasion success of *Aedes japonicus* (Diptera : Culicidae) in North America. *Biological Invasions*, *17*(6), 1669-1681. <https://doi.org/10.1007/s10530-014-0824-9>
- Patman, J., Michael, S., Lutnesky, M., & Palaniappan, K. (2018, novembre 25). *BioSense : Real-Time Object Tracking for Animal Movement and Behavior Research*.
- Pérez-Escudero, A., Vicente-Page, J., Hinz, R. C., Arganda, S., & de Polavieja, G. G. (2014). idTracker : Tracking individuals in a group by automatic identification of unmarked animals. *Nature Methods*, *11*(7), 743-748. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2994>
- Reinhold, J. M., Lazzari, C. R., & Lahondère, C. (2018). Effects of the Environmental Temperature on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Mosquitoes : A Review. *Insects*, *9*(4), 158. <https://doi.org/10.3390/insects9040158>
- Reuss, F., Wieser, A., Niamir, A., Bálint, M., Kuch, U., Pfenninger, M., & Müller, R. (2018). Thermal experiments with the Asian bush mosquito (*Aedes japonicus japonicus*) (Diptera : Culicidae) and implications for its distribution in Germany. *Parasites & Vectors*, *11*(1), 81. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2659-1>
- Reynolds, J. A., Poelchau, M. F., Rahman, Z., Armbruster, P. A., & Denlinger, D. L. (2012). Transcript profiling reveals mechanisms for lipid conservation during diapause in the mosquito, *Aedes albopictus*. *Journal of Insect Physiology*, *58*(7), 966-973. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2012.04.013>

- Roche, B., Léger, L., L'Ambert, G., Lacour, G., Foussadier, R., Besnard, G., Barré-Cardi, H., Simard, F., & Fontenille, D. (2015). The Spread of *Aedes albopictus* in Metropolitan France : Contribution of Environmental Drivers and Human Activities and Predictions for a Near Future. *PLOS ONE*, *10*(5), e0125600.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125600>
- Rochlin, I., Gaugler, R., Williges, E., & Farajollahi, A. (2013). The rise of the invasives and decline of the natives : Insights revealed from adult populations of container-inhabiting *Aedes* mosquitoes (Diptera: Culicidae) in temperate North America. *Biological Invasions*, *15*(5), 991-1003. <https://doi.org/10.1007/s10530-012-0345-3>
- Rodriguez, A., Zhang, H., Klaminder, J., Brodin, T., Andersson, P., & Andersson, M. (2018). ToxTrac : A fast and robust software for tracking organisms. *Methods in Ecology and Evolution*, *9*, 460–464. <https://doi.org/10.1111/2041-210x.12874>
- Rowley, W., L. Graham, C., & E. Williams, R. (1967). *Laboratory studies of mosquito flight : A Flight Mill system*. 22.
- Schaffner, F., Bellini, R., Petrić, D., Scholte, E.-J., Zeller, H., & Rakotoarivony, L. (2013). Development of guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe. *Parasites & Vectors*, *6*. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-209>
- Schönenberger, A., Wagner, S., Tuten, H., Schaffner, F., Torgerson, P., Furrer, S., Mathis, A., & Silaghi, C. (2016). Host preferences in host-seeking and blood-fed mosquitoes in Switzerland. *Medical and veterinary entomology*, *30*, 39-52.
<https://doi.org/10.1111/mve.12155>
- Sim, C., Kang, D. S., Kim, S., Bai, X., & Denlinger, D. L. (2015). Identification of FOXO targets that generate diverse features of the diapause phenotype in the mosquito *Culex pipiens*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(12), 3811-3816. <https://doi.org/10.1073/pnas.1502751112>
- Somboon, P., & Suwonkerd, W. (1997). Establishment of a stenogamous colony of *Anopheles minimus* species A. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, *91*(6), 673-676.
- Stuart, P., Paredis, L., Henttonen, H., Lawton, C., Ochoa Torres, C. A., & Holland, C. V. (2020). The hidden faces of a biological invasion : Parasite dynamics of invaders and natives.

- International Journal for Parasitology*, 50(2), 111-123.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.11.003>
- Tanaka, K., Mizusawa, K., & Saugstad, E. S. (1979). A revision of the adult and larval mosquitoes of Japan (including the Ryukyu Archipelago and the Ogasawara Islands) and Korea (Diptera : Culicidae). *Contributions of the American Entomological Institute*, 16, vii 1–987.
- Tauber, M. J., Tauber, C. A., & Masaki, S. (1986). *Seasonal Adaptations of Insects*. Oxford University Press.
- Trájer, A., Hammer, T., Kacsala, I., Tánczos, B., Bagi, N., & Padisák, J. (2017). Decoupling of Active and Passive Reasons for the Invasion Dynamics of *Aedes albopictus* Skuse (Diptera : Culicidae) : Comparisons of Dispersal History in the Apennine and Florida Peninsulas. *Journal of Vector Ecology*, 42(2), 233-242.
<https://doi.org/10.1111/jvec.12263>
- Tran, A., L'Ambert, G., Lacour, G., Benoît, R., Demarchi, M., Cros, M., Cailly, P., Aubry-Kientz, M., Balenghien, T., & Ezanno, P. (2013). A rainfall- and temperature-driven abundance model for *Aedes albopictus* populations. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(5), 1698-1719.
<https://doi.org/10.3390/ijerph10051698>
- Urbanski, J. M., Aruda, A., & Armbruster, P. (2010). A transcriptional element of the diapause program in the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*, identified by suppressive subtractive hybridization. *Journal of Insect Physiology*, 56(9), 1147-1154.
<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2010.03.008>
- Urbanski, J. M., Benoit, J. B., Michaud, M. R., Denlinger, D. L., & Armbruster, P. (2010). The molecular physiology of increased egg desiccation resistance during diapause in the invasive mosquito, *Aedes albopictus*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1694), 2683-2692. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0362>
- Vavassori, L., Saddler, A., & Müller, P. (2019). Active dispersal of *Aedes albopictus* : A mark-release-recapture study using self-marking units. *Parasites & Vectors*, 12(1), 583.
<https://doi.org/10.1186/s13071-019-3837-5>

- Verdonschot, P., & Besse-Lototskaya, A. (2014). Flight distance of mosquitoes (*Culicidae*) : A metadata analysis to support the management of barrier zones around rewetted and newly constructed wetlands. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, 45, 69-79. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2013.11.002>
- Verhulst, N. O., Loonen, J. A., & Takken, W. (2013). Advances in methods for colour marking of mosquitoes. *Parasites & Vectors*, 6(1), 200. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-200>
- Versteirt, V., Schaffner, F., Garros, C., Dekoninck, W., Coosemans, M., & Van Bortel, W. (2009). Introduction and establishment of the exotic mosquito species *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in Belgium. *Journal of medical entomology*, 46, 1464-1467. <https://doi.org/10.1603/033.046.0632>
- Wieser, A., Reuss, F., Niamir, A., Müller, R., O'Hara, R. B., & Pfenninger, M. (2019). Modelling seasonal dynamics, population stability, and pest control in *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae). *Parasites & Vectors*, 12(1), 142. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3366-2>
- Wilkerson, R. C., Linton, Y.-M., & Strickman, D. (2021). *Mosquitoes of the World*. Johns Hopkins University Press. <https://www.bookdepository.com/Mosquitoes-World-Volumes-1-2-Richard-C-Wilkerson/9781421438146>
- Wilkinson, D. A., Lebon, C., Wood, T., Rosser, G., & Gouagna, L. C. (2014). Straightforward multi-object video tracking for quantification of mosquito flight activity. *Journal of Insect Physiology*, 71, 114-121. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.10.005>
- Williges, E., Farajollahi, A., Scott, J. J., McCuiston, L. J., Crans, W. J., & Gaugler, R. (2008). Laboratory colonization of *Aedes japonicus japonicus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24(4), 591-593. <https://doi.org/10.2987/5714.1>

TIGER

ENSEMBLE CONTRE LE MOUSTIQUE TIGRE | GEMEINSAM GEGEN DIE TIGERMÜCKE



Current distribution of invasive *Aedes* mosquitoes in the Upper Rhine Valley

Eva KRUPA^a, Xenia AUGSTEN^b, Christelle BENDER^c, Philippe BINDLER^d, Martin GSCHWIND^{e,f}, Klaus HOFFMANN^g, Ann-Christin HONNEN^{e,f}, Artur JÖST^{b,g}, Anaïs KOPF^a, Françoise PFIRSCH^c, Wolf-Peter PFITZNER^g, Björn PLUSKOTA^{b,g}, Olivier POMPIER^c, Olivia RENOUX^c, Francis SCHAFFNER^h, Laura VAVASSORI^{e,f}, Guido VOGELⁱ, Pie MÜLLER^{e,f}, Norbert BECKER^{b,g}, Bruno MATHIEU^{a*}

^a Institute of Parasitology and Tropical Pathology (IPPTS), University of Strasbourg, EA7292, Strasbourg, FRANCE; ^b Institut für Dipterologie, Gesellschaft zur Förderung der Stechmückenbekämpfung e.V. (GFS), Speyer, GERMANY; ^c Syndicat de lutte contre les moustiques du Bas-Rhin (SLM67), Lauterbourg, FRANCE; ^d Brigade verte du Haut-Rhin, Sultz, FRANCE; ^e Swiss Tropical and Public Health Institute (Swiss TPH), Basel, SWITZERLAND; ^f University of Basel, Basel, SWITZERLAND; ^g Kommunale Aktionsgemeinschaft zur Bekämpfung der Schnakenplage e.V. (KABS), Speyer, GERMANY; ^h Francis Schaffner Consultancy, Mabritec SA, Riehen, SWITZERLAND; ⁱ Mabritec SA, Riehen, SWITZERLAND.

ABSTRACT

The Upper Rhine Valley extends across three countries (France, Germany and Switzerland) and has been colonised by *Aedes albopictus* (Skuse) since 2014. Two additional invasive mosquito species *Ae. japonicus* (Theobald) and *Ae. koreicus* (Edwards) have also recently been recorded. Due to (i) the similar exposure to invasive mosquitoes and (ii) the wish to address the issue at the cross-border level to improve surveillance and prevention, experts from the **three neighbouring countries initiated the TIGER project**, the Tri-national Initiative Group of Entomology in the Upper Rhine Valley.

Within the framework of the operational programme INTERREG V Upper Rhine, the TIGER project aims to provide scientific and technical support to administrations and institutions for the evaluation and management of health risks related to invasive mosquitoes. At the surveillance level, this means standardisation of a cross-border ovitrap network and real-time sharing of the collected data.

Here, we present the latest data on the distribution of invasive *Aedes* species in the Upper Rhine Valley.

Current distribution of invasive *Aedes* species in the Upper Rhine Valley from April to August 2018.



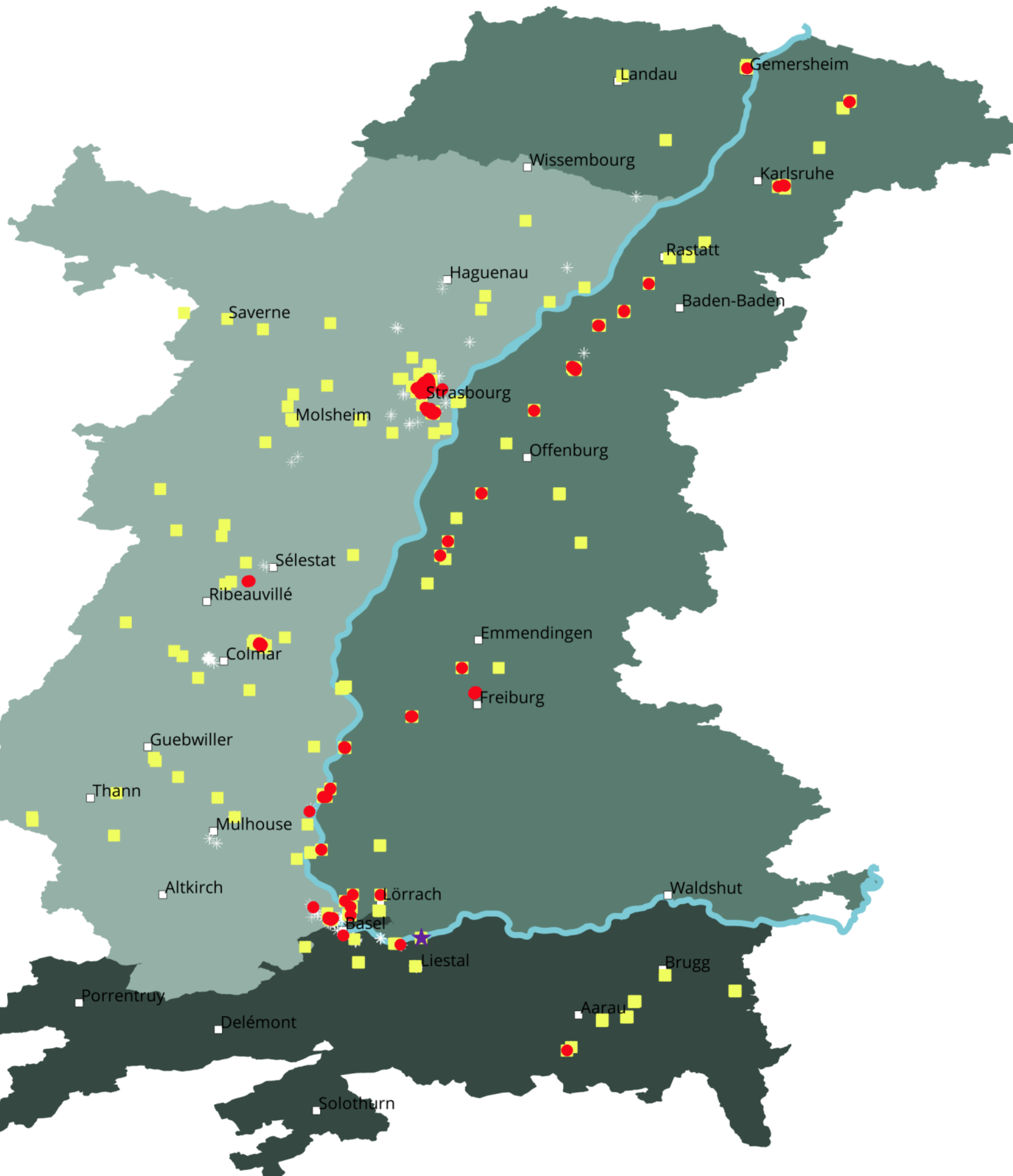
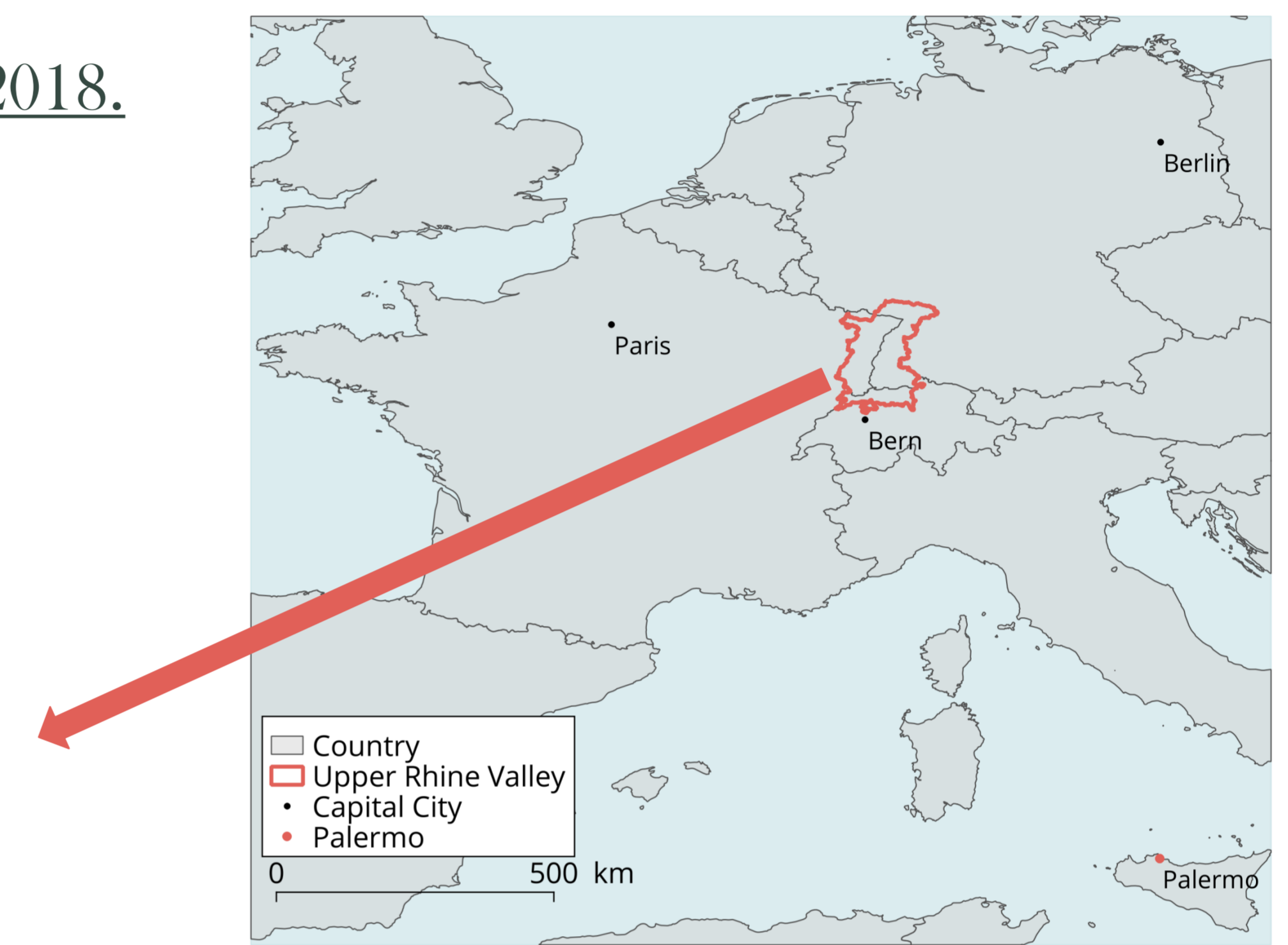
Ae. albopictus



Ae. japonicus



Ae. koreicus



HOW DOES THE NETWORK WORK ?

Each species is mainly recorded by collecting **eggs** and through **reports from the citizens**. Each country has its own **trapping network**. Eggs are collected with **ovitrap**s consisting of a black, water-filled pot with either a wooden stick (Germany and Switzerland) or a block of polystyrene (France). Since the 2018 mosquito breeding season the ovitraps have been collected simultaneously in all participating countries within the TIGER network. **Eggs are morphologically identified** to species level and a subset is confirmed using a **mass-spectrometry approach** (MALDI-TOF MS).



TAKE HOME MESSAGE

Aedes japonicus is the **most widely spread invasive mosquito** in the Upper Rhine Valley.

Despite the fact that *Aedes albopictus* is found in the three neighbouring countries, **colonised areas are limited** to some cities and areas near motorways.

Aedes koreicus has been found for the **first time** in the region through only one ovitrap was positive in Switzerland. Since this species is morphologically similar to *Aedes japonicus* careful identification should be performed.

Having an up-to-date map of the distribution of invasive mosquito species helps local administrations to continuously monitor potential health risks.

FUNDING AND ACKNOWLEDGMENTS

TIGER is supported by the European Regional Development Fund of the European Union, the Interreg V programme Upper Rhine Valley, the Swiss Confederation, Canton of Basel-Stadt, Canton of Basel-Landschaft, Canton of Aargau and Canton of Aargau Swisslos. Thanks to the administrative district Lörrach, City of Karlsruhe, City of Freiburg im Breisgau and Canton of Basel-Stadt for additional monitoring project. Thanks to TIGER member Nicolas HENON for pictures.

Negative trap:

Positive trap for:

*** No invasive mosquito species • *Aedes albopictus* ■ *Aedes japonicus* ☆ *Aedes koreicus*

0 10 20 km

FRANCE GERMANY SWITZERLAND Rhine City



FOR MORE INFORMATION

please contact us at info@tiger-platform.eu or visit www.tiger-platform.eu

Annexe 2. Article scientifique : Krupa et al. (2020), Progression du moustique tigre en France : surveillance transfrontalière dans le Grand-Est.

L'article n'étant pas disponible en Open Access, seul le résumé est présenté en page suivante.

Citation :

Krupa E., Schaffner F., Bender C., & Mathieu B. 2020. *Progression du moustique tigre en France : surveillance transfrontalière dans le Grand-Est.* Revue Francophone des Laboratoires. 2020. 53-61. 10.1016/S1773-035X(20)30231-8.

Progression du moustique tigre en France : surveillance transfrontalière dans le Grand-Est

Eva Krupa¹, Francis Schaffner², Christelle Bender³, Bruno Mathieu^{1,*}

1 Institut de parasitologie et de pathologie tropicale, université de Strasbourg, UR7292, 3 Rue Koeberlé, 67000 Strasbourg, France.

2 Francis Schaffner Consultancy, Mabritec SA, Lörracherstrasse 50, 4125 Riehen, Canton de Bâle, Suisse.

3 Syndicat de lutte contre les moustiques du Bas-Rhin (SLM67), 19-21 rue de la Première-Armée, 67630 Lauterbourg, France.

*Auteur correspondant : bmathieu@unistra.fr (B. Mahtieu).

RÉSUMÉ

En plus d'être vecteur des virus du chikungunya, de la dengue et du Zika, le moustique tigre asiatique, *Aedes albopictus*, est également l'une des espèces les plus invasives au monde. Ainsi ses caractéristiques biologiques (œufs résistants et diapausants) et comportementale (suivre l'Homme dans les véhicules) lui ont permis de coloniser tous les continents grâce au transport passif par le commerce international et les déplacements humains.

Les moustiques invasifs dont *Ae. albopictus* font l'objet d'une surveillance entomologique à l'échelle locale, nationale et internationale. Les réseaux de pièges pondoires et les signalements citoyens ont permis de suivre l'évolution de sa colonisation. Installé en Europe depuis trente ans, le moustique tigre a colonisé la France dès 2004 et le département du Bas-Rhin en 2014. Ce dernier département fait partie de la région transfrontalière franco-germano-suisse du Rhin Supérieur. Les moustiques invasifs ne connaissant pas la notion de frontière, cette problématique a présenté tous les atouts pour une collaboration européenne à une échelle régionale transfrontalière. Le réseau commun de surveillance (Interreg, Tiger) permet notamment de suivre l'évolution des trois moustiques invasifs détectés dans la région : *Ae. albopictus*, *Ae. japonicus* et *Ae. koreicus*. Dans le cas d'une région frontalière, l'intégration du niveau européen pour la surveillance et le contrôle est un atout majeur dans la gestion de la problématique des vecteurs d'arboviroses.

ABSTRACT

Asian tiger mosquito progression in France : cross-border surveillance in Grand-Est région

Vector of chikungunya, dengue and zika viruses, the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* is also one of the most invasive species in the world. Due to its both biological (resistant and diapausing eggs) and behavioural (following human in their vehicles) characteristics, the tiger mosquito has quickly colonised the whole World through passive dispersal via international trade and travel.

Therefore, the invasive mosquitoes including *Ae. albopictus* are tracked by entomological surveillances at local, national and international scales. The use of ovitraps and citizen reports allows experts to monitor the evolution of its colonisation. Over the last 30 years, the tiger mosquito has established in Europe and settled in France since 2004. Ten years later, it has been detected in the administrative unit of Bas-Rhin (France) which is part of the Upper Rhine valley, a wider area spanning France, Germany and Switzerland. As no administrative borders can prevent invasive mosquitoes' colonisation, this issue has brought together assets of a European collaboration at a cross border scale. Thereby, the common tri-national surveillance network (Interreg, TIGER) enables the colonisation monitoring of the three invasive mosquito species already detected on both sides of borders: *Ae. albopictus*, *Ae. japonicus* and *Ae. koreicus*. Considering a cross-border area, integrating the European scale for vector monitoring and control is thus a major asset to the issue of arboviruses vectors.

MOTS CLÉS

- Europe
- France
- moustique tigre
- piège pondoire
- surveillance

KEYWORDS

- Asian tiger mosquito
- Europe
- France
- ovitraps
- surveillance

Annexe 3. Photographies d'*Aedes japonicus*



Figure 26. Larve d'*Ae. japonicus*. Stade L1. Crédit photo : Eva Krupa.



Figure 27. Larve d'*Ae. japonicus*. Stade L4. Crédit photo : Nicolas Henon.



Figure 28. Nympe d'*Ae. japonicus*. Crédit photo : Nicolas Henon.



Figure 29. Emergence d'un *Ae. japonicus*. Crédit photo : Nicolas Henon.



Figure 30. Femelle d'*Ae. japonicus* en train de prendre son repas de sang sur un humain. Crédit photo : Nicolas Henon.

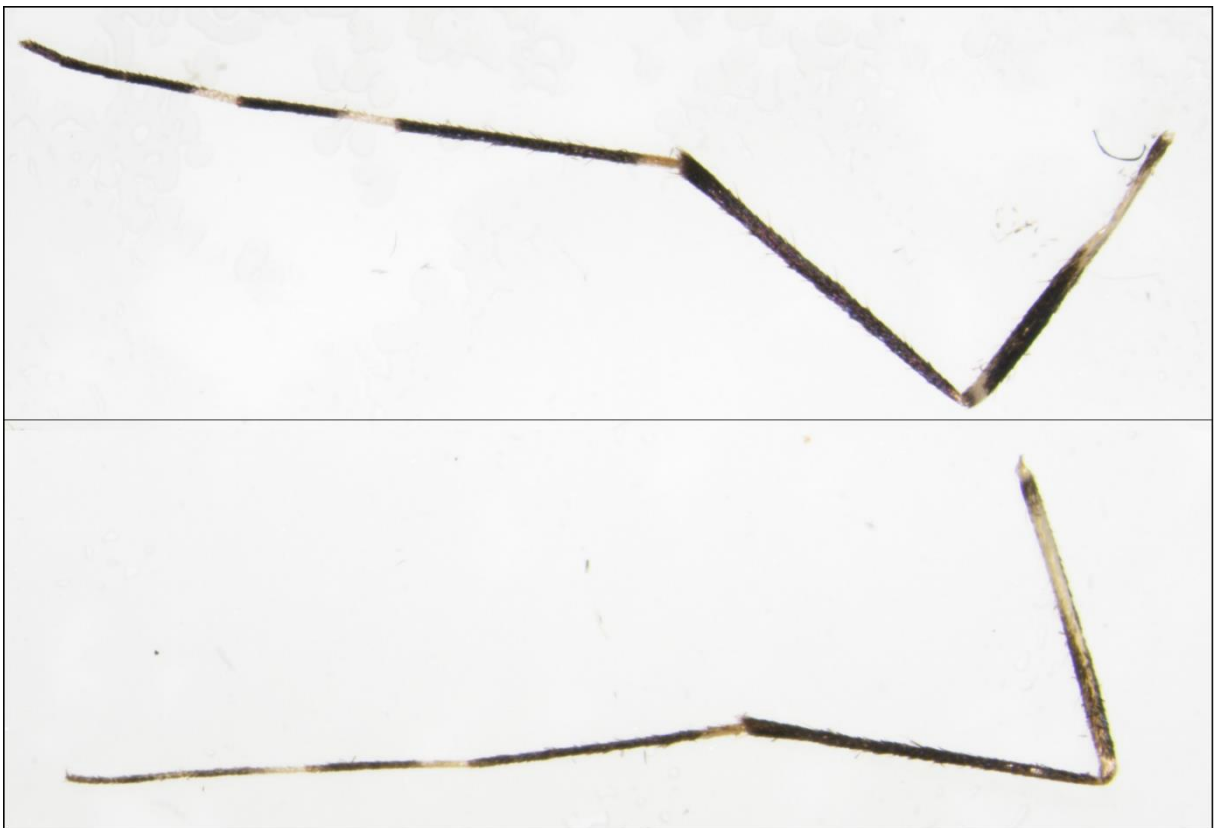


Figure 31. Pattes postérieures de pattes de différents mâles d'*Ae. japonicus*. Crédit photo : Eva Krupa

Annexe 4. Références bibliographiques de la colonisation de l'Amérique du Nord d'*Ae. japonicus*.

L'abréviation « USA » est utilisée pour désigner les Etats-Unis d'Amérique.

Les données sont classées par ordre chronologique de la première observation de colonisation par *Ae. japonicus*. La référence de l'article correspondant à la date de première colonisation avérée dans l'état.

Tableau 10. Première détection d'*Ae. japonicus* dans les différents états d'Amérique du Nord.

Année	Pays	Etats	Référence
1998	USA	Connecticut	(Andreadis et al., 2001)
1998	USA	New Jersey	(Peyton et al., 1999)
1998	USA	New York	(Peyton et al., 1999)
1999	USA	Ohio	(<i>ProMED: Mosquito, imported – USA (South Dakota), 2009</i>)
1999	USA	Pennsylvanie	(Fonseca et al., 2001)
1999	USA	Rhode Island	(Scott, 2003)
2000	USA	Maryland	(Sardelis & Turell, 2001)
2000	USA	Massachussets	(<i>Central Massachusetts Mosquito Control Project: Discovery of new mosquito species in Massachusetts., 2000</i>)
2000	USA	New Hampshire	(Burger & Davis, 2008)
2000	USA	Virginie	(Harrison et al., 2002)
2001	CANADA	Ontario	(Thielman & Hunter, 2006)
2001	CANADA	Quebec	(Savignac et al., 2002)
2001	USA	Delaware	(Scott, 2003)
2001	USA	Maine	(Foss & Dearnborn, 2002)
2001	USA	Vermont	(Graham & Turmel, 2001)
2001	USA	Washington	(Roppo et al., 2004)

2002	USA	Georgie	(Reeves & Korecki, 2004)
2002	USA	Caroline du Sud	(Reeves & Korecki, 2004)
2002	USA	Virginie de l'Ouest	(Joy, 2004)
2003	USA	Hawaii	(Larish & Savage, 2005)
2003	USA	Kentucky	(Saenz et al., 2006)
2003	USA	Michigan	(Kaufman et al., 2012)
2003	USA	Caroline du Nord	(Gray et al., 2005)
2003	USA	Tennessee	(Caldwell et al., 2005)
2004	USA	Alabama	(Mullen, 2005)
2004	USA	Indiana	(Moberly et al., 2005; Young et al., 2004)
2004	USA	Wisconsin	(Hughes et al., 2008)
2005	USA	Appalachians	(Bevins, 2007)
2005	USA	Missouri	(Gallitano et al., 2005)
2006	USA	Illinois	(Morris et al., 2007)
2006	USA	Oregon	(Wirth, 2006)
2007	USA	Iowa	(Dunphy et al., 2009)
2007	USA	Minnesota	(Neitzel et al., 2009)
2009	USA	Dakota du Sud	(<i>ProMED: Mosquito, imported – USA (South Dakota), 2009</i>)
2010	USA	Arkansas	(Gaspar et al., 2012)
2011	USA	Mississippi	(Thorn et al., 2012)
2012	USA	Floride	(Riles et al., 2017)
2013	CANADA	Terre-neuve-et-Labrador	(A. Fielden et al., 2015)
2014	CANADA	Colombie britannique	(Jackson et al., 2016)
2017	USA	Oklahoma	(Bradt et al., 2018)
2021	USA	Kansas	(Rogers et al., 2021)

Références

- A. Fielden, M., Chaulk, A., Carson, K., Wiersma, Y., Erbland, M., Whitney, H., & Chapman, T. (2015). *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) arrives at the most easterly point in North America. *The Canadian Entomologist*, 1, 1-4.
<https://doi.org/10.4039/tce.2015.5>
- Andreadis, T. G., Anderson, J. F., Munstermann, L. E., Wolfe, R. J., & Florin, D. A. (2001). Discovery, distribution, and abundance of the newly introduced mosquito *Ochlerotatus japonicus* (Diptera : Culicidae) in Connecticut, USA. *Journal of Medical Entomology*, 38(6), 774-779.
- Bevins, S. N. (2007). Establishment and abundance of a recently introduced mosquito species *Ochlerotatus japonicus* (Diptera : Culicidae) in the Southern Appalachians, USA. *Journal of Medical Entomology*, 44(6), 945-952.
- Bradt, D., Coburn, L., K. Bradley, K., & Noden, B. (2018). First record of *Aedes japonicus japonicus* in Oklahoma, 2017. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 34, 38-41. <https://doi.org/10.2987/17-6690.1>
- Burger, J. F., & Davis, H. (2008). Discovery of *Ochlerotatus japonicus japonicus* (Theobald) (Diptera : Culicidae) in Southern New Hampshire, U.S.A. and its subsequent increase in abundance in used tire casings. *Entomological News*, 119(5), 439-444.
<https://doi.org/10.3157/0013-872X-119.5.439>
- Caldwell, N. D., Gerhardt, R. R., & Jones, C. J. (2005). First collection of *Ochlerotatus japonicus japonicus* in the state of Tennessee. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21(3), 322-324. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2005\)21\[322:FCOOJJ\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2005)21[322:FCOOJJ]2.0.CO;2)

Central Massachusetts Mosquito Control Project : Discovery of new mosquito species in Massachusetts. (2000). <http://www.cmmcp.org/japonicus.pdf>

Dunphy, B. M., Tucker, B. J., Petersen, M. J., Blitvich, B. J., & Bartholomay, L. C. (2009). Arrival and establishment of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in Iowa. *Journal of Medical Entomology*, 46(6), 1282-1289. <https://doi.org/10.1603/033.046.0605>

Fonseca, D. M., Campbell, S., Crans, W. J., Mogi, M., Miyagi, I., Toma, T., Bullians, M., Andreadis, T. G., Berry, R. L., Pagac, B., Sardelis, M. R., & Wilkerson, R. C. (2001). *Aedes* (Finlaya) *japonicus* (Diptera : Culicidae), a newly recognized mosquito in the United States : Analyses of genetic variation in the United States and putative source populations. *Journal of Medical Entomology*, 38(2), 135-146. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.2.135>

Foss, A. F., & Dearnborn, R. G. (2002). *Preliminary faunistic survey of mosquito species (Diptera : Culicidae) with a focus on population densities and potential breeding sites in Greater Portland, Maine.* Maine Department of Conservation, Maine Forest Service, Forest Health & Monitoring Division, Augusta, Maine. Technical report No. 42. <http://www.state.me.us/doc/mfs/mosq1.pdf>

Gallitano, S., Blaustein, L., & Vonesh, J. (2005). First occurrence of *Ochlerotatus japonicus* in Missouri. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 30(2), 347-348.

Gaspar, J. P., McKay, T., & Huss, M. J. (2012). First report of *Aedes japonicus* in natural and artificial habitats in northeastern Arkansas. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 28(1), 38-42. <https://doi.org/10.2987/11-6196.1>

- Graham, A. C., & Turmel, J. (2001). *Distribution records of Vermont's' first introduced mosquito species, Ochlerotatus japonicus (Diptera : Culicidae)*. 121.
- Gray, E. W., Harrison, B. A., Womack, M. L., Kerce, J., Neely, C. J., & Noblet, R. (2005). *Ochlerotatus japonicus japonicus (Theobald) in Georgia and North Carolina. Journal of the American Mosquito Control Association, 21(2)*, 144-146.
[https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2005\)21\[144:OJITIG\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2005)21[144:OJITIG]2.0.CO;2)
- Harrison, B., Whitt, P. B., Cope, S. E., Payne, G. R., Rankin, S. E., Bohn, L. J., Stell, F. M., & Neely, C. J. (2002). Mosquitoes (Diptera : Culicidae) collected near the Great Dismal Swamp : New state records, notes on certain species, and a revised checklist for Virginia. *Proceedings Entomological Society Washington, Proc. Entomol. Soc. Wash.*, 655-662.
- Hughes, T. H., Irwin, P. M., Kaufman, A., Sage, H., Pagac, B. B., & Paskewitz, S. M. (2008). First records of *Aedes japonicus japonicus* in Wisconsin. *Journal of the American Mosquito Control Association, 24(4)*, 583-584. <https://doi.org/10.2987/5735.1>
- Jackson, M., Belton, P., McMahon, S., Hart, M., McCann, S., Azevedo, D., & Hurteau, L. (2016). The first record of *Aedes (Hulecoeteomyia) japonicus* (Diptera : Culicidae) and its establishment in Western Canada. *Journal of Medical Entomology, 53(1)*, 241-244.
<https://doi.org/10.1093/jme/tjv164>
- Joy, J. E. (2004). Larval mosquitoes in abandoned tire pile sites from West Virginia. *Journal of the American Mosquito Control Association, 20(1)*, 12-17.
- Kaufman, M. G., Stanuszek, W. W., Brouhard, E. A., Knepper, R. G., & Walker, E. D. (2012). Establishment of *Aedes japonicus japonicus* and its colonization of container habitats in Michigan. *Journal of Medical Entomology, 49(6)*, 1307-1317.

- Larish, L. B., & Savage, H. M. (2005). Introduction and establishment of *Aedes (Finlaya) japonicus japonicus* (Theobald) on the island of Hawaii : Implications for arbovirus transmission. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21(3), 318-321. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2005\)21\[318:IAEOAF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2005)21[318:IAEOAF]2.0.CO;2)
- Moberly, S. P., Lalor, C., McDonough, M., Foster, B., Estes, A., & Bentfield, D. J. (2005). Discovery of an exotic Asian mosquito, *Ochlerotatus japonicus*, (Diptera, Culicidae) in southern Indiana. *Proceedings of the Indiana Academy of Science*, 114(1), 62-64.
- Morris, J. A., Lampman, R. L., Ballmes, G., Funes, J., Halvorsen, J., & Novak, R. J. (2007). First record of *Aedes japonicus japonicus* in Illinois : Defining its spatial distribution and associated mosquito species. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(3), 243-251. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2007\)23\[243:FROAJJ\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2007)23[243:FROAJJ]2.0.CO;2)
- Mullen, G. R. (2005). *First report of Ochlerotatus japonicus in Alabama*. 15:2.
- Neitzel, D. F., Johnson, K. A., Brogren, S., & Kemperman, M. M. (2009). First collection records of *Aedes japonicus* in Minnesota. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 25(3), 367-369. <https://doi.org/10.2987/09-0015.1>
- Peyton, E. L., Campbell, S. R., Candeletti, T. M., Romanowski, M., & Crans, W. J. (1999). *Aedes (Finlaya) japonicus japonicus* (Theobald), a new introduction into the United States. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 15(2), 238-241.
- ProMED: Mosquito, imported – USA (South Dakota). (2009). Archive no. 20091022.3640. <http://www.promedmail.org>
- Reeves, W. K., & Korecki, J. A. (2004). *Ochlerotatus japonicus japonicus (Theobald) (Diptera : Culicidae), a new invasive mosquito for Georgia and South Carolina*. 106:233–234.

- Riles, M., P. Smith, J., D. Burkett-Cadena, N., Rutledge Connelly, C., & Byrd, B. (2017). First record of *Aedes japonicus* in Florida. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 33, 340-344. <https://doi.org/10.2987/17-6696.1>
- Rogers, D. C., Goldhammer, D. S., Garrison, I., & Cook, A. (2021). First record of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera : Culicidae) in Kansas. *Zootaxa*, 5040(4), 592-600. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.5040.4.10>
- Roppo, M. R., Lilja, J. L., Maloney, F. A., & Sames, W. J. (2004). First occurrence of *Ochlerotatus japonicus* in the state of Washington. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 20(1), 83-84.
- Saenz, V. L., Townsend, L. H., Vanderpool, R. M., Schardein, M. J., Trout, R. T., & Brown, G. C. (2006). *Ochlerotatus japonicus japonicus* in the state of Kentucky. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22(4), 754-755. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2006\)22\[754:OJJITS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2006)22[754:OJJITS]2.0.CO;2)
- Sardelis, M. R., & Turell, M. J. (2001). *Ochlerotatus j. Japonicus* in Frederick County, Maryland : Discovery, distribution, and vector competence for West Nile virus. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 17(2), 137-141.
- Savignac, R., Back, C., & Bourassa, J. (2002). Biological Notes on *Ochlerotatus japonicus* & other mosquito species new to Quebec. *Abstract number 16PS03*, 21-22.
- Scott, J. (2003). *The Ecology of the Exotic Mosquito Ochlerotatus (Finlay) japonicus japonicus (Theobald 1901)(Diptera : Culicidae) and an Examination of Its Role in the West Nile Virus Cycle in New Jersey*. https://www.academia.edu/1108510/The_Ecology_of_the_Exotic_Mosquito_Ochlero

tatus_Finlay_Japonicus_Japonicus_Theobald_1901_Diptera_Culicidae_and_an_Exami
nation_of_Its_Role_in_the_

Thielman, A., & Hunter, F. F. (2006). Establishment of *Ochlerotatus japonicus* (Diptera :
Culicidae) in Ontario, Canada. *Journal of Medical Entomology*, 43(2), 138-142.
<https://doi.org/10.1093/jmedent/43.2.138>

Thorn, M., Varnado, W. C., & Goddard, J. (2012). First record of *Aedes japonicus japonicus* in
Mississippi. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 28(1), 43-44.
<https://doi.org/10.2987/11-6204.1>

Wirth, C. M. (2006). *Ochlerotatus japonicus* found in Multnomah County. 35:4-5.

Young, C. L., Beery, J., Sheffer, R., & Rand, K. (2004). First record of *Ochlerotatus japonicus*
(Diptera : Culicidae) in St. Joseph County, Indiana. *The Great Lakes Entomologist*,
37(2). <https://scholar.valpo.edu/tgle/vol37/iss2/11>

Annexe 5. Colonisation de l'Europe par

Ae. japonicus.

Les données sont présentées par ordre chronologique par date de la première détection d'une colonisation par *Ae. japonicus*.

Tableau 11. Première détection d'*Ae. japonicus* dans les différents pays d'Europe.

Année	Pays	Détail de la localisation	Référence
2000	France	Normandie (éliminé)	(Schaffner et al., 2003)
2002	Belgique		(Versteirt et al., 2009)
2008	Allemagne	Baden Wurtemberg (Sud du Land – proche Suisse)	(Schaffner et al., 2009)
2008	Suisse	(zone de 1400 km ² proche de l'Allemagne)	(Schaffner et al., 2009)
2011	Allemagne	Baden Wurtemberg (Nord du Land)	(Huber et al., 2012)
2011	Autriche	Styrie (proche Slovénie)	(Seidel, Nowotny, et al., 2016)
2011	Slovénie		(Seidel, Nowotny, et al., 2016)
2012	Allemagne	Rhenanie Palatinat	(Werner & Kampen, 2013) (Kampen et al., 2012)

2012	Allemagne	Rhenanie du Nord (Sud du Land)	(Werner & Kampen, 2013) (Kampen et al., 2012)
2012	Autriche	Carinthie & Burgenland	(Seidel, Nowotny, et al., 2016)
2012	Hongrie		(Seidel, Nowotny, et al., 2016)
2013	Allemagne	Basse Saxe (Sud du Land) & Rhénanie du Nord (Nord-Est du Land)	(Werner & Kampen, 2013)
2013	Croatie		(Kampen & Werner, 2014; Klobucar et al., 2019) Update : (Janssen et al., 2020)
2013	France	Haut Rhin (68)	(Krebs et al., 2014)
2013	Pays Bas	Lelystad	(Ibañez-Justicia et al., 2014, 2018)
2014	Autriche	Basse-Autriche	(Zittra et al. 2017)
2014	Autriche	Vorarlberg	(Seidel, Montarsi, et al., 2016)
2014	France	Bas-Rhin (67)	(Krupa et al., 2020)
2015	Allemagne	Bavière	(Zielke et al., 2016)
2015	Autriche	Salzbourg	(Zielke et al., 2016)
2015	Italie		(Seidel, Montarsi, et al., 2016)

2015	Lichtenstein		(Seidel, Nowotny, et al., 2016)
2017	Autriche	Vienne	(Schoener et al., 2019)
2017	Bosnie-Herzégovine	Nord du Pays	(Janssen et al., 2020)
2018	Espagne		(Eritja et al., 2019)
2018	Serbie	Ouest du pays	(Janssen et al., 2020)
2019	Luxembourg		(Schaffner & Ries, 2019)

Références

- Eritja, R., Ruiz-Arrondo, I., Delacour-Estrella, S., Schaffner, F., Álvarez-Chachero, J., Bengoa, M., Puig, M.-Á., Melero-Alcíbar, R., Oltra, A., & Bartumeus, F. (2019). First detection of *Aedes japonicus* in Spain : An unexpected finding triggered by citizen science. *Parasites & Vectors*, *12*(1), 53. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3317-y>
- Huber, K., Pluskota, B., Jöst, A., Hoffmann, K., & Becker, N. (2012). Status of the invasive species *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in southwest Germany in 2011. *Journal of Vector Ecology*, *37*(2), 462-465. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2012.00252.x>
- Ibañez-Justicia, A., Kampen, H., Braks, M., Schaffner, F., Steeghs, M., Walther geb. Werner, D., Scheuch, D., den Hartog, W., Brooks, M. D., Dik, M., Van de Vossenbergh, B., & Scholte, E.-J. (2014). First report of established population of *Aedes japonicus japonicus*

- (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) in the Netherlands. *Journal of the European Mosquito Control Association*, 32, 9-13.
- Ibañez-Justicia, A., Teekema, S., den Hartog, W., Jacobs, F., Dik, M., & Stroo, A. (2018). The Effectiveness of Asian Bush Mosquito (*Aedes japonicus japonicus*) Control Actions in Colonised Peri-urban Areas in the Netherlands. *Journal of Medical Entomology*, 55(3), 673-680. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy002>
- Janssen, N., Graovac, N., Vignjević, G., Bogojević, M. S., Turić, N., Klobučar, A., Kavran, M., Petrić, D., Čupina, A. I., Fischer, S., Werner, D., Kampen, H., & Merdić, E. (2020). Rapid spread and population genetics of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in southeastern Europe (Croatia, Bosnia and Herzegovina, Serbia). *PLOS ONE*, 15(10), e0241235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241235>
- Kampen, H., & Werner, D. (2014). Out of the bush : The Asian bush mosquito *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) becomes invasive. *Parasites & Vectors*, 7, 59. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-59>
- Kampen, H., Zielke, D., & Werner, D. (2012). A new focus of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) distribution in Western Germany : Rapid spread or a further introduction event? *Parasites & Vectors*, 5, 284. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-284>
- Klobucar, A., Lipovac, I., Zagar, N., Mitrovic-Hamzic, S., Tesic, V., Vilibic-Cavlek, T., & Merdic, E. (2019). First record and spreading of the invasive mosquito *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in Croatia. *Medical and Veterinary Entomology*, 33(1), 171-176. <https://doi.org/10.1111/mve.12337>

- Krebs, T., Bindler, P., L'Ambert, G., Toty, C., Perrin, Y., & Jourdain, F. (2014). First establishment of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera : Culicidae) in France in 2013 and its impact on public health. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 39(2), 437-440. <https://doi.org/10.1111/jvec.12119>
- Krupa, E., Schaffner, F., Bender, C., & Mathieu, B. (2020). Progression du moustique tigre en France : Surveillance transfrontalière dans le Grand-Est. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(524), 53-61. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(20\)30231-8](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30231-8)
- Schaffner, F., Chouin, S., & Guilloteau, J. (2003). First record of *Ochlerotatus (Finlaya) japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in metropolitan France. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 19, 1-5.
- Schaffner, F., Kaufmann, C., Hegglin, D., & Mathis, A. (2009). The invasive mosquito *Aedes japonicus* in Central Europe. *Medical and Veterinary Entomology*, 23(4), 448-451. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2009.00825.x>
- Schaffner, F., & Ries, C. (2019). First evidence and distribution of the invasive alien mosquito *Aedes japonicus* (Theobald, 1901) in Luxembourg. *121*, 169–183.
- Schoener, E., Zित्रa, C., Weiss, S., Walder, G., Barogh, B. S., Weiler, S., & Fuehrer, H.-P. (2019). Monitoring of alien mosquitoes of the genus *Aedes* (Diptera : Culicidae) in Austria. *Parasitology Research*, 118(5), 1633-1638. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06287-w>
- Seidel, B., Montarsi, F., Huemer, H. P., Indra, A., Capelli, G., Allerberger, F., & Nowotny, N. (2016). First record of the Asian bush mosquito, *Aedes japonicus japonicus*, in Italy : Invasion from an established Austrian population. *Parasites & Vectors*, 9. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1566-6>

- Seidel, B., Nowotny, N., Bakonyi, T., Allerberger, F., & Schaffner, F. (2016). Spread of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in Austria, 2011–2015, and first records of the subspecies for Hungary, 2012, and the principality of Liechtenstein, 2015. *Parasites & Vectors*, 9. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1645-8>
- Versteirt, V., Schaffner, F., Garros, C., Dekoninck, W., Coosemans, M., & Van Bortel, W. (2009). Introduction and establishment of the exotic mosquito species *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in Belgium. *Journal of medical entomology*, 46, 1464-1467. <https://doi.org/10.1603/033.046.0632>
- Werner, D., & Kampen, H. (2013). The further spread of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera, Culicidae) towards northern Germany. *Parasitology Research*, 112(10), 3665-3668. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3564-3>
- Zielke, D. E., Walther, D., & Kampen, H. (2016). Newly discovered population of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in Upper Bavaria, Germany, and Salzburg, Austria, is closely related to the Austrian/Slovenian bush mosquito population. *Parasites & Vectors*, 9, 163. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1447-z>

Annexe 6. Protocole détaillée des extractions d'ADN et des PCR réalisées pour la phylogénie d'*Ae. japonicus*

Protocole d'extraction d'ADN

Le protocole est tiré de « DNeasy® Blood & Tissue Handbook » de Quiagen, disponible sous <https://www.qiagen.com/us/resources/download.aspx?id=68f29296-5a9f-40fa-8b3d-1c148d0b3030&lang=en>

Lyse des tissus

- La digestion enzymatique est réalisée à partir de 2 pattes d'*Ae. japonicus* placées dans un tube de 1,5 mL contenant 20µL de protéinase K et 180µL de Buffer ATL.
- Mélanger au vortex pendant 15 secondes.
- Incubation à 56°C pendant 1 heure.
- Mélanger au vortex pendant 15 secondes.

Récupération et purification de l'ADN total

- 200µL de Buffer AL sont ajoutés et mélangés au vortex.
- 200µL d'éthanol pur sont ajoutés et mélangés au vortex.
- L'ensemble du volume est transféré sur une colonne DNeasy Mini spin.
- Centrifugation à 8000 rotations par minute (rpm) pendant 60 secondes.
- L'éluant est retiré, la colonne est placée sur un nouveau tube de collection de 2 mL
- 500µL de Buffer AW1 sont ajoutés
- Centrifugation à 8000rpm pendant 60 secondes
- L'éluant est retiré, la colonne est placée sur un nouveau tube de collection de 2 mL
- 500µL de Buffer AW2 sont ajoutés
- Centrifugation à 14000rpm pendant 3 minutes pour sécher la colonne

- L'éluant est retiré, la colonne est placée sur un tube stérile de 1,5 mL qui réceptionnera l'ADN extrait

Elution de l'ADN

- 100 µL de Buffer AE est déposé sur la colonne et incubé pendant 1 minute à température ambiante
- Centrifugation à 8000rpm pendant 60 secondes

Protocole PCR

Chaque marqueur est ciblé par sa propre PCR.

Le volume réactionnel pour chaque PCR est de 25 µL avec pour composition :

- 1 µL ADN extrait
- 0,8mmol d'amorce sens selon le marqueur ciblé. Les amorces sont précisées dans le **Tableau 12.**
- 0,8mmol d'amorce antisens
- 0,2mmol de dNTP
- 2,5mmol de MgCl₂ (dont 1,5 mmol déjà présent dans le Tampon 10X)
- 2,5 µL de Tampon 10x
- 0,25 µL de TaqPolymerase
- qsp Eau

Tableau 12. Amorces utilisées.

Gène amplifié (partiel)	Amorce	Nom	Séquence 5' -> 3'	Référence
COI	Sens	LCO1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	(Folmer et al., 1994)
	Anti-sens	HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	(Folmer et al., 1994)
COII	Sens	C2-J-3138	AGCGCCTCTCCTTTAATAGAACA	(Simon et al., 1994)
	Anti-sens	C2-C-3661	CCACAAATTTCTGAACATTGACCA	(Simon et al., 1994)

NAD4	Sens	N4J-8502D	CGTAGGAGGAGCAGCTATATT	(Fonseca et al., 2001)
	Anti-sens	N4N-8944D	AAGGCTCATGTTGAAGCTCC	(Fonseca et al., 2001)

Pour le COI, une première étape de dénaturation à 95°C pendant 5 minutes, servant également d'étape d'activation de la TaqPolymerase (HotStart), est suivit de 40 cycles de 30 secondes à 94°C, de 30 secondes à 50°C et de 30 secondes à 72°C. Une élongation finale de 10 minutes à 72°C précède la conservation des échantillons à 10°C.

Pour COII et NAD4, une PCR Touch-up est réalisée. L'étape de dénaturation a lieu à 95°C pendant 5 minutes pour ces deux marqueurs. Pour COII, 5 cycles de 40 secondes à 94°C, 30 secondes à 45°C et 30 secondes à 72°C sont suivis de 35 cycles à 40 secondes à 94°C, 30 secondes à 50°C et 30 secondes à 72°C. Pour NAD4, 5 cycles de 40 secondes à 94°C, 30 secondes à 52°C et 30 secondes à 72°C sont suivis de 25 cycles à 40 secondes à 94°C, 30 secondes à 55°C et 30 secondes à 72°C. Les élongations finales sont réalisées à 72°C pendant 10 minutes puis une étape de conservation à 10°C.

Les programmes d'amplification sont également présentés dans la **Figure 32** suivante.

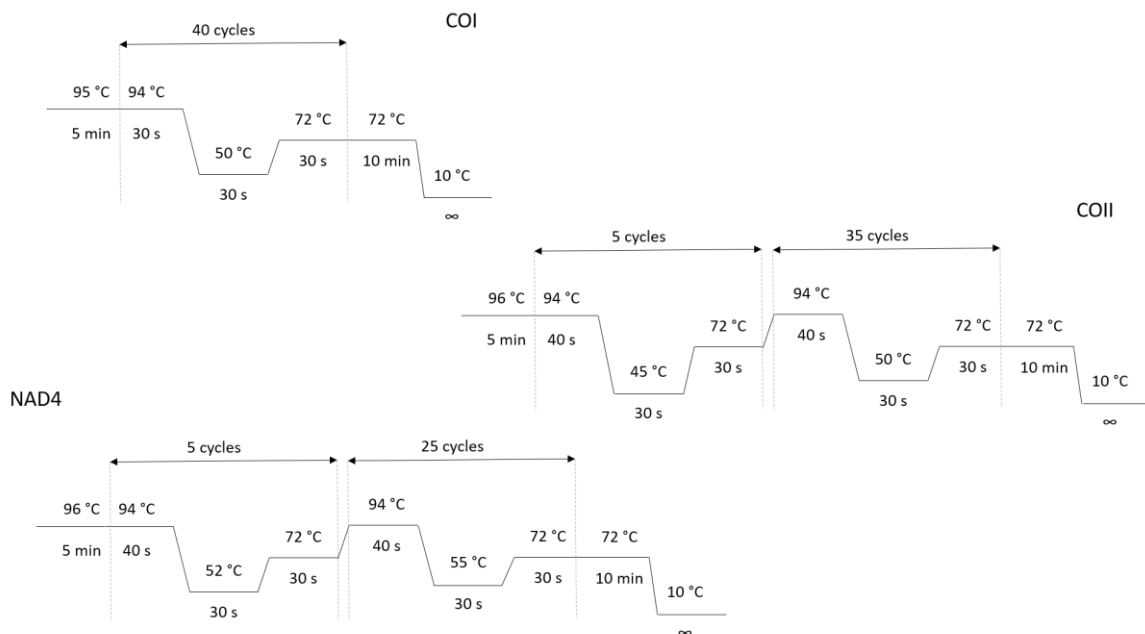


Figure 32. Programmation des cycles de PCR des marqueurs COI, COII et NAD4.

Références

- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294-299.
- Fonseca, D. M., Campbell, S., Crans, W. J., Mogi, M., Miyagi, I., Toma, T., Bullians, M., Andreadis, T. G., Berry, R. L., Pagac, B., Sardelis, M. R., & Wilkerson, R. C. (2001). *Aedes* (Finlaya) *japonicus* (Diptera : Culicidae), a newly recognized mosquito in the United States : Analyses of genetic variation in the United States and putative source populations. *Journal of Medical Entomology*, 38(2), 135-146.
<https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.2.135>
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., & Flook, P. (1994). Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87(6), 651-701. <https://doi.org/10.1093/aesa/87.6.651>

Annexe 7. Arbres phylogénétiques : Liste des séquences utilisées et détail des paramètres.

Séquences issues de la littérature et nouvelles

Dans le Tableau 1 suivant, les séquences d'*Ae. japonicus japonicus* sont présentées en vert, *Ae. j. amamiensis* en rose, *Ae. j. yaeyamensis* en bleu et *Ae. j. shintienensis* en orange.

Tableau 13. Numéro d'accèsion des séquences utilisées.

Marqueur	Numéro d'accèsion Genbank	Localité	Espèce
COI	AB738119	Japon	<i>Ae. j. amamiensis</i>
	AB738134	Japon	
	AB738236	Japon	
	AB738181	Japon	<i>Ae. j. yaeyamensis</i>
	AB738182	Japon	
	AB738210	Japon	
	FJ641869	Belgique	<i>Ae. j. japonicus</i>
	JQ404435	Allemagne (Weil am Rhein)	
	JX259644	USA (Massachusetts)	
	JX259645	USA (Massachusetts)	
	JX259646	USA (Massachusetts)	
	JX888993	Allemagne (Breisach)	
	JX888994	Germany: Rosengarten	
	KF211490	Allemagne (Extertal)	
	KF211502	Allemagne (Ronnenberg)	
	KF211503	Germany: Bueckeberg	
	KF211504	Germany: Bad Nenndorf	
	KF211505	Germany: Barsinghausen	
	KF874597	France: Haut-Rhin	
KF874598	France: Haut-Rhin		
KF874599	France: Haut-Rhin		
KM258302	Belgium: Natoye		
KM258303	Belgium: Natoye		
KM457596	Pays-Bas		

	KM457597	Pays-Bas	
	KM457598	Pays-Bas	
	KP076230	Germany: Rohrbronn	
	KP076249	Germany: Holzlar	
	KP076258	Germany: Backnang	
	LC104315	Japon	
	LC104316	Japon	
	LC341253	Japan:Hokkaido, Obihiro	
	MF822589	Canada: Ontario,	
	MG081208	Canada: Ontario,	
	MK372910	USA: Fayette County, AL	
	MK372912	USA: Washington County, AL	
	MK505605	Germany: motorway 5, etween Freiburg and Heidelberg	
	MN058612	USA: Everett, Washington	
	MN058613	Canada: Hamilton, Ontario	
	MN058617	Canada: Saanich, British Columbia	
	MN058624	Canada: Maple Ridge, British Columbia	
	MN058630	Canada: Burnaby, British Columbia	
	MN103389	Austria: Tyrol, Kufstein	
	MN103391	Austria: Tyrol, Kufstein	
	MN103392	Austria: Tyrol, Kufstein	
	MN451704	USA: New York	
	MN509209	USA: New York	
COII	GU229903	Japon	<i>Ae. j. amamiensis</i>
	GU229906	Japon	<i>Ae. j. yaeyamensis</i>
	GU229907	Japon	
	GU229908	Japon	
	GU229904	Taiwan	<i>Ae. j. shintienensis</i>
	GU229905	Taiwan	
	GU229898	USA	<i>Ae. j. japonicus</i>
GU229899	Japon		
GU229900	USA		

	GU229901 GU229902	Corée du Sud Corée du Sud	
NAD4	GU229931	Japon	<i>Ae. j. amamiensis</i>
	GU229933 GU229934	Japon Japon	<i>Ae. j. yaeyamensis</i>
	GU229932	Taiwan	<i>Ae. j. shintienensis</i>
	KU665643 KU665644 KU665645	Italie / Autriche Italie / Autriche Italie / Autriche	<i>Ae. j. japonicus</i>

Les séquences nouvelles pour cette étude ont été déposées sur Genbank et sont référencées sous les numéros d'accès suivants : OK148712-OK148716 (COI) ; OK148717-OK148722 (COII) ; OK148723-OK148726 (NAD4).

Ils correspondent aux individus suivants :

FRR04 – *Ae. j. japonicus* ♂ collecté le 13/10/2020 à Reichstett (France)

FRR05 – *Ae. j. japonicus* ♀ collecté le 13/10/2020 à Reichstett (France)

FRR06 – *Ae. j. japonicus* ♂ collecté le 07/10/2020 à Reichstett (France)

FRR07 – *Ae. j. japonicus* ♀ collecté le 07/10/2020 à Reichstett (France)

FRR08 – *Ae. j. japonicus* ♀ collecté le 13/08/2020 à Reichstett (France)

FRR09 – *Ae. j. japonicus* ♀ collecté le 13/08/2020 à Reichstett (France).

Paramètres des arbres bayésiens

Marqueur COI :

Moyenne harmonique (run 1) : -1534,12 ; (run 2) : -1536,01

Valeur du modèle : 0,009370

Marqueur COII :

Moyenne harmonique (run 1) : -1203,19 ; (run 2) : -1203,97

Valeur du modèle : 0,004510

Marqueur NAD4

Moyenne harmonique (run 1) : -907,76 ; (run 2) : -907,55

Valeur du modèle : 0,003533

Marqueurs COII et NAD4 concaténé :

Moyenne harmonique (run 1) : -2100,07, (run 2) : -2097,63

Valeur du modèle : 0,005223

Annexe 8. Localisations et références des haplotypes de NAD4 d'*Ae. j. japonicus* décrits ou cités dans la littérature.

Bien que 47 haplotypes soient cités dans la littérature, tous les haplotypes n'ont pas fait l'objet d'une description détaillée. Ainsi, le **Tableau 14** présente 24 haplotypes.

Tableau 14. Haplotypes de NAD4 et leur présence dans le monde.

Haplotype	Localités et références
H1	Répartition mondiale à l'exception de la Belgique (Zielke et al., 2014) Récente introduction en Belgique (Smitz et al., 2021) Allemagne (Zielke et al., 2014) (Zielke et al., 2015) (Zielke et al., 2016) (Smitz et al., 2021) Suisse (Zielke et al., 2014) Ouest de la Croatie (Janssen et al., 2020) Etats-Unis (Fonseca et al., 2001) Japon (Fonseca et al., 2001) Nouvelle Zélande (Fonseca et al., 2001) Pays-Bas (Zielke et al., 2015) Slovénie (Zielke et al., 2015) Hawaï (Egizi & Fonseca, 2015)
H2	Côte Est des Etats-Unis (Fonseca et al., 2001)
H3	Est de la Croatie (Janssen et al., 2020) Japon (Fonseca et al., 2001) Pays Bas (Zielke et al., 2015) Allemagne (Zielke et al., 2015)
H4	Est de la Croatie (Janssen et al., 2020) Centre des Etats-Unis (Fonseca et al., 2001)
H5	Allemagne (Zielke et al., 2014) (Zielke et al., 2015) (Smitz et al., 2021) Belgique (Smitz et al., 2021)

	<p>Ouest de la Croatie (Janssen et al., 2020)</p> <p>Nouvelle Zélande (Fonseca et al., 2001)</p> <p>Japon (Fonseca et al., 2001)</p> <p>Slovénie (Zielke et al., 2015)</p>
H6	<p>Allemagne (Zielke et al., 2014) (Smitz et al., 2021)</p> <p>Belgique (Smitz et al., 2021)</p> <p>Côte Est des Etats-Unis (Fonseca et al., 2001)</p>
H7	<p>Japon (Fonseca et al., 2001)</p>
H8	<p>Japon (Fonseca et al., 2001)</p>
H9	<p>Belgique (Zielke et al., 2014) (Smitz et al., 2021)</p> <p>Pays bas (Zielke et al., 2016)</p> <p>Slovénie (Zielke et al., 2016)</p> <p>Allemagne (Zielke et al., 2014) (Smitz et al., 2021)</p> <p>Autriche (Zielke et al., 2014)</p> <p>Slovénie (Zielke et al., 2014)</p> <p>Ouest de la Croatie (Janssen et al., 2020)</p> <p>Etats-Unis (Maryland et Pennsylvanie) (Fonseca et al., 2001)</p> <p>Pays bas (Zielke et al., 2015)</p> <p>Slovénie (Zielke et al., 2015)</p> <p>Hawaï (Egizi & Fonseca, 2015)</p>
H10	<p>Allemagne (Zielke et al., 2014) (Zielke et al., 2016) (Smitz et al., 2021)</p> <p>Autriche (Zielke et al., 2014) (Zielke et al., 2016)</p> <p>Slovénie (Zielke et al., 2014)</p> <p>Ouest de la Croatie (Janssen et al., 2020)</p> <p>Côte Ouest des Etats-Unis (Fonseca et al., 2001)</p> <p>Etats-Unis (New york et Connecticut) (Fonseca et al., 2010)</p>
H11	<p>Côte Ouest des Etats-Unis (Fonseca et al., 2001)</p>
H12	<p>Bosnie-Herzégovine (Janssen et al., 2020)</p> <p>Serbie (Janssen et al., 2020)</p>

	Croatie (Janssen et al., 2020) Pays bas (Zielke et al., 2015) Etats-Unis (Maryland et Pennsylvanie) (Fonseca et al., 2001)
H13	Nouvelle Zélande (Fonseca et al., 2001)
H14	Japon (Fonseca et al., 2001)
H15	Japon (Fonseca et al., 2001)
H19	Croatie (Macelj) (Janssen et al., 2020)
H21	Allemagne (Baden-Wurtemberg) (Zielke et al., 2015)
H23	Belgique (Smitz et al., 2021)
H35	Croatie (Janssen et al., 2020)
H33	Suisse (Zielke et al., 2014) Est de la Croatie (Janssen et al., 2020) Allemagne (Zielke et al., 2015)
H44	Pays Bas (Zielke et al., 2015)
H45	Allemagne (Baden-Wurtemberg) (Zielke et al., 2015)
H46	Allemagne (Smitz et al., 2021)
H47	Belgique (Smitz et al., 2021)

Références

Egizi, A., & Fonseca, D. M. (2015). Ecological limits can obscure expansion history : Patterns of genetic diversity in a temperate mosquito in Hawaii. *Biological Invasions*, 17(1), 123-132. <https://doi.org/10.1007/s10530-014-0710-5>

Fonseca, D. M., Campbell, S., Crans, W. J., Mogi, M., Miyagi, I., Toma, T., Bullians, M., Andreadis, T. G., Berry, R. L., Pagac, B., Sardelis, M. R., & Wilkerson, R. C. (2001). *Aedes* (Finlaya) *japonicus* (Diptera : Culicidae), a newly recognized mosquito in the United States : Analyses of genetic variation in the United States and putative source

populations. *Journal of Medical Entomology*, 38(2), 135-146.

<https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.2.135>

Fonseca, D. M., Widdel, A. K., Hutchinson, M., Spichiger, S.-E., & Kramer, L. D. (2010). Fine-scale spatial and temporal population genetics of *Aedes japonicus*, a new US mosquito, reveal multiple introductions. *Molecular Ecology*, 19(8), 1559-1572.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04576.x>

Janssen, N., Graovac, N., Vignjević, G., Bogojević, M. S., Turić, N., Klobučar, A., Kavran, M., Petrić, D., Čupina, A. I., Fischer, S., Werner, D., Kampen, H., & Merdić, E. (2020). Rapid spread and population genetics of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in southeastern Europe (Croatia, Bosnia and Herzegovina, Serbia). *PLOS ONE*, 15(10), e0241235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241235>

Smitz, N., De Wolf, K., Deblauwe, I., Kampen, H., Schaffner, F., De Witte, J., Schneider, A., Verlé, I., Vanslebrouck, A., Dekoninck, W., Meganck, K., Gombeer, S., Vanderheyden, A., De Meyer, M., Backeljau, T., Werner, D., Müller, R., & Van Bortel, W. (2021). Population genetic structure of the Asian bush mosquito, *Aedes japonicus* (Diptera, Culicidae), in Belgium suggests multiple introductions. *Parasites & Vectors*, 14(1), 179. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04676-8>

Zielke, D. E., Ibáñez-Justicia, A., Kalan, K., Merdić, E., Kampen, H., & Werner, D. (2015). Recently discovered *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) populations in The Netherlands and northern Germany resulted from a new introduction event and from a split from an existing population. *Parasites & Vectors*, 8, 40.

<https://doi.org/10.1186/s13071-015-0648-1>

Zielke, D. E., Walther, D., & Kampen, H. (2016). Newly discovered population of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in Upper Bavaria, Germany, and Salzburg, Austria, is closely related to the Austrian/Slovenian bush mosquito population. *Parasites & Vectors*, 9, 163. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1447-z>

Zielke, D. E., Werner, D., Schaffner, F., Kampen, H., & Fonseca, D. M. (2014). Unexpected patterns of admixture in German populations of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) underscore the importance of human intervention. *PloS One*, 9(7), e99093. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099093>

Annexe 9. Fichiers additionnels 1

Ces fichiers additionnels complètent l'article suivant, présenté au chapitre IV.

“ Krupa, Eva, Nicolas Henon, et Bruno Mathieu. 2021. « Diapause characterisation and seasonality of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera, Culicidae) in the Northeast of France ». *Parasite* (Paris, France) 28: 45. <https://doi.org/10.1051/parasite/2021045>. “

2019	Number of eggs			
	Collected	Measured	Tested after hatching	Bleached
Week				
20	16	14	14	0
22	921	151	227	46
24	3525	86	143	13
26	3994	37	66	27
28	2466	9	12	4
30	4339	84	89	28
32	2338	104	123	13
33	1020	86	80	11
34	1392	136	141	42
35	414	105	114	65
36	698	104	86	40
37	437	38	40	29
38	354	45	100	82
39	962	49	69	63
40	1486	79	77	73
41	460	32	31	31
42	876	69	115	108
43	60	12	15	15
44	0	0	0	0
45	51	5	5	5
2020	Number of eggs			
	Collected	Measured	Tested after hatching	Bleached
week				
20	529	19	23	13
21	617	31	48	7
22	975	50	39	5
23	537	39	32	0
24	706	70	38	2
25	356	51	38	0
26	1133	63	40	2
27	1309	46	37	0
28	389	31	27	4
30	3491	45	61	50
31	862	39	38	10
32	1274	56	46	13
33	670	28	34	7
34	668	66	51	8
35	511	29	29	11
36	365	25	24	6
37	172	12	13	10
39	1323	19	20	19
40	669	28	30	30
41	76	10	10	0
42	124	0	0	0
43	0	0	0	0

Tableau 15. Additional file 1 – Table 1. Sample size for morphological measurement, hatching success rate, mortality rate and diapause incidence. Data comes from the Reichstett field area.

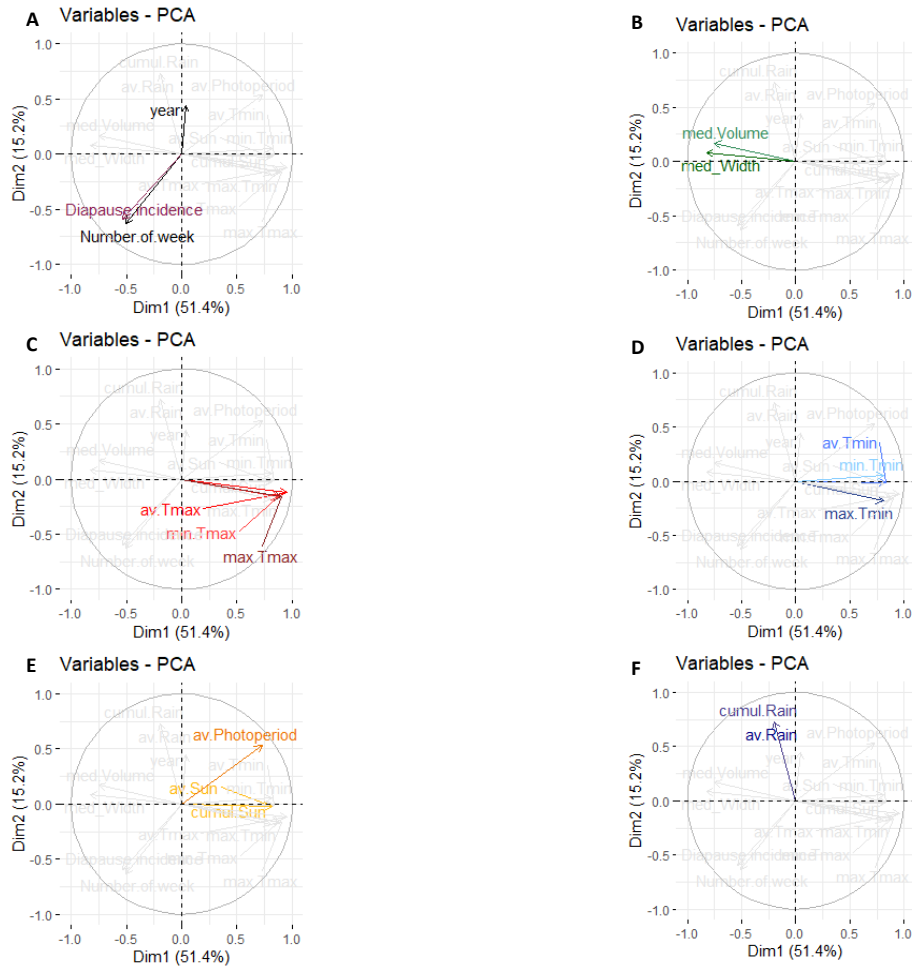


Figure 33. Additional file 1 – Figure 1. Environmental parameters PCA. The first three components were retained: PC1 (51.4%), PC2 (15.2%) and PC3 (13.7%) and thus, 80.3% of variance was explained. Variables are projected in a plan formed by PC1 and PC2. All variables are projected in light grey, some are highlighted for better visualization. From left to right and up to down: A, week number and year are in black and diapause incidence is in purple; B, morphological parameters, *i.e.* median width and median volume are in green; C, maximal temperature parameters are in red; D, minimal temperature parameters are in blue; E, light parameters, photoperiod is showed in orange and sunshine parameters are in yellow; F, rainfall parameters are in dark blue.

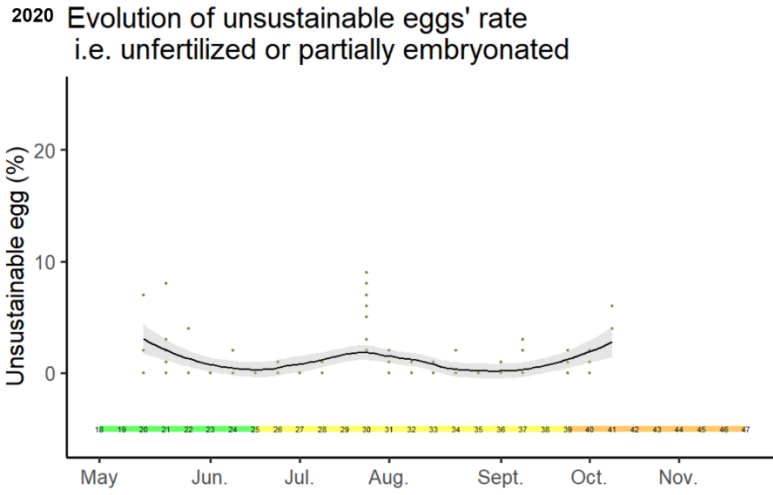
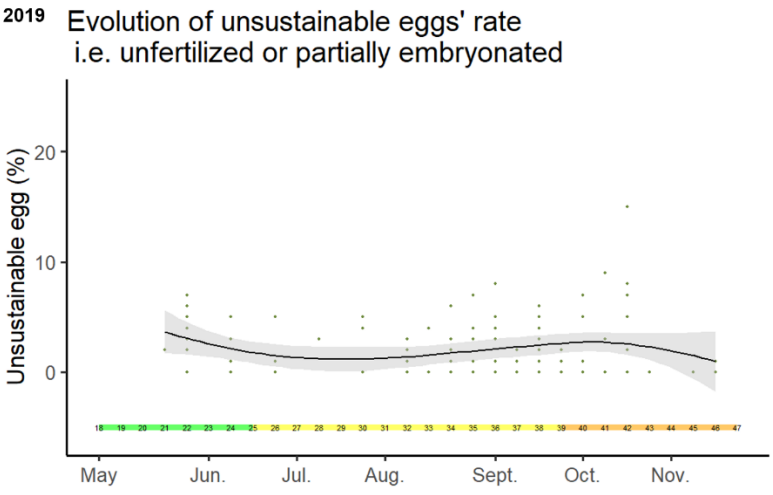


Figure 34. Additional file 1 – Figure 2. Mortality rate of *Aedes japonicus* eggs. Data come from the Reichstett field area. Percentage of unsustainable eggs for each week are showed in black dots. Mean with standard-deviation is showed by a solid black line surrounded by grey. The mortality rate is on average 17.16% in 2019 and 16.69% in 2020. The corresponding months and seasons are also shown on the coloured horizontal bar (green=spring, yellow=summer, orange=fall).

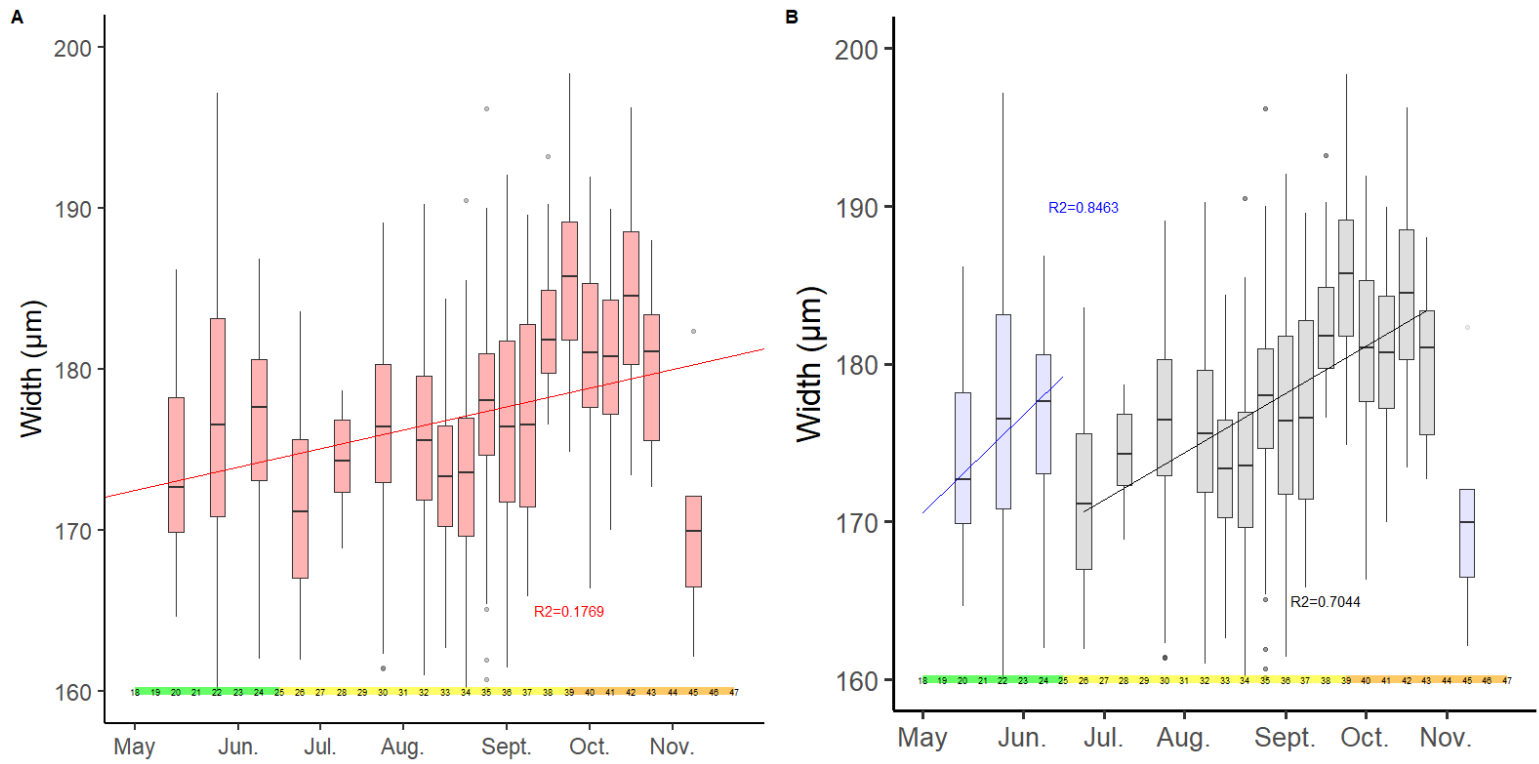


Figure 35. Additional file 1 – Figure 3. Example of two linear regressions between the width of eggs and the week of collection. Only the data for the 2019 season from the Reichstett field area are shown. Data of week 45 are discarded due to an insufficient sample size ($n=5$). In panel A, all data (shown in red) are gathered in one dataset to make linear regression. Adjusted R^2 is 17.69%. In panel B, data are subdivided in two datasets, from weeks 20 to 24 (in blue) and weeks 26 to 43 (in grey). Linear regressions are better fitted with these two data subsets (adjusted R^2 84.63% and 70.44%). The corresponding months and seasons are also shown on the coloured horizontal bar (green=spring, yellow=summer, orange=fall).

Tableau 16. Additional file 1 – Table 2. Morphological parameters on two groups of eggs. Data come from the Reichstett field area. Group ND is chosen as the baseline for comparisons with group D. An increase of each morphological parameter is observed. Wilcoxon Sum rank tests were performed. Two stars represented a significant increase between groups ND and D.

2019					
Batch of eggs	Group ND		Group D		Increase (%) between groups ND and D
Week of collection	[26] only	[26 – 34]	[38 – 43]	[43] only	
n=	37	455	291	17	
Length (µm)	604 ± 24	612 ± 27	623 ± 22	624 ± 18	1.8 % **
Width (µm)	170 ± 7	174 ± 6	183 ± 5	176 ± 5	5.3 % **
Volume (×10 ⁻³ mm ³)	9.2 ± 0.8	9.7 ± 0.9	10.9 ± 0.8	10.6 ± 0.7	12.8 % **
2020					
Batch of eggs	Group ND		Group D		Increase (%) between groups ND and D
Week of collection	[26] only	[26 – 35]	[40 – 41]	[41] only	
n=	64	409	40	11	
Length (µm)	615 ± 28	618 ± 26	627 ± 17	630 ± 17	1.5 % **
Width (µm)	176 ± 9	177 ± 7	185 ± 7	186 ± 6	4.6 % **
Volume (×10 ⁻³ mm ³)	10.1 ± 1.3	10.2 ± 1.0	11.3 ± 0.8	11.4 ± 0.7	10.9 % **

Annexe 10. Fichiers additionnels 2

Ces fichiers additionnels complètent l'article suivant, présenté au chapitre IV.

“ Krupa, Eva, Nicolas Henon, et Bruno Mathieu. 2021. « Diapause characterisation and seasonality of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera, Culicidae) in the Northeast of France ». *Parasite* (Paris, France) 28: 45. <https://doi.org/10.1051/parasite/2021045>. ”

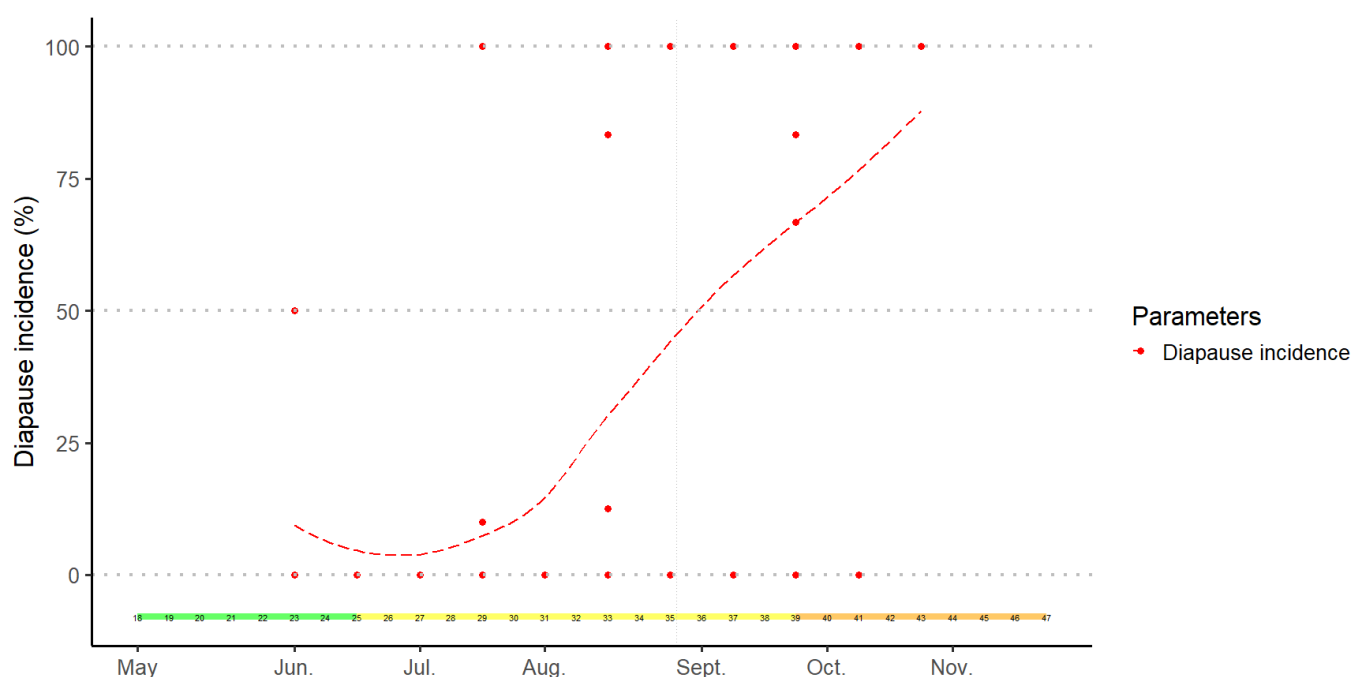


Figure 36. Additional file 2. Figure 1. Diapause incidence in *Ae. japonicus* eggs. Red dots represent the mean diapauses incidence per week observed in eggs collected in the Bas-Rhin region in 2019. Diapause incidence was achieved after performing hatching tests and a bleaching treatment. The curve with the dashed red lines is the tendency of diapauses incidence. The 50% diapauses incidence observed in eggs at week 35 in 2019 is shown in dotted grey line. Data of 2020 are not shown due to insufficient data. Corresponding months and seasons are also shown in the coloured horizontal bar (green=spring, yellow=summer, orange=fall).

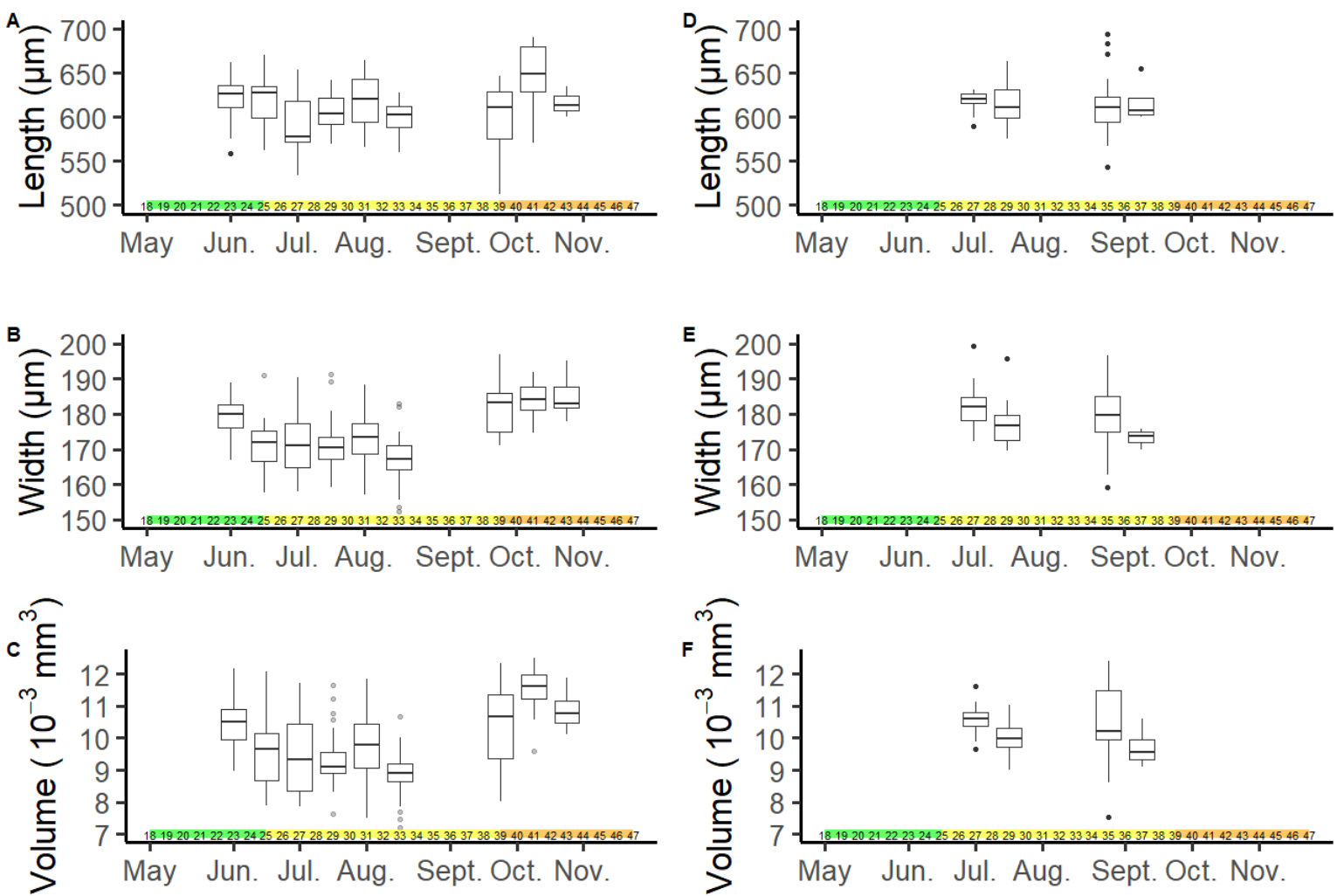


Figure 37. Additional file 2. Figure 2. Evolution of morphological parameters of *Ae. japonicus* eggs throughout the year. Fig.4A Length; Fig.4B Width; Fig.4C Volume, data of 2019. Fig.4D Length; Fig.4E Width; Fig.4E Volume, data of 2020. Data come from the Bas-Rhin region. Eggs are batched according to the calendar week of collection. Corresponding months and seasons are also shown in the coloured horizontal bars (green=spring, yellow=summer, orange=fall). Data of week 37 in 2019 is discarded.

Tableau 17. Additional file 2. Table 1. Details of morphological metrics measured on *Ae. japonicus* eggs. Data come from the Bas-Rhin region. Length and width are measured 3 times per egg.

2019	Length (μm)	Width (μm)	Volume ($\times 10^{-3} \text{ mm}^3$)
Minimum	513	152	6.8
Maximum	691	197	12.7
Mean	616	176	10.0
Standard-deviation	29	8	1.2
First quartile	595	170	9.1
Median	619	175	10.0
Third quartile	635	182	10.8
2020	Length (μm)	Width (μm)	Volume ($\times 10^{-3} \text{ mm}^3$)
Minimum	543	159	7.5
Maximum	695	199	13.3
Mean	616	179	10.4
Standard-deviation	26	8	1.1
First quartile	601	175	9.8
Median	613	178	10.3
Third quartile	628	184	10.8

Tableau 18. Additional file 2 – Table 2. Sample size for morphological measurements, hatching success rate, mortality rate and diapause incidence. Data come from the Bas-Rhin region.

2019		Number of eggs		
Week	Collected	Measured	Tested after hatching	Bleached
23	395	62	64	19
25	858	33	15	1
27	247	15	18	4
29	943	40	61	29
31	833	83	55	6
33	1078	33	30	14
35	382	0	13	13
37	19	8	9	5
39	34	33	29	25
41	152	28	10	10
43	215	16	15	15

2020		Number of eggs		
Week	Collected	Measured	Tested after hatching	Bleached
25	306	0	0	0
27	680	0	0	1
29	2,604	14	27	33
31	1,512	19	38	0
33	1,073	0	0	0
35	1,499	0	0	5
37	487	25	20	1
39	228	4	2	0
41	221	0	0	0
43	0	0	0	0

Annexe 11. Matrice des tests statistiques réalisés sur les THV.

Tableau 19. Matrice reportant la significativité des tests de Wilcoxon (ajustés par la méthode de Bonferroni) entre les températures.

Température	23	24	25	26	27	28
23						
24	**					
25	NS	NS				
26	NS	**	NS			
27	NS	NS	NS	NS		
28	*	NS	NS	NS	NS	

** :significatif à 0.001 ; * significatif à 0.05 ; NS : non significatif

Tableau 20. Significativité des tests de Wilcoxon (ajustés par la méthode de Bonferroni) entre les semaines de récoltes des œufs.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1																			
2	**																		
3	**	**																	
4	**	NS	*																
5	**	**	*	**															
6	*	NS	*	NS	**														
7	**	NS	**	NS	**	NS													
8	**	NS	*	NS	**	NS	NS												
9	**	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS											
10	**	**	NS	NS	**	*	NS	NS	NS										
11	**	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS	NS									
12	**	**	NS	**	NS	**	**	**	NS	NS	*								
13	**	NS	*	NS	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*							
14	**	**	NS	NS	*	*	*	*	NS	NS	NS	NS	NS						
15	**	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS					
16	**	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS				
17	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS			
18	*	*	NS	*	NS	*	*	*	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	
19	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

** :significatif à 0.001 ; * significatif à 0.05 ; NS : non significatif

Annexe 12. Tableau de synthèse des avantages et inconvénients des différentes méthodes utilisées pour déterminer les capacités de dispersions.

Tableau 21. Tableau de synthèse des avantages et inconvénients des différentes techniques pour l'étude des capacités de dispersion.

Techniques	Avantages	Inconvénients
Capture-Marquage-Recapture	<p>Etude <i>in situ</i>.</p> <p>Possibilité d'étudier plusieurs individus ou cohortes en même temps (Reisen et al., 2003; Verdonschot & Besse-Lototskaya, 2014).</p> <p>Multitudes de techniques de marquage selon le besoin : colorants, teintures, poudres fluorescentes et peintures de diverses couleurs ; isotopes et isotopes radioactifs ; protéines d'immunomarquage (Sanders & Carpenter, 2014; Verhulst et al., 2013)</p> <p>Mesures de la distance, direction et taux de dispersion (Cho et al., 2002; Russell et al., 2005; Verdonschot & Besse-Lototskaya, 2014).</p>	<p>Le taux de recapture étant faible, ces expériences nécessitent beaucoup d'individus à la fois.</p> <p>Sensible aux conditions environnementales comme le vent (Reisen et al., 2003; Verhulst et al., 2013).</p> <p>Pas de données précises comme les trajets réalisés entre le relâcher et la recapture (Spitzen & Takken, 2018).</p> <p>Les techniques de marquage peuvent affecter la survie des individus.</p>
Pièges (capture d'adultes)	<p>Etude <i>in situ</i>.</p> <p>Pratique et relativement peu coûteux (Spitzen & Takken, 2018).</p>	<p>Pas de données précises sur les directions prises pendant le vol.</p>

	<p>Le taux de capture renseigne sur la densité des insectes et l'activité de vol.</p>	<p>Pas de suivi individuel (Abraham et al., 2016).</p> <p>Le taux de capture et recapture peuvent être faible (Vazquez-Prokopec et al., 2004).</p>
Radar harmonique	<p>Etude <i>in situ</i>.</p> <p>Données précises du vol (position, vitesse, changement de direction) (Minter et al., 2018).</p> <p>Système miniaturisé, utilisable pour de petits insectes (Riley & Smith, 2002).</p>	<p>Un transpondeur par individu (Chapman et al., 2004).</p> <p>Rarement utilisé chez les vecteurs (Minter et al., 2018).</p> <p>Taille du transpondeur pouvant être une limite (Boiteau & Vincent, 2016).</p> <p>La détection nécessite une visibilité directe, ce qui peut être restreint par des obstacles ou par les limites de détection du radar (Riley & Smith, 2002; Chapman et al., 2004).</p>
Détection sur image	<p>Au laboratoire.</p> <p>Rarement dans des conditions semi-naturelles.</p> <p>Détection en 2D ou 3D du vol (Spitzen & Takken, 2018).</p> <p>Détection possible de nuit en utilisant des lumières infrarouges (Angarita-Jaimes et al., 2016).</p> <p>Automatisation du système de détection, voir de l'analyse (Dekker & Cardé, 2011).</p>	<p>Nécessite une ou plusieurs caméra(s) pouvant être coûteuse.</p> <p>Contraintes liées à la caméra ou au logiciel d'analyse (luminosité, contraste entre l'insecte et l'environnement suffisant).</p>

Détection par le son	<p>Au laboratoire.</p> <p>Peu de matériel nécessaire</p> <p>Peu de données à analyser.</p> <p>Répétabilité (Rowley et al., 1967; Spitzen & Takken, 2018).</p>	<p>Sous parasites peuvent limiter l'analyse (Jones et al., 1967).</p> <p>Pas de données précises comme les trajets réalisés.</p>
Flight mill rotationnel	<p>Au laboratoire.</p> <p>Adaptable à diverses espèces.</p> <p>Données précises.</p> <p>Répétabilité.</p>	<p>Forces de frottement à prendre en compte.</p> <p>Vol restreint et inhabituel (en cercle, jusqu'à épuisement) (Minter et al., 2018)</p>
Modèle mathématique	<p>Prise en compte de nombreuses variables (climat, hétérogénéité de l'environnement, vent).</p> <p>Largement applicable si les paramètres sont connus (Lutambi et al., 2013).</p> <p>Permet d'évaluer les mesures de contrôle des vecteurs (Cailly et al., 2012; Wieser et al., 2019).</p>	<p>Etudes préliminaires nécessaires pour obtenir les valeurs des paramètres</p> <p>Certains paramètres ne peuvent être qu'estimés (Lutambi et al., 2013).</p>
Olfactomètre	<p>Au laboratoire.</p> <p>Etude du comportement de recherche d'hôte (Dekker et al., 2005).</p> <p>Répétabilité</p> <p>Plusieurs individus peuvent être testés en même temps (Verhulst et al., 2013)</p>	<p>Champ d'études limité</p>

Références

Abraham, L., Gorla, D., & Catalá, S. (2016). Active dispersal of *Triatoma infestans* and other triatomines in the Argentinean arid Chaco before and after vector control

- interventions. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 41(1), 90-96. <https://doi.org/10.1111/jvec.12198>
- Angarita-Jaimes, N., Parker, J., Abe, M., Mashauri, F., Martine, J., Towers, C., McCall, P., & Towers, D. (2016). A novel video-tracking system to quantify the behaviour of nocturnal mosquitoes attacking human hosts in the field. *Journal of The Royal Society Interface*, 13, 20150974. <https://doi.org/10.1098/rsif.2015.0974>
- Boiteau, G., & Vincent, C. (2016). Le radar harmonique portatif pour l'étude des déplacements d'insectes. *Antennae*, 23, 14-17.
- Cailly, P., Tran, A., Balenghien, T., L'Ambert, G., Toty, C., & Ezanno, P. (2012). Climate-driven abundance model to assess mosquito control strategies. *Ecological Modelling*, 227, 7-17. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2011.10.027>
- Chapman, J., Reynolds, D., & Smith, A. (2004). Migratory and foraging movements in beneficial insects : A review of radar monitoring and tracking methods. *International Journal of Pest Management*, 50(3), 225-232. <https://doi.org/10.1080/09670870410001731961>
- Cho, S.-H., Lee, H.-W., Shin, E.-H., Lee, H.-I., Lee, W.-G., Kim, C.-H., Kim, J.-T., Lee, J.-S., Lee, W.-J., Jung, G.-G., & Kim, T.-S. (2002). A mark-release-recapture experiment with *Anopheles sinensis* in the northern part of Gyeonggi-do, Korea. *The Korean Journal of Parasitology*, 40(3), 139-148. <https://doi.org/10.3347/kjp.2002.40.3.139>
- Dekker, T., & Cardé, R. T. (2011). Moment-to-moment flight manoeuvres of the female yellow fever mosquito (*Aedes aegypti* L.) in response to plumes of carbon dioxide and human skin odour. *The Journal of Experimental Biology*, 214(Pt 20), 3480-3494. <https://doi.org/10.1242/jeb.055186>
- Dekker, T., Geier, M., & Cardé, R. T. (2005). Carbon dioxide instantly sensitizes female yellow fever mosquitoes to human skin odours. *Journal of Experimental Biology*, 208(15), 2963-2972. <https://doi.org/10.1242/jeb.01736>
- Jones, M. D., Hill, M., & Hope, A. M. (1967). The circadian flight activity of the mosquito *Anopheles Gambiae* : Phase setting by the light régime. *The Journal of Experimental Biology*, 47(3), 503-511.

- Lutambi, A. M., Penny, M. A., Smith, T., & Chitnis, N. (2013). Mathematical modelling of mosquito dispersal in a heterogeneous environment. *Mathematical Biosciences*, 241(2), 198-216. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2012.11.013>
- Minter, M., Pearson, A., Lim, K.-S., Wilson, K., Chapman, J., & Jones, C. (2018). The tethered flight technique as a tool for studying life-history strategies associated with migration in insects : Tethered flight for studying insect movement. *Ecological Entomology*, 43. <https://doi.org/10.1111/een.12521>
- Reisen, W. K., Lothrop, H. D., & Lothrop, B. (2003). Factors influencing the outcome of mark-release-recapture studies with *Culex tarsalis* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 40(6), 820-829. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-40.6.820>
- Riley, J. R., & Smith, A. D. (2002). Design considerations for an harmonic radar to investigate the flight of insects at low altitude. *Computers and Electronics in Agriculture*, 35(2), 151-169. [https://doi.org/10.1016/S0168-1699\(02\)00016-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1699(02)00016-9)
- Rowley, W., L. Graham, C., & E. Williams, R. (1967). *Laboratory studies of mosquito flight : A Flight Mill system*. 22.
- Russell, R. C., Webb, C. E., Williams, C. R., & Ritchie, S. A. (2005). Mark-release-recapture study to measure dispersal of the mosquito *Aedes aegypti* in Cairns, Queensland, Australia. *Medical and Veterinary Entomology*, 19(4), 451-457. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2005.00589.x>
- Sanders, C. J., & Carpenter, S. (2014). Assessment of an immunomarking technique for the study of dispersal of *Culicoides* biting midges. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 28, 583-587. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.01.020>
- Spitzen, J., & Takken, W. (2018). Keeping track of mosquitoes : A review of tools to track, record and analyse mosquito flight. *Parasites & Vectors*, 11. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2735-6>
- Vazquez-Prokopec, G. M., Ceballos, L. A., Kitron, U., & Gürtler, R. E. (2004). Active dispersal of natural populations of *Triatoma infestans* (Hemiptera : Reduviidae) in rural northwestern Argentina. *Journal of Medical Entomology*, 41(4), 614-621. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.4.614>

- Verdonschot, P., & Besse-Lototskaya, A. (2014). Flight distance of mosquitoes (*Culicidae*) : A metadata analysis to support the management of barrier zones around rewetted and newly constructed wetlands. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, 45, 69-79. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2013.11.002>
- Verhulst, N. O., Loonen, J. A., & Takken, W. (2013). Advances in methods for colour marking of mosquitoes. *Parasites & Vectors*, 6(1), 200. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-200>
- Wieser, A., Reuss, F., Niamir, A., Müller, R., O'Hara, R. B., & Pfenninger, M. (2019). Modelling seasonal dynamics, population stability, and pest control in *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae). *Parasites & Vectors*, 12(1), 142. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3366-2>

Bibliographie

- A. Fielden, M., Chaulk, A., Carson, K., Wiersma, Y., Erbland, M., Whitney, H., & Chapman, T. (2015). *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) arrives at the most easterly point in North America. *The Canadian Entomologist*, 1, 1-4. <https://doi.org/10.4039/tce.2015.5>
- Aberlenc, H.-P. (2021). *Les insectes du monde—Biodiversité, classification, clés de détermination des familles* (Editions Quae-Museo). <https://www.quae.com/produit/1672/9782759232734/les-insectes-du-monde>
- Abraham, L., Gorla, D., & Catalá, S. (2016). Active dispersal of *Triatoma infestans* and other triatomines in the Argentinean arid Chaco before and after vector control interventions. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 41(1), 90-96. <https://doi.org/10.1111/jvec.12198>
- Adhami, J., & Reiter, P. (1998). Introduction and establishment of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* Skuse (Diptera : Culicidae) in Albania. *Journal of the American Mosquito Control Association* (USA). <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US1997085439>
- Allgood, D. W., & Yee, D. A. (2014). Influence of resource levels, organic compounds and laboratory colonization on interspecific competition between the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* (*Stegomyia albopicta*) and the southern house mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Medical and Veterinary Entomology*, 28(3), 273-286. <https://doi.org/10.1111/mve.12047>
- Anderson, J. F., Andreadis, T. G., Main, A. J., Ferrandino, F. J., & Vossbrinck, C. R. (2006). West Nile virus from female and male mosquitoes (Diptera : Culicidae) in subterranean,

- ground, and canopy habitats in Connecticut. *Journal of Medical Entomology*, 43(5), 1010-1019. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2006\)43\[1010:wvnvffa\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2006)43[1010:wvnvffa]2.0.co;2)
- Andreadis, T. G., Anderson, J. F., Munstermann, L. E., Wolfe, R. J., & Florin, D. A. (2001). Discovery, distribution, and abundance of the newly introduced mosquito *Ochlerotatus japonicus* (Diptera : Culicidae) in Connecticut, USA. *Journal of Medical Entomology*, 38(6), 774-779.
- Andreadis, T. G., Armstrong, P. M., Anderson, J. F., & Main, A. J. (2014). Spatial-temporal analysis of Cache Valley virus (Bunyaviridae : Orthobunyavirus) infection in anopheline and culicine mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the northeastern United States, 1997-2012. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, 14(10), 763-773. <https://doi.org/10.1089/vbz.2014.1669>
- Angarita-Jaimes, N., Parker, J., Abe, M., Mashauri, F., Martine, J., Towers, C., McCall, P., & Towers, D. (2016). A novel video-tracking system to quantify the behaviour of nocturnal mosquitoes attacking human hosts in the field. *Journal of The Royal Society Interface*, 13, 20150974. <https://doi.org/10.1098/rsif.2015.0974>
- Armbruster, P. A. (2016). Photoperiodic diapause and the establishment of *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae) in North America. *Journal of Medical Entomology*, 53(5), 1013-1023. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw037>
- Armbruster, P., & Hutchinson, R. A. (2002). Pupal mass and wing length as indicators of fecundity in *Aedes albopictus* and *Aedes geniculatus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 39(4), 699-704. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.4.699>

- Armistead, J. S., Arias, J. R., Nishimura, N., & Lounibos, L. P. (2008). Interspecific larval competition between *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera : Culicidae) in northern Virginia. *Journal of Medical Entomology*, *45*(4), 629-637.
- Armistead, J. S., Nishimura, N., Arias, J. R., & Lounibos, L. P. (2012). Community ecology of container mosquitoes (Diptera : Culicidae) in Virginia following invasion by *Aedes japonicus*. *Journal of Medical Entomology*, *49*(6), 1318-1327.
- Armistead, J. S., Nishimura, N., Escher, R. L., & Lounibos, L. P. (2008). Larval competition between *Aedes japonicus* and *Aedes atropalpus* (Diptera : Culicidae) in simulated rock pools. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, *33*(2), 238-246.
- Attisano, A., Murphy, J. T., Vickers, A., & Moore, P. J. (2015). A simple Flight Mill for the study of tethered flight in insects. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, *106*.
<https://doi.org/10.3791/53377>
- Balestrino, F., Schaffner, F., La Forgia, D., Paslaru, A., Torgerson, P., Mathis, A., & Veronesi, E. (2016). Field evaluation of baited traps for surveillance of *Aedes japonicus japonicus* in Switzerland. *Medical and veterinary entomology*, *30*, 64-72.
<https://doi.org/10.1111/mve.12152>
- Bara, J. J., Parker, A. T., & Muturi, E. J. (2016). Comparative Susceptibility of *Ochlerotatus japonicus*, *Ochlerotatus triseriatus*, *Aedes albopictus*, and *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae) to La Crosse Virus. *Journal of Medical Entomology*, *53*(6), 1415-1421.
<https://doi.org/10.1093/jme/tjw097>
- Bartlett-Healy, K., Unlu, I., Obenauer, P., Hughes, T., Healy, S., Crepeau, T., Farajollahi, A., Kesavaraju, B., Fonseca, D., Schoeler, G., Gaugler, R., & Strickman, D. (2012). Larval

- mosquito habitat utilization and community dynamics of *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 49(4), 813-824.
- Batz, Z. A., & Armbruster, P. A. (2018). Diapause-associated changes in the lipid and metabolite profiles of the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*. *Journal of Experimental Biology*, 221(24). <https://doi.org/10.1242/jeb.189480>
- Becker, N., Huber, K., Pluskota, B., & Kaiser, A. (2011). *Ochlerotatus japonicus japonicus* – a neozoon in Germany and a revised list of the German mosquito fauna. *Eur. Mosq. Bull.*, 29.
- Becker, N., Schön, S., Klein, A.-M., Ferstl, I., Kizgin, A., Tannich, E., Kuhn, C., Pluskota, B., & Jöst, A. (2017). First mass development of *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae)—Its surveillance and control in Germany. *Parasitology Research*, 116(3), 847-858. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5356-z>
- Bevins, S. N. (2007). Establishment and abundance of a recently introduced mosquito species *Ochlerotatus japonicus* (Diptera : Culicidae) in the Southern Appalachians, USA. *Journal of Medical Entomology*, 44(6), 945-952.
- Bock, F., Kuch, U., Pfenninger, M., & Müller, R. (2015). Standardized Laboratory Feeding of Larval *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Insect Science (Online)*, 15. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iev126>
- Boiteau, G., & Vincent, C. (2016). Le radar harmonique portatif pour l'étude des déplacements d'insectes. *Antennae*, 23, 14-17.
- Bonizzoni, M., Gasperi, G., Chen, X., & James, A. A. (2013). The invasive mosquito species *Aedes albopictus* : Current knowledge and future perspectives. *Trends in Parasitology*, 29(9), 460-468. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2013.07.003>

- Bova, J., Soghigian, J., & Paulson, S. (2019). The prediapause stage of *Aedes japonicus japonicus* and the evolution of embryonic diapause in Aedini. *Insects*, *10*(8), 222. <https://doi.org/10.3390/insects10080222>
- Bradt, D., Coburn, L., K. Bradley, K., & Noden, B. (2018). First record of *Aedes japonicus japonicus* in Oklahoma, 2017. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *34*, 38-41. <https://doi.org/10.2987/17-6690.1>
- Branson, K., Robie, A., Bender, J., Perona, P., & Dickinson, M. (2009). High-throughput Ethomics in Large Groups of *Drosophila*. *Nature methods*, *6*(6), 451-457. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1328>
- Briegel, H., Knüsel, I., & Timmermann, S. E. (2001). *Aedes aegypti* : Size, reserves, survival, and flight potential. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, *26*(1), 21-31.
- Briegel, H., & Timmermann, S. E. (2001). *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae) : Physiological aspects of development and reproduction. *Journal of Medical Entomology*, *38*(4), 566-571. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.4.566>
- Briegel, H., Waltert, A., & Kuhn, A. R. (2001). Reproductive physiology of *Aedes* (*Aedimorphus*) *vexans* (Diptera : Culicidae) in relation to flight potential. *Journal of Medical Entomology*, *38*(4), 557-565. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.4.557>
- Burger, J. F., & Davis, H. (2008). Discovery of *Ochlerotatus japonicus japonicus* (Theobald) (Diptera : Culicidae) in Southern New Hampshire, U.S.A. and its subsequent increase in abundance in used tire casings. *Entomological News*, *119*(5), 439-444. <https://doi.org/10.3157/0013-872X-119.5.439>

- Cailly, P., Tran, A., Balenghien, T., L'Ambert, G., Toty, C., & Ezanno, P. (2012). Climate-driven abundance model to assess mosquito control strategies. *Ecological Modelling*, 227, 7-17. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2011.10.027>
- Caldwell, N. D., Gerhardt, R. R., & Jones, C. J. (2005). First collection of *Ochlerotatus japonicus japonicus* in the state of Tennessee. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21(3), 322-324. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2005\)21\[322:FCOOJJ\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2005)21[322:FCOOJJ]2.0.CO;2)
- Cameron, E. C., Wilkerson, R. C., Mogi, M., Miyagi, I., Toma, T., Kim, H.-C., & Fonseca, D. M. (2010). Molecular phylogenetics of *Aedes japonicus*, a disease vector that recently invaded Western Europe, North America, and the Hawaiian islands. *Journal of Medical Entomology*, 47(4), 527-535. <https://doi.org/10.1603/me09259>
- Camille Hopkins, M., A. Thomason, C., Brown, B., Kirkpatrick, L., Paulson, S., & Hawley, D. (2018). Experimental logging alters the abundance and community composition of ovipositing mosquitoes in the southern Appalachians: Logging effects on adult mosquitoes. *Ecological Entomology*. <https://doi.org/10.1111/een.12518>
- Carrieri, M., Bacchi, M., Bellini, R., & Maini, S. (2003). On the competition occurring between *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) in Italy. *Environmental Entomology*, 32, 1313-1321. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-32.6.1313>
- Castro, L. A., Peterson, J. K., Saldaña, A., Perea, M. Y., Calzada, J. E., Pineda, V., Dobson, A. P., & Gottdenker, N. L. (2014). Flight behavior and performance of *Rhodnius pallescens* (Hemiptera : Reduviidae) on a tethered Flight Mill. *Journal of Medical Entomology*, 51(5), 1010-1018. <https://doi.org/10.1603/ME14014>
- Central Massachusetts Mosquito Control Project : Discovery of new mosquito species in Massachusetts. (2000). <http://www.cmmcp.org/japonicus.pdf>

- Chapman, J., Reynolds, D., & Smith, A. (2004). Migratory and foraging movements in beneficial insects : A review of radar monitoring and tracking methods. *International Journal of Pest Management*, 50(3), 225-232. <https://doi.org/10.1080/09670870410001731961>
- Chaves, L. F. (2016). Globally invasive, withdrawing at home : *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* facing the rise of *Aedes flavopictus*. *International Journal of Biometeorology*, 60(11), 1727-1738. <https://doi.org/10.1007/s00484-016-1162-7>
- Chaves, L., & Moji, K. (2017). Density dependence, landscape, and weather impacts on aquatic *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) abundance along an urban altitudinal gradient. *Journal of Medical Entomology*, 55. <https://doi.org/10.1093/jme/tjx200>
- Cho, S.-H., Lee, H.-W., Shin, E.-H., Lee, H.-I., Lee, W.-G., Kim, C.-H., Kim, J.-T., Lee, J.-S., Lee, W.-J., Jung, G.-G., & Kim, T.-S. (2002). A mark-release-recapture experiment with *Anopheles sinensis* in the northern part of Gyeonggi-do, Korea. *The Korean Journal of Parasitology*, 40(3), 139-148. <https://doi.org/10.3347/kjp.2002.40.3.139>
- Christophers, S. R. (1960). *Aedes aegypti* (L.) the yellow fever mosquito; its life history, bionomics, and structure. University Press.
- Ciota, A. T., Mataracchiero, A. C., Kilpatrick, A. M., & Kramer, L. D. (2014). The effect of temperature on life history traits of *Culex* mosquitoes. *Journal of Medical Entomology*, 51(1), 55-62. <https://doi.org/10.1603/me13003>
- Clements, A. N. (1992). The Biology of mosquitoes. Volume 1. Development, nutrition and reproduction : By A. N. Clements. 509 pp. London, Chapman and Hall. 1992. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 52(6), 579. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1995.52.579>

- Crowl, T. A., Crist, T. O., Parmenter, R. R., Belovsky, G., & Lugo, A. E. (2008). The spread of invasive species and infectious disease as drivers of ecosystem change. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(5), 238-246. <https://doi.org/10.1890/070151>
- Cunze, S., Koch, L. K., Kochmann, J., & Klimpel, S. (2016). *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus*—Two invasive mosquito species with different temperature niches in Europe. *Parasites & Vectors*, 9(1), 573. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1853-2>
- Cunze, S., Kochmann, J., & Klimpel, S. (2019). Global occurrence data improve potential distribution models for *Aedes japonicus japonicus* in non-native regions. *Pest Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.5710>
- Day, C. A., Lewandowski, K., Vonesh, J. R., & Byrd, B. D. (2021a). Phenology of rock pool mosquitoes in the Southern Appalachian Mountains : Surveys reveal apparent winter hatching of *Aedes japonicus* and the potential For asymmetrical stage-specific interactions. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 36(4), 216-226. <https://doi.org/10.2987/20-6964.1>
- Day, C. A., Lewandowski, K., Vonesh, J. R., & Byrd, B. D. (2021b). Phenology of rock pool mosquitoes in the Southern Appalachian Mountains : Surveys reveal apparent winter hatching of *Aedes japonicus* and the potential For asymmetrical stage-specific interactions. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 36(4), 216-226. <https://doi.org/10.2987/20-6964.1>
- Dekker, T., & Cardé, R. T. (2011). Moment-to-moment flight manoeuvres of the female yellow fever mosquito (*Aedes aegypti* L.) in response to plumes of carbon dioxide and human skin odour. *The Journal of Experimental Biology*, 214(Pt 20), 3480-3494. <https://doi.org/10.1242/jeb.055186>

- Dekker, T., Geier, M., & Cardé, R. T. (2005). Carbon dioxide instantly sensitizes female yellow fever mosquitoes to human skin odours. *Journal of Experimental Biology*, *208*(15), 2963-2972. <https://doi.org/10.1242/jeb.01736>
- Delatte, H., Dehecq, J. s., Thiria, J., Domerg, C., Paupy, C., & Fontenille, D. (2008). Geographic distribution and developmental sites of *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae) during a Chikungunya epidemic event. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *8*(1), 25-34. <https://doi.org/10.1089/vbz.2007.0649>
- Delatte, H., Desvars, A., Bouétard, A., Bord, S., Gimonneau, G., Vourc'h, G., & Fontenille, D. (2009). Blood-feeding behavior of *Aedes albopictus*, a vector of Chikungunya on La Réunion. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *10*(3), 249-258. <https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0026>
- Delatte, H., Gimonneau, G., Triboire, A., & Fontenille, D. (2009). Influence of temperature on immature development, survival, longevity, fecundity, and gonotrophic cycles of *Aedes albopictus*, vector of chikungunya and dengue in the Indian Ocean. *Journal of Medical Entomology*, *46*(1), 33-41. <https://doi.org/10.1603/033.046.0105>
- Delaunay, P., Mathieu, B., Marty, P., Fauran, P., & Schaffner, F. (2007). Chronology of the development of *Aedes albopictus* in the Alpes-Maritimes department of France, from 2002 to 2005. *Médecine tropicale : revue du Corps de santé colonial*, *67*, 310-311.
- Denlinger, D. L., & Armbruster, P. A. (2014). Mosquito diapause. *Annual Review of Entomology*, *59*(1), 73-93. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162023>
- Diniz, D. F. A., de Albuquerque, C. M. R., Oliva, L. O., de Melo-Santos, M. A. V., & Ayres, C. F. J. (2017). Diapause and quiescence : Dormancy mechanisms that contribute to the geographical expansion of mosquitoes and their evolutionary success. *Parasites & Vectors*, *10*. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2235-0>

- Dufourd, C., & Dumont, Y. (2013). Impact of environmental factors on mosquito dispersal in the prospect of sterile insect technique control. *Computers & Mathematics with Applications*, 66(9), 1695-1715. <https://doi.org/10.1016/j.camwa.2013.03.024>
- Dunphy, B. M., Tucker, B. J., Petersen, M. J., Blitvich, B. J., & Bartholomay, L. C. (2009). Arrival and establishment of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in Iowa. *Journal of Medical Entomology*, 46(6), 1282-1289. <https://doi.org/10.1603/033.046.0605>
- Egizi, A., & Fonseca, D. M. (2015). Ecological limits can obscure expansion history : Patterns of genetic diversity in a temperate mosquito in Hawaii. *Biological Invasions*, 17(1), 123-132. <https://doi.org/10.1007/s10530-014-0710-5>
- Eritja, R., & Herreros, E. (2017). Spatial distribution of immature stages of *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera : Culicidae) in flower pots in a spanish cemetery and field evaluation of metallic copper as a control agent. *Journal of the European Mosquito Control Association*, 35, 13-17.
- Eritja, R., Palmer, J. R. B., Roiz, D., Sanpera-Calbet, I., & Bartumeus, F. (2017). Direct evidence of adult *Aedes albopictus* dispersal by car. *Scientific Reports*, 7(1), 14399. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12652-5>
- Eritja, R., Ruiz-Arrondo, I., Delacour-Estrella, S., Schaffner, F., Álvarez-Chachero, J., Bengoa, M., Puig, M.-Á., Melero-Alcíbar, R., Oltra, A., & Bartumeus, F. (2019). First detection of *Aedes japonicus* in Spain : An unexpected finding triggered by citizen science. *Parasites & Vectors*, 12(1), 53. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3317-y>
- Erthal, J. A., Soghigian, J. S., & Livdahl, T. (2012). Life cycle completion of parasite *Ascogregarina taiwanensis* (Apicomplexa : Lecudinidae) in non-native host *Ochlerotatus japonicus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 49(5), 1109-1117. <https://doi.org/10.1603/me12018>

- Evans, B. R., Joyce, C. R., & Porter, J. E. (1963). Mosquitoes and other arthropods found in baggage compartments of international aircraft. *Mosquito News*, 23(1), 9-12.
- Farajollahi, A., & Price, D. C. (2013). A rapid identification guide for larvae of the most common North American container-inhabiting *Aedes* species of medical importance. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 29(3), 203-221.
<https://doi.org/10.2987/11-6198R.1>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294-299.
- Fonseca, D. M., Campbell, S., Crans, W. J., Mogi, M., Miyagi, I., Toma, T., Bullians, M., Andreadis, T. G., Berry, R. L., Pagac, B., Sardelis, M. R., & Wilkerson, R. C. (2001). *Aedes* (Finlaya) *japonicus* (Diptera : Culicidae), a newly recognized mosquito in the United States : Analyses of genetic variation in the United States and putative source populations. *Journal of Medical Entomology*, 38(2), 135-146.
<https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.2.135>
- Fonseca, D. M., Widdel, A. K., Hutchinson, M., Spichiger, S.-E., & Kramer, L. D. (2010). Fine-scale spatial and temporal population genetics of *Aedes japonicus*, a new US mosquito, reveal multiple introductions. *Molecular Ecology*, 19(8), 1559-1572.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04576.x>
- Foss, A. F., & Dearnborn, R. G. (2002). *Preliminary faunistic survey of mosquito species (Diptera : Culicidae) with a focus on population densities and potential breeding sites in Greater Portland, Maine*. Maine Department of Conservation, Maine Forest Service, Forest Health & Monitoring Division, Augusta, Maine. Technical report No. 42.
<http://www.state.me.us/doc/mfs/mosq1.pdf>

- Freed, T. Z., Kesavaraju, B., & Leisnham, P. T. (2014). Effects of competition and predation by native mosquitoes on the North American invasion of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, *51*(6), 1159-1167. <https://doi.org/10.1603/ME13179>
- Friard, O., & Gamba, M. (2016). BORIS : A free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods in Ecology and Evolution*, *7*(11), 1325-1330. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12584>
- Früh, L., Kampen, H., Koban, M. B., Pernat, N., Schaub, G. A., & Werner, D. (2020). Oviposition of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) and associated native species in relation to season, temperature and land use in western Germany. *Parasites & Vectors*, *13*(1), 623. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04461-z>
- Gallitano, S., Blaustein, L., & Vonesh, J. (2005). First occurrence of *Ochlerotatus japonicus* in Missouri. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, *30*(2), 347-348.
- Gaspar, J. P., McKay, T., & Huss, M. J. (2012). First report of *Aedes japonicus* in natural and artificial habitats in northeastern Arkansas. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *28*(1), 38-42. <https://doi.org/10.2987/11-6196.1>
- Geissmann, Q., Garcia Rodriguez, L., Beckwith, E. J., French, A. S., Jamasb, A. R., & Gilestro, G. F. (2017). Ethoscopes : An open platform for high-throughput ethomics. *PLoS Biology*, *15*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003026>
- Goodman, H., Egizi, A., Fonseca, D. M., Leisnham, P. T., & LaDeau, S. L. (2018). Primary blood-hosts of mosquitoes are influenced by social and ecological conditions in a complex urban landscape. *Parasites & Vectors*, *11*(1), 218. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2779-7>

- Graham, A. C., & Turmel, J. (2001). *Distribution records of Vermont's' first introduced mosquito species, Ochlerotatus japonicus (Diptera : Culicidae)*. 121.
- Gray, E. W., Harrison, B. A., Womack, M. L., Kerce, J., Neely, C. J., & Noblet, R. (2005). *Ochlerotatus japonicus japonicus* (Theobald) in Georgia and North Carolina. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21(2), 144-146.
[https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2005\)21\[144:OJJTIG\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2005)21[144:OJJTIG]2.0.CO;2)
- Haddow, A., Moulton, J., R Gerhardt, R., J McCuiston, L., & J Jones, C. (2009). Description of the egg of *Ochlerotatus japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) using variable pressure scanning electron microscopy. *Journal of medical entomology*, 46, 9-14.
<https://doi.org/10.1603/033.046.0102>
- Hahn, N. G., Hwang, M. C., & Hamilton, G. C. (2017). Circuitry and coding used in a Flight Mill system to study flight performance of *Halyomorpha halys* (Hemiptera : Pentatomidae). *Florida Entomologist*, 100, 195-198. <https://doi.org/10.1653/024.100.0133>
- Harbach, R. E. (2007). The Culicidae (Diptera) : A review of taxonomy, classification and phylogeny. *Zootaxa*, 1668(1), 591–638-591–638.
<https://doi.org/10.11646/zootaxa.1668.1.28>
- Hardstone, M. C., & Andreadis, T. G. (2012). Weak larval competition between the invasive mosquito *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) and three resident container-inhabiting mosquitoes in the laboratory. *Journal of Medical Entomology*, 49(2), 277-285.
- Harris, M. C., Dotseth, E. J., Jackson, B. T., Zink, S. D., Marek, P. E., Kramer, L. D., Paulson, S. L., & Hawley, D. M. (2015). La Crosse Virus in *Aedes japonicus japonicus* mosquitoes in the Appalachian Region, United States. *Emerging Infectious Diseases*, 21(4), 646-649.
<https://doi.org/10.3201/eid2104.140734>

- Harrison, B., Whitt, P. B., Cope, S. E., Payne, G. R., Rankin, S. E., Bohn, L. J., Stell, F. M., & Neely, C. J. (2002). Mosquitoes (Diptera : Culicidae) collected near the Great Dismal Swamp : New state records, notes on certain species, and a revised checklist for Virginia. *Proceedings Entomological Society Washington, Proc. Entomol. Soc. Wash.*, 655-662.
- Hawley, W. A. (1988). The biology of *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association. Supplement, 1*, 1-39.
- Hawley, W. A., Reiter, P., Copeland, R. S., Pumpuni, C. B., & Craig, G. B. (1987). *Aedes albopictus* in North America : Probable introduction in used tires from northern Asia. *Science*, 236(4805), 1114-1116. <https://doi.org/10.1126/science.3576225>
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings. Biological Sciences*, 270(1512), 313-321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hobbs, J. H., Hughes, E. A., & Eichold, B. H. (1991). Replacement of *Aedes aegypti* by *Aedes albopictus* in Mobile, Alabama. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 7(3), 488-489.
- Hofhuis, A., Reimerink, J., Reusken, C., Scholte, E.-J., Boer, A. de, Takken, W., & Koopmans, M. (2009). The hidden passenger of lucky bamboo : Do imported *Aedes albopictus* mosquitoes cause dengue virus transmission in the Netherlands? *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, 9(2), 217-220. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0071>
- Honório, N. A., Castro, M. G., Barros, F. S. M. de, Magalhães, M. de A. F. M., & Sabroza, P. C. (2009). The spatial distribution of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in a transition zone, Rio de Janeiro, Brazil. *Cadernos De Saude Publica*, 25(6), 1203-1214. <https://doi.org/10.1590/s0102-311x2009000600003>

- Hoshino, K., Isawa, H., Tsuda, Y., & Kobayashi, M. (2010). Laboratory colonization of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) collected in Narita, Japan and the biological properties of the established colony. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 63(6), 401-404.
- Huber, K., Jansen, S., Leggewie, M., Badusche, M., Schmidt-Chanasit, J., Becker, N., Tannich, E., & Becker, S. C. (2014). *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) from Germany have vector competence for Japan encephalitis virus but are refractory to infection with West Nile virus. *Parasitology Research*, 113(9), 3195-3199. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-3983-9>
- Huber, K., Pluskota, B., Jöst, A., Hoffmann, K., & Becker, N. (2012). Status of the invasive species *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in southwest Germany in 2011. *Journal of Vector Ecology*, 37(2), 462-465. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2012.00252.x>
- Hughes, T. H., Irwin, P. M., Kaufman, A., Sage, H., Pagac, B. B., & Paskewitz, S. M. (2008). First records of *Aedes japonicus japonicus* in Wisconsin. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24(4), 583-584. <https://doi.org/10.2987/5735.1>
- Ibañez-Justicia, A., Kampen, H., Braks, M., Schaffner, F., Steeghs, M., Walther geb. Werner, D., Scheuch, D., den Hartog, W., Brooks, M. D., Dik, M., Van de Vossenberg, B., & Scholte, E.-J. (2014a). First report of established population of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) in the Netherlands. *Journal of the European Mosquito Control Association*, 32, 9-13.
- Ibañez-Justicia, A., Kampen, H., Braks, M., Schaffner, F., Steeghs, M., Walther geb. Werner, D., Scheuch, D., den Hartog, W., Brooks, M. D., Dik, M., Van de Vossenberg, B., & Scholte, E.-J. (2014b). First report of established population of *Aedes japonicus japonicus*

- (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) in the Netherlands. *Journal of the European Mosquito Control Association*, 32, 9-13.
- Ibañez-Justicia, A., Teekema, S., den Hartog, W., Jacobs, F., Dik, M., & Stroo, A. (2018). The Effectiveness of Asian Bush Mosquito (*Aedes japonicus japonicus*) Control Actions in Colonised Peri-urban Areas in the Netherlands. *Journal of Medical Entomology*, 55(3), 673-680. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy002>
- Iriarte, W. L. Z., Tsuda, Y., Wada, Y., & Takagi, M. (1991). Distribution of Mosquitoes on a Hill of Nagasaki City, with Emphasis to the Distance from Human Dwellings. *熱帯医学 Tropical medicine*, 33(3), 55-60.
- Jackson, M., Belton, P., McMahon, S., Hart, M., McCann, S., Azevedo, D., & Hurteau, L. (2016). The first record of *Aedes (Hulecoeteomyia) japonicus* (Diptera : Culicidae) and its establishment in Western Canada. *Journal of Medical Entomology*, 53(1), 241-244. <https://doi.org/10.1093/jme/tjv164>
- Janssen, N., Graovac, N., Vignjević, G., Bogojević, M. S., Turić, N., Klobučar, A., Kavran, M., Petrić, D., Čupina, A. I., Fischer, S., Werner, D., Kampen, H., & Merdić, E. (2020). Rapid spread and population genetics of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in southeastern Europe (Croatia, Bosnia and Herzegovina, Serbia). *PLOS ONE*, 15(10), e0241235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241235>
- Jia, P., Lu, L., Chen, X., Chen, J., Guo, L., Yu, X., & Liu, Q. (2016). A climate-driven mechanistic population model of *Aedes albopictus* with diapause. *Parasites & Vectors*, 9, 175. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1448-y>
- Jones, M. D., Hill, M., & Hope, A. M. (1967). The circadian flight activity of the mosquito *Anopheles Gambiae* : Phase setting by the light régime. *The Journal of Experimental Biology*, 47(3), 503-511.

- Joy, J. E. (2004). Larval mosquitoes in abandoned tire pile sites from West Virginia. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 20(1), 12-17.
- Kamgang, B., Nchoutpouen, E., Simard, F., & Paupy, C. (2012). Notes on the blood-feeding behavior of *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae) in Cameroon. *Parasites & Vectors*, 5, 57. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-57>
- Kampen, H., & Werner, D. (2014). Out of the bush : The Asian bush mosquito *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) becomes invasive. *Parasites & Vectors*, 7, 59. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-59>
- Kampen, H., Zielke, D., & Werner, D. (2012a). A new focus of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) distribution in Western Germany : Rapid spread or a further introduction event? *Parasites & Vectors*, 5, 284. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-284>
- Kampen, H., Zielke, D., & Werner, D. (2012b). A new focus of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera, Culicidae) distribution in Western Germany : Rapid spread or a further introduction event? *Parasites & Vectors*, 5, 284. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-284>
- Kaufman, M. G., & Fonseca, D. M. (2014). Invasion biology of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae). *Annual review of entomology*, 59, 31-49. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162012>
- Kaufman, M. G., Stanuszek, W. W., Brouhard, E. A., Knepper, R. G., & Walker, E. D. (2012). Establishment of *Aedes japonicus japonicus* and its colonization of container habitats in Michigan. *Journal of Medical Entomology*, 49(6), 1307-1317.

- Kaufmann, C., Collins, L. F., & Brown, M. R. (2013). Influence of age and nutritional status on flight performance of the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae). *Insects*, 4(3), 404-412. <https://doi.org/10.3390/insects4030404>
- Kettle H, Nutter D. stagePop: modelling stage-structured populations in R. *Methods Ecol Evol.* 2015;6:1484–90.
- Kerkow, A., Wieland, R., Koban, M. B., Hölker, F., Jeschke, J. M., Werner, D., & Kampen, H. (2019). What makes the Asian bush mosquito *Aedes japonicus japonicus* feel comfortable in Germany ? A fuzzy modelling approach. *Parasites & Vectors*, 12(1), 106. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3368-0>
- Klobucar, A., Lipovac, I., Zagar, N., Mitrovic-Hamzic, S., Tesic, V., Vilibic-Cavlek, T., & Merdic, E. (2019). First record and spreading of the invasive mosquito *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in Croatia. *Medical and Veterinary Entomology*, 33(1), 171-176. <https://doi.org/10.1111/mve.12337>
- Krebs, T., Bindler, P., L'Ambert, G., Toty, C., Perrin, Y., & Jourdain, F. (2014a). First establishment of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera : Culicidae) in France in 2013 and its impact on public health. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 39(2), 437-440. <https://doi.org/10.1111/jvec.12119>
- Krebs, T., Bindler, P., L'Ambert, G., Toty, C., Perrin, Y., & Jourdain, F. (2014b). First establishment of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera : Culicidae) in France in 2013 and its impact on public health. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 39(2), 437-440. <https://doi.org/10.1111/jvec.12119>
- Kreß, A., Kuch, U., Oehlmann, J., & Müller, R. (2016). Effects of diapause and cold acclimation on egg ultrastructure : New insights into the cold hardiness mechanisms of the Asian

- tiger mosquito *Aedes (Stegomyia) albopictus*. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 41(1), 142-150. <https://doi.org/10.1111/jvec.12206>
- Krupa, E., Henon, N., & Mathieu, B. (2021). Diapause characterisation and seasonality of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera, Culicidae) in the northeast of France. *Parasite*, 28, 45. <https://doi.org/10.1051/parasite/2021045>
- Krupa, E., Schaffner, F., Bender, C., & Mathieu, B. (2020). Progression du moustique tigre en France : Surveillance transfrontalière dans le Grand-Est. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020(524), 53-61. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(20\)30231-8](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30231-8)
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X : Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kutateladze, T., Zangaladze, E., Dolidze, N., Mamatsashvili, T., Tskhvaradze, L., Andrews, E., & Haddow, A. (2016). First record of *Aedes albopictus* in Georgia and updated checklist of reported species. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 32, 230–233. <https://doi.org/10.2987/16-6574.1>
- Lacour, G., Chanaud, L., L'Ambert, G., & Hance, T. (2015a). Seasonal Synchronization of Diapause Phases in *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae). *PloS One*, 10(12), e0145311. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145311>
- Lacour, G., Chanaud, L., L'Ambert, G., & Hance, T. (2015b). Seasonal Synchronization of Diapause Phases in *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae). *PloS One*, 10(12), e0145311. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145311>
- Lacour, G., Vernichon, F., Cadilhac, N., Boyer, S., Lagneau, C., & Hance, T. (2014a). When mothers anticipate : Effects of the prediapause stage on embryo development time and of maternal photoperiod on eggs of a temperate and a tropical strains of *Aedes*

- albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Insect Physiology*, 71, 87-96.
<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.10.008>
- Lacour, G., Vernichon, F., Cadilhac, N., Boyer, S., Lagneau, C., & Hance, T. (2014b). When mothers anticipate : Effects of the prediapause stage on embryo development time and of maternal photoperiod on eggs of a temperate and a tropical strains of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Insect Physiology*, 71, 87-96.
<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.10.008>
- Laird, M., Calder, L., Thornton, R. C., Syme, R., Holder, P. W., & Mogi, M. (1994). Japanese *Aedes albopictus* among four mosquito species reaching New Zealand in used tires. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 10(1), 14-23.
- Larish, L. B., & Savage, H. M. (2005). Introduction and establishment of *Aedes (Finlaya) japonicus japonicus* (Theobald) on the island of Hawaii : Implications for arbovirus transmission. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21(3), 318-321.
[https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2005\)21\[318:IAEOAF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2005)21[318:IAEOAF]2.0.CO;2)
- Lebon, C., Soupapoule, K., Wilkinson, D. A., Le Goff, G., Damiens, D., & Gouagna, L. C. (2018). Laboratory evaluation of the effects of sterilizing doses of γ -rays from Caesium-137 source on the daily flight activity and flight performance of *Aedes albopictus* males. *PLoS One*, 13(8), e0202236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202236>
- Leisnham, P. T., & Juliano, S. A. (2012). Impacts of climate, land use, and biological invasion on the ecology of immature *Aedes* mosquitoes : Implications for La Crosse emergence. *EcoHealth*, 9(2), 217-228. <https://doi.org/10.1007/s10393-012-0773-7>
- Lorenz, A. R., Walker, E. D., & Kaufman, M. G. (2013). Does autochthonous primary production influence oviposition by *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in container habitats? *Journal of Medical Entomology*, 50(1), 69-78.

- Lounibos, L. P. (2002). Invasions by insect vectors of human disease. *Annual Review of Entomology*, 47(1), 233-266.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145206>
- Lounibos, L. P., Escher, R. L., & Lourenço-De-Oliveira, R. (2003). Asymmetric Evolution of Photoperiodic Diapause in Temperate and Tropical Invasive Populations of *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 96(4), 512-518. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2003\)096\[0512:AEOPDI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2003)096[0512:AEOPDI]2.0.CO;2)
- Lutambi, A. M., Penny, M. A., Smith, T., & Chitnis, N. (2013). Mathematical modelling of mosquito dispersal in a heterogeneous environment. *Mathematical Biosciences*, 241(2), 198-216. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2012.11.013>
- Madon, M. B., Mulla, M. S., Shaw, M. W., Kluh, S., & Hazelrigg, J. E. (2002). Introduction of *Aedes albopictus* (Skuse) in southern California and potential for its establishment. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 27(1), 149-154.
- Manges, A. B., Simmons, T. W., & Hutchinson, M. L. (2018). First Record of *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae) and Second Record of *Aedes japonicus* (Diptera : Culicidae) Parasitized by Water Mites (Acari : Hydrachnidia) in North America. *Journal of Medical Entomology*, 55(6), 1617-1621. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy105>
- Marcantonio, M., Metz, M., Baldacchino, F., Arnoldi, D., Montarsi, F., Capelli, G., Carlin, S., Neteler, M., & Rizzoli, A. (2016). First assessment of potential distribution and dispersal capacity of the emerging invasive mosquito *Aedes koreicus* in Northeast Italy. *Parasites & Vectors*, 9(1), 63. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1340-9>
- Medley, K. A., Westby, K. M., & Jenkins, D. G. (2019). Rapid local adaptation to northern winters in the invasive Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* : A moving target. *Journal of Applied Ecology*, 56(11), 2518-2527. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13480>

- Medlock, J. M., Hansford, K. M., Versteirt, V., Cull, B., Kampen, H., Fontenille, D., Hendrickx, G., Zeller, H., Bortel, W. V., & Schaffner, F. (2015). An entomological review of invasive mosquitoes in Europe. *Bulletin of Entomological Research*, 105(6), 637-663. <https://doi.org/10.1017/S0007485315000103>
- Medlock, J. M., Vaux, A. G., Cull, B., Schaffner, F., Gillingham, E., Pfluger, V., & Leach, S. (2017). Detection of the invasive mosquito species *Aedes albopictus* in southern England. *The Lancet Infectious Diseases*, 17(2), 140. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30024-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30024-5)
- Meuti, M. E., Stone, M., Ikeno, T., & Denlinger, D. L. (2015). Functional circadian clock genes are essential for the overwintering diapause of the Northern house mosquito, *Culex pipiens*. *The Journal of Experimental Biology*, 218(3), 412-422. <https://doi.org/10.1242/jeb.113233>
- Michalakis, Y., & Hochberg, M. E. (1994). Parasitic effects on host life-history traits : A review of recent studies. *Parasite*, 1(4), 291-294. <https://doi.org/10.1051/parasite/1994014291>
- Minter, M., Pearson, A., Lim, K.-S., Wilson, K., Chapman, J., & Jones, C. (2018). The tethered flight technique as a tool for studying life-history strategies associated with migration in insects : Tethered flight for studying insect movement. *Ecological Entomology*, 43. <https://doi.org/10.1111/een.12521>
- Miyagi, I. (1972). Feeding habits of some Japanese mosquitoes on cold-blooded animals in the laboratory. *Trop. Med.*, 14, 203-217.
- Moberly, S. P., Lalor, C., McDonough, M., Foster, B., Estes, A., & Bentfield, D. J. (2005). Discovery of an exotic Asian mosquito, *Ochlerotatus japonicus*, (Diptera, Culicidae) in southern Indiana. *Proceedings of the Indiana Academy of Science*, 114(1), 62-64.

- Molaei, G., Farajollahi, A., Scott, J. J., Gaugler, R., & Andreadis, T. G. (2009). Human bloodfeeding by the recently introduced mosquito, *Aedes japonicus japonicus*, and public health implications. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 25(2), 210-214. <https://doi.org/10.2987/09-0012.1>
- Mori, A., Oda, T., & Wada, Y. (1981). Studies on the egg diapause and overwintering of *Aedes albopictus* in Nagasaki. *Trop. Med.*, 23.
- Morris, J. A., Lampman, R. L., Ballmes, G., Funes, J., Halvorsen, J., & Novak, R. J. (2007). First record of *Aedes japonicus japonicus* in Illinois : Defining its spatial distribution and associated mosquito species. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(3), 243-251. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2007\)23\[243:FROAJJ\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2007)23[243:FROAJJ]2.0.CO;2)
- Mosquito maps*. (s. d.). European Centre for Disease Prevention and Control. Consulté 23 septembre 2021, à l'adresse <https://www.ecdc.europa.eu/en/disease-vectors/surveillance-and-disease-data/mosquito-maps>
- Mullen, G. R. (2005). *First report of Ochlerotatus japonicus in Alabama*. 15:2.
- Müller, P., Engeler, L., Vavassori, L., Suter, T., Guidi, V., Gschwind, M., Tonolla, M., & Flacio, E. (2020). Surveillance of invasive *Aedes* mosquitoes along Swiss traffic axes reveals different dispersal modes for *Aedes albopictus* and *Ae. Japonicus*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 14(9), e0008705. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008705>
- Murrell, E. G., Noden, B. H., & Juliano, S. A. (2015). Contributions of temporal segregation, oviposition choice, and non-additive effects of competitors to invasion success of *Aedes japonicus* (Diptera : Culicidae) in North America. *Biological Invasions*, 17(6), 1669-1681. <https://doi.org/10.1007/s10530-014-0824-9>

- Neitzel, D. F., Johnson, K. A., Brogren, S., & Kemperman, M. M. (2009). First collection records of *Aedes japonicus* in Minnesota. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 25(3), 367-369. <https://doi.org/10.2987/09-0015.1>
- Nihei, N., Komagata, O., Mochizuki, K., & Kobayashi, M. (2014). Geospatial analysis of invasion of the Asian tiger mosquito *Aedes albopictus* : Competition with *Aedes japonicus japonicus* in its northern limit area in Japan. *Geospatial Health*, 8(2), 417-427. <https://doi.org/10.4081/gh.2014.30>
- Nylin, S. (2001). Life history perspectives on pest insects : What's the use? *Austral Ecology*, 26(5), 507-517. <https://doi.org/10.1046/j.1442-9993.2001.01134.x>
- Nylin, S., & Gotthard, K. (1998). Plasticity in life-history traits. *Annual Review of Entomology*, 43(1), 63-83. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.43.1.63>
- O'Donnell, D. L., & Armbruster, P. (2007). Comparison of larval foraging behavior of *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 44(6), 984-989.
- Oliver, J., & Howard, J. J. (2005). Fecundity of naturally blood-fed *Ochlerotatus japonicus*. *Journal of Medical Entomology*, 42(3), 254-259.
- Organization, W. H. (2009). *Règlement sanitaire international (2005) : Outil d'évaluation des principales capacités requises des ports, aéroports et postes-frontières désignés* (WHO/HSE/IHR/LYO/2009.9). Article WHO/HSE/IHR/LYO/2009.9. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/70844>
- Osório, H. C., Zé-Zé, L., Neto, M., Silva, S., Marques, F., Silva, A. S., & Alves, M. J. (2018). Detection of the invasive mosquito species *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Diptera : Culicidae) in Portugal. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(4). <https://doi.org/10.3390/ijerph15040820>

- Pascini, T. V., Ramalho-Ortigão, M., & Martins, G. F. (2012). Morphological and morphometrical assessment of spermathecae of *Aedes aegypti* females. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 107(6), 705-712. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762012000600001>
- Patman, J., Michael, S., Lutnesky, M., & Palaniappan, K. (2018, novembre 25). *BioSense : Real-Time Object Tracking for Animal Movement and Behavior Research*.
- Peach, D., Almond, M., & C. Pol, J. (2019). Modeled distributions of *Aedes japonicus japonicus* and *Aedes togoi* (Diptera : Culicidae) in the United States, Canada, and northern Latin America. *Journal of Vector Ecology*, 44, 119-129. <https://doi.org/10.1111/jvec.12336>
- Pérez-Escudero, A., Vicente-Page, J., Hinz, R. C., Arganda, S., & de Polavieja, G. G. (2014). idTracker : Tracking individuals in a group by automatic identification of unmarked animals. *Nature Methods*, 11(7), 743-748. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2994>
- Peterson, A. T., & Lieberman, B. S. (2012). Species' geographic distributions through time : Playing catch-up with changing climates. *Evolution: Education and Outreach*, 5(4), 569-581. <https://doi.org/10.1007/s12052-012-0385-2>
- Peyton, E. L., Campbell, S. R., Candeletti, T. M., Romanowski, M., & Crans, W. J. (1999a). *Aedes* (Finlaya) japonicus japonicus (Theobald), a new introduction into the United States. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 15(2), 238-241.
- Peyton, E. L., Campbell, S. R., Candeletti, T. M., Romanowski, M., & Crans, W. J. (1999b). *Aedes* (Finlaya) japonicus japonicus (Theobald), a new introduction into the United States. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 15(2), 238-241.
- Posada, D. (2008). jModelTest : Phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7), 1253-1256. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn083>

- ProMED: Mosquito, imported – USA (South Dakota)*. (2009). Archive no. 20091022.3640.
<http://www.promedmail.org>
- Reeves, W. K., & Korecki, J. A. (2004). *Ochlerotatus japonicus japonicus (Theobald) (Diptera : Culicidae), a new invasive mosquito for Georgia and South Carolina*. 106:233–234.
- Reinert, J. F., Harbach, R. E., & Kitching, I. J. (2004). Phylogeny and classification of Aedini (Diptera : Culicidae), based on morphological characters of all life stages. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 142(3), 289-368. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2004.00144.x>
- Reinert, J. F., Harbach, R. E., & Kitching, I. J. (2006). Phylogeny and classification of Finlaya and allied taxa (Diptera : Culicidae: Aedini) based on morphological data from all life stages. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 148(1), 1-101. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2006.00254.x>
- Reinhold, J. M., Lazzari, C. R., & Lahondère, C. (2018). Effects of the Environmental Temperature on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Mosquitoes : A Review. *Insects*, 9(4), 158. <https://doi.org/10.3390/insects9040158>
- Reisen, W. K., Lothrop, H. D., & Lothrop, B. (2003). Factors influencing the outcome of mark-release-recapture studies with *Culex tarsalis* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 40(6), 820-829. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-40.6.820>
- Reiter, P., & Sprenger, D. (1987). The used tire trade : A mechanism for the worldwide dispersal of container breeding mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*.
- Reuss, F., Wieser, A., Niamir, A., Bálint, M., Kuch, U., Pfenninger, M., & Müller, R. (2018). Thermal experiments with the Asian bush mosquito (*Aedes japonicus japonicus*)

- (Diptera : Culicidae) and implications for its distribution in Germany. *Parasites & Vectors*, 11(1), 81. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2659-1>
- Reynolds, J. A., Poelchau, M. F., Rahman, Z., Armbruster, P. A., & Denlinger, D. L. (2012). Transcript profiling reveals mechanisms for lipid conservation during diapause in the mosquito, *Aedes albopictus*. *Journal of Insect Physiology*, 58(7), 966-973. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2012.04.013>
- Riles, M., P. Smith, J., D. Burkett-Cadena, N., Rutledge Connelly, C., & Byrd, B. (2017). First record of *Aedes japonicus* in Florida. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 33, 340-344. <https://doi.org/10.2987/17-6696.1>
- Riley, J. R., & Smith, A. D. (2002). Design considerations for an harmonic radar to investigate the flight of insects at low altitude. *Computers and Electronics in Agriculture*, 35(2), 151-169. [https://doi.org/10.1016/S0168-1699\(02\)00016-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1699(02)00016-9)
- Robert, V., Günay, F., Le Goff, G., Boussès, P., Sulesco, T., Khalin, A., Medlock, J., Kampen, H., Petrić, D., & Schaffner, F. (2019). Distribution chart for Euro-Mediterranean mosquitoes (western Palaearctic region). *Journal of the European Mosquito Control Association*, 37, 1-28.
- Roche, B., Léger, L., L'Ambert, G., Lacour, G., Foussadier, R., Besnard, G., Barré-Cardi, H., Simard, F., & Fontenille, D. (2015). The Spread of *Aedes albopictus* in Metropolitan France : Contribution of Environmental Drivers and Human Activities and Predictions for a Near Future. *PLOS ONE*, 10(5), e0125600. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125600>
- Rochlin, I., Gaugler, R., Williges, E., & Farajollahi, A. (2013). The rise of the invasives and decline of the natives : Insights revealed from adult populations of container-inhabiting *Aedes*

- mosquitoes (Diptera: Culicidae) in temperate North America. *Biological Invasions*, 15(5), 991-1003. <https://doi.org/10.1007/s10530-012-0345-3>
- Rodriguez, A., Zhang, H., Klaminder, J., Brodin, T., Andersson, P., & Andersson, M. (2018). ToxTrac : A fast and robust software for tracking organisms. *Methods in Ecology and Evolution*, 9, 460–464. <https://doi.org/10.1111/2041-210x.12874>
- Rogers, D. C., Goldhammer, D. S., Garrison, I., & Cook, A. (2021). First record of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera : Culicidae) in Kansas. *Zootaxa*, 5040(4), 592-600. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.5040.4.10>
- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3 : Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 19(12), 1572-1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Roppo, M. R., Lilja, J. L., Maloney, F. A., & Sames, W. J. (2004). First occurrence of *Ochlerotatus japonicus* in the state of Washington. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 20(1), 83-84.
- Rowley, W., L. Graham, C., & E. Williams, R. (1967). *Laboratory studies of mosquito flight : A Flight Mill system*. 22.
- Russell, R. C., Webb, C. E., Williams, C. R., & Ritchie, S. A. (2005). Mark-release-recapture study to measure dispersal of the mosquito *Aedes aegypti* in Cairns, Queensland, Australia. *Medical and Veterinary Entomology*, 19(4), 451-457. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2005.00589.x>
- Sabatini, A., Raineri, V., Trovato, G., & Coluzzi, M. (1990). *Aedes albopictus* in Italy and possible diffusion of the species into the Mediterranean area. *Parassitologia*, 32(3), 301-304.
- Saenz, V. L., Townsend, L. H., Vanderpool, R. M., Schardein, M. J., Trout, R. T., & Brown, G. C. (2006). *Ochlerotatus japonicus japonicus* in the state of Kentucky. *Journal of the*

- American Mosquito Control Association*, 22(4), 754-755.
[https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2006\)22\[754:OJJITS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2006)22[754:OJJITS]2.0.CO;2)
- Sakai, A. K., Allendorf, F. W., Holt, J. S., Lodge, D. M., Molofsky, J., With, K. A., Baughman, S., Cabin, R. J., Cohen, J. E., Ellstrand, N. C., McCauley, D. E., O'Neil, P., Parker, I. M., Thompson, J. N., & Weller, S. G. (2001). The Population Biology of Invasive Species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32(1), 305-332.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114037>
- Sanders, C. J., & Carpenter, S. (2014). Assessment of an immunomarking technique for the study of dispersal of *Culicoides* biting midges. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 28, 583-587. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.01.020>
- Sardelis, M. R., Dohm, D. J., Pagac, B., Andre, R. G., & Turell, M. J. (2002). Experimental transmission of eastern equine encephalitis virus by *Ochlerotatus j. Japonicus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 39(3), 480-484.
<https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.3.480>
- Sardelis, M. R., & Turell, M. J. (2001). *Ochlerotatus j. Japonicus* in Frederick County, Maryland : Discovery, distribution, and vector competence for West Nile virus. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 17(2), 137-141.
- Sardelis, M. R., Turell, M. J., & Andre, R. G. (2002). Laboratory transmission of La Crosse virus by *Ochlerotatus j. Japonicus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 39(4), 635-639. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.4.635>
- Sardelis, M. R., Turell, M. J., & Andre, R. G. (2003). Experimental transmission of St. Louis encephalitis virus by *Ochlerotatus j. Japonicus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 19(2), 159-162.

- Sáringer-Kenyeres M., & Kenyeres Z. (2019). A case study on phenology and colonisation of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) (Diptera : Culicidae). *Natura Somogyiensis*, 33, 81-86.
- Saunders, D. S. (2014). Insect photoperiodism : Effects of temperature on the induction of insect diapause and diverse roles for the circadian system in the photoperiodic response. *Entomological Science*, 17(1), 25-40. <https://doi.org/10.1111/ens.12059>
- Savignac, R., Back, C., & Bourassa, J. (2002). Biological Notes on *Ochlerotatus japonicus* & other mosquito species new to Quebec. *Abstract number 16PS03*, 21-22.
- Schaffner, F., Bellini, R., Petrić, D., Scholte, E.-J., Zeller, H., & Rakotoarivony, L. (2013). Development of guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe. *Parasites & Vectors*, 6. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-209>
- Schaffner, F., Chouin, S., & Guilloteau, J. (2003a). First record of *Ochlerotatus (Finlaya) japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in metropolitan France. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 19, 1-5.
- Schaffner, F., Chouin, S., & Guilloteau, J. (2003b). First record of *Ochlerotatus (Finlaya) japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in metropolitan France. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 19, 1-5.
- Schaffner, F., & Karch, S. (2000). First record of *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) in metropolitan France. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences Serie 3 Sciences de la Vie (France)*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR2000003117>
- Schaffner, F., Kaufmann, C., Hegglin, D., & Mathis, A. (2009). The invasive mosquito *Aedes japonicus* in Central Europe. *Medical and Veterinary Entomology*, 23(4), 448-451. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2009.00825.x>

- Schaffner, F., & Ries, C. (2019). *First evidence and distribution of the invasive alien mosquito Aedes japonicus (Theobald, 1901) in Luxembourg*. *121*, 169–183.
- Schaffner, F., Vazeille, M., Kaufmann, C., Failloux, A.-B., & Mathis, A. (2011). Vector competence of *Aedes japonicus* for chikungunya and dengue viruses. *European Mosquito Bulletin - Journal of the European Mosquito Control Association*, *29*, 141-142.
<https://doi.org/10.5167/uzh-53052>
- Schoener, E., Zित्रा, C., Weiss, S., Walder, G., Barogh, B. S., Weiler, S., & Fuehrer, H.-P. (2019). Monitoring of alien mosquitoes of the genus *Aedes* (Diptera : Culicidae) in Austria. *Parasitology Research*, *118*(5), 1633-1638. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06287-w>
- Schönenberger, A., Wagner, S., Tuten, H., Schaffner, F., Torgerson, P., Furrer, S., Mathis, A., & Silaghi, C. (2016). Host preferences in host-seeking and blood-fed mosquitoes in Switzerland. *Medical and veterinary entomology*, *30*, 39-52.
<https://doi.org/10.1111/mve.12155>
- Scott, J. (2003). *The Ecology of the Exotic Mosquito Ochlerotatus (Finlay) japonicus japonicus (Theobald 1901)(Diptera : Culicidae) and an Examination of Its Role in the West Nile Virus Cycle in New Jersey*.
https://www.academia.edu/1108510/The_Ecology_of_the_Exotic_Mosquito_Ochlerotatus_Finlay_Japonicus_Japonicus_Theobald_1901_Diptera_Culicidae_and_an_Examination_of_Its_Role_in_the_
- Seidel, B., Montarsi, F., Huemer, H. P., Indra, A., Capelli, G., Allerberger, F., & Nowotny, N. (2016). First record of the Asian bush mosquito, *Aedes japonicus japonicus*, in Italy : Invasion from an established Austrian population. *Parasites & Vectors*, *9*.
<https://doi.org/10.1186/s13071-016-1566-6>

- Seidel, B., Nowotny, N., Bakonyi, T., Allerberger, F., & Schaffner, F. (2016). Spread of *Aedes japonicus japonicus* (Theobald, 1901) in Austria, 2011–2015, and first records of the subspecies for Hungary, 2012, and the principality of Liechtenstein, 2015. *Parasites & Vectors*, *9*. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1645-8>
- Service, M. W. (1980). Effect of wind on the behaviour and distribution of mosquitoes and blackflies. *International Journal of Biometeorology*, *24*, 347-353. <https://doi.org/10.1007/BF02250577>
- Silaghi, C., Beck, R., Capelli, G., Montarsi, F., & Mathis, A. (2017). Development of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in *Aedes japonicus* and *Aedes geniculatus*. *Parasites & Vectors*, *10*(1), 94. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2015-x>
- Sim, C., Kang, D. S., Kim, S., Bai, X., & Denlinger, D. L. (2015). Identification of FOXO targets that generate diverse features of the diapause phenotype in the mosquito *Culex pipiens*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(12), 3811-3816. <https://doi.org/10.1073/pnas.1502751112>
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., & Flook, P. (1994). Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, *87*(6), 651-701. <https://doi.org/10.1093/aesa/87.6.651>
- Smitz, N., De Wolf, K., Deblauwe, I., Kampen, H., Schaffner, F., De Witte, J., Schneider, A., Verlé, I., Vanslebrouck, A., Dekoninck, W., Meganck, K., Gombeer, S., Vanderheyden, A., De Meyer, M., Backeljau, T., Werner, D., Müller, R., & Van Bortel, W. (2021). Population genetic structure of the Asian bush mosquito, *Aedes japonicus* (Diptera, Culicidae), in Belgium suggests multiple introductions. *Parasites & Vectors*, *14*(1), 179. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04676-8>

- Somboon, P., & Suwonkerd, W. (1997). Establishment of a stenogamous colony of *Anopheles minimus* species A. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 91(6), 673-676.
- Sota, T. (1993). Response to selection for desiccation resistance in *Aedes albopictus* Eggs (Diptera: Culicidae). *Applied Entomology and Zoology*, 28, 161-168.
<https://doi.org/10.1303/aez.28.161>
- Spitzen, J., & Takken, W. (2018). Keeping track of mosquitoes : A review of tools to track, record and analyse mosquito flight. *Parasites & Vectors*, 11.
<https://doi.org/10.1186/s13071-018-2735-6>
- Stearns, S. C. (1977). The evolution of life history traits : A critique of the theory and a review of the data. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 8(1), 145-171.
<https://doi.org/10.1146/annurev.es.08.110177.001045>
- Stocker. (2013). *AR5 Climate Change 2013: The Physical Science Basis—IPCC*.
<https://www.ipcc.ch/report/ar5/wg1/>
- Stuart, P., Paredis, L., Henttonen, H., Lawton, C., Ochoa Torres, C. A., & Holland, C. V. (2020). The hidden faces of a biological invasion : Parasite dynamics of invaders and natives. *International Journal for Parasitology*, 50(2), 111-123.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.11.003>
- Sunahara, T., Ishizaka, K., & Mogi, M. (2002). Habitat size : A factor determining the opportunity for encounters between mosquito larvae and aquatic predators. *Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology*, 27(1), 8-20.
- Takashima, I., & Hashimoto, N. (1985). Getah virus in several species of mosquitoes. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 79(4), 546-550.
[https://doi.org/10.1016/0035-9203\(85\)90091-4](https://doi.org/10.1016/0035-9203(85)90091-4)

- Takashima, I., & Rosen, L. (1989). Horizontal and vertical transmission of Japanese encephalitis virus by *Aedes japonicus* (Diptera : Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 26(5), 454-458. <https://doi.org/10.1093/jmedent/26.5.454>
- Tanaka, K., Mizusawa, K., & Saugstad, E. S. (1979). A revision of the adult and larval mosquitoes of Japan (including the Ryukyu Archipelago and the Ogasawara Islands) and Korea (Diptera : Culicidae). *Contributions of the American Entomological Institute*, 16, vii 1–987.
- Tauber, M. J., Tauber, C. A., & Masaki, S. (1986). *Seasonal Adaptations of Insects*. Oxford University Press.
- Thielman, A., & Hunter, F. F. (2006). Establishment of *Ochlerotatus japonicus* (Diptera : Culicidae) in Ontario, Canada. *Journal of Medical Entomology*, 43(2), 138-142. <https://doi.org/10.1093/jmedent/43.2.138>
- Thorn, M., Varnado, W. C., & Goddard, J. (2012). First record of *Aedes japonicus japonicus* in Mississippi. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 28(1), 43-44. <https://doi.org/10.2987/11-6204.1>
- Trájer, A., Hammer, T., Kacsala, I., Tánczos, B., Bagi, N., & Padisák, J. (2017). Decoupling of Active and Passive Reasons for the Invasion Dynamics of *Aedes albopictus* Skuse (Diptera : Culicidae) : Comparisons of Dispersal History in the Apennine and Florida Peninsulas. *Journal of Vector Ecology*, 42(2), 233-242. <https://doi.org/10.1111/jvec.12263>
- Tran, A., L'Ambert, G., Lacour, G., Benoît, R., Demarchi, M., Cros, M., Cailly, P., Aubry-Kientz, M., Balenghien, T., & Ezanno, P. (2013). A rainfall- and temperature-driven abundance model for *Aedes albopictus* populations. *International Journal of Environmental*

Research and Public Health, 10(5), 1698-1719.

<https://doi.org/10.3390/ijerph10051698>

Tsuda, Y., Takagi, M., & Wada, Y. (1994). Ecological study on mosquito communities in tree holes in Nagasaki, Japan, with special reference to *Aedes albopictus* (Diptera; Culicidae). *Medical Entomology and Zoology*, 45(2), 103-111.
<https://doi.org/10.7601/mez.45.103>

Turell, M. J., Byrd, B. D., & Harrison, B. A. (2013). Potential for populations of *Aedes j. Japonicus* to transmit Rift Valley fever virus in the USA. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 29(2), 133-137. <https://doi.org/10.2987/12-6316r.1>

Turell, M. J., O'Guinn, M. L., Dohm, D. J., & Jones, J. W. (2001). Vector competence of North American mosquitoes (Diptera : Culicidae) for West Nile virus. *Journal of Medical Entomology*, 38(2), 130-134. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.2.130>

Urbanski, J. M., Aruda, A., & Armbruster, P. (2010). A transcriptional element of the diapause program in the Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*, identified by suppressive subtractive hybridization. *Journal of Insect Physiology*, 56(9), 1147-1154.
<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2010.03.008>

Urbanski, J. M., Benoit, J. B., Michaud, M. R., Denlinger, D. L., & Armbruster, P. (2010). The molecular physiology of increased egg desiccation resistance during diapause in the invasive mosquito, *Aedes albopictus*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1694), 2683-2692. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0362>

Vavassori, L., Saddler, A., & Müller, P. (2019). Active dispersal of *Aedes albopictus* : A mark-release-recapture study using self-marking units. *Parasites & Vectors*, 12(1), 583.
<https://doi.org/10.1186/s13071-019-3837-5>

- Vazquez-Prokopec, G. M., Ceballos, L. A., Kitron, U., & Gürtler, R. E. (2004). Active dispersal of natural populations of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in rural northwestern Argentina. *Journal of Medical Entomology*, 41(4), 614-621. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-41.4.614>
- Verdonschot, P., & Besse-Lototskaya, A. (2014). Flight distance of mosquitoes (*Culicidae*): A metadata analysis to support the management of barrier zones around rewetted and newly constructed wetlands. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters*, 45, 69-79. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2013.11.002>
- Verhulst, N. O., Loonen, J. A., & Takken, W. (2013). Advances in methods for colour marking of mosquitoes. *Parasites & Vectors*, 6(1), 200. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-200>
- Versteirt, V., Schaffner, F., Garros, C., Dekoninck, W., Coosemans, M., & Van Bortel, W. (2009). Introduction and establishment of the exotic mosquito species *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) in Belgium. *Journal of medical entomology*, 46, 1464-1467. <https://doi.org/10.1603/033.046.0632>
- Wagner, S., Mathis, A., Schönenberger, A. C., Becker, S., Schmidt-Chanasit, J., Silaghi, C., & Veronesi, E. (2018). Vector competence of field populations of the mosquito species *Aedes japonicus japonicus* and *Culex pipiens* from Switzerland for two West Nile virus strains. *Medical and Veterinary Entomology*, 32(1), 121-124. <https://doi.org/10.1111/mve.12273>
- Werner, D., & Kampen, H. (2013a). The further spread of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera, Culicidae) towards northern Germany. *Parasitology Research*, 112(10), 3665-3668. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3564-3>

- Werner, D., & Kampen, H. (2013b). The further spread of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera, Culicidae) towards northern Germany. *Parasitology Research*, 112(10), 3665-3668. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3564-3>
- Westby, K. M., Fritzen, C., Paulsen, D., Poindexter, S., & Moncayo, A. C. (2015). La Crosse Encephalitis virus infection in field-collected *Aedes albopictus*, *Aedes japonicus*, and *Aedes triseriatus* in Tennessee. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 31(3), 233-241. <https://doi.org/10.2987/moco-31-03-233-241.1>
- Widdel, A. K., McCuiston, L. J., Crans, W. J., Kramer, L. D., & Fonseca, D. M. (2005). Finding needles in the haystack : Single copy microsatellite loci for *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 73(4), 744-748.
- Wieser, A., Reuss, F., Niamir, A., Müller, R., O'Hara, R. B., & Pfenninger, M. (2019). Modelling seasonal dynamics, population stability, and pest control in *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae). *Parasites & Vectors*, 12(1), 142. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3366-2>
- Wilkerson, R. C., Linton, Y.-M., Fonseca, D. M., Schultz, T. R., Price, D. C., & Strickman, D. A. (2015). Making mosquito taxonomy useful : A stable classification of tribe Aedini that balances utility with current knowledge of evolutionary relationships. *PLOS ONE*, 10(7), e0133602. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133602>
- Wilkerson, R. C., Linton, Y.-M., & Strickman, D. (2021). *Mosquitoes of the World*. Johns Hopkins University Press. <https://www.bookdepository.com/Mosquitoes-World-Volumes-1-2-Richard-C-Wilkerson/9781421438146>
- Wilkinson, D. A., Lebon, C., Wood, T., Rosser, G., & Gouagna, L. C. (2014). Straightforward multi-object video tracking for quantification of mosquito flight activity. *Journal of Insect Physiology*, 71, 114-121. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.10.005>

- Williamson, M., & Fitter, A. (1996). The varying success of invaders. *Ecology*, 77(6), 1661-1666.
<https://doi.org/10.2307/2265769>
- Williges, E., Farajollahi, A., Scott, J. J., McCuiston, L. J., Crans, W. J., & Gaugler, R. (2008). Laboratory colonization of *Aedes japonicus japonicus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24(4), 591-593. <https://doi.org/10.2987/5714.1>
- Wirth, C. M. (2006). *Ochlerotatus japonicus* found in Multnomah County. 35:4-5.
- Young, C. L., Beery, J., Sheffer, R., & Rand, K. (2004). First record of *Ochlerotatus japonicus* (Diptera : Culicidae) in St. Joseph County, Indiana. *The Great Lakes Entomologist*, 37(2).
<https://scholar.valpo.edu/tgle/vol37/iss2/11>
- Zheng, X., Zhang, D., Li, Y., Yang, C., Wu, Y., Liang, X., Liang, Y., Pan, X., Hu, L., Sun, Q., Wang, X., Wei, Y., Zhu, J., Qian, W., Yan, Z., Parker, A. G., Gilles, J. R. L., Bourtzis, K., Bouyer, J., ... Xi, Z. (2019). Incompatible and sterile insect techniques combined eliminate mosquitoes. *Nature*, 572(7767), 56-61. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1407-9>
- Zielke, D. E., Ibáñez-Justicia, A., Kalan, K., Merdić, E., Kampen, H., & Werner, D. (2015). Recently discovered *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) populations in The Netherlands and northern Germany resulted from a new introduction event and from a split from an existing population. *Parasites & Vectors*, 8, 40.
<https://doi.org/10.1186/s13071-015-0648-1>
- Zielke, D. E., Walther, D., & Kampen, H. (2016). Newly discovered population of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera : Culicidae) in Upper Bavaria, Germany, and Salzburg, Austria, is closely related to the Austrian/Slovenian bush mosquito population. *Parasites & Vectors*, 9, 163. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1447-z>
- Zielke, D. E., Werner, D., Schaffner, F., Kampen, H., & Fonseca, D. M. (2014). Unexpected patterns of admixture in German populations of *Aedes japonicus japonicus* (Diptera :

Culicidae) underscore the importance of human intervention. *PloS One*, 9(7), e99093.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099093>

Caractérisation des traits biologiques du moustique invasif *Aedes japonicus* *japonicus* (Theobald) (Diptera : Culicidae) dans le Nord-Est de la France.

Résumé

Aedes japonicus (Theobald) est un moustique vecteur, originaire d'Asie du Sud-Est. Dès 2000, cette espèce invasive est introduite et progresse en Europe jusqu'à atteindre la région du Rhin supérieur.

L'objectif principal de cette thèse est de caractériser les traits biologiques d'invasion de ce moustique dans le nord-est de la France en comblant les lacunes de connaissances sur la diapause hivernale et sa capacité de dispersion. Les travaux de recherches présentés ici auront permis de mieux connaître la biologie d'une population d'*Ae. japonicus*, en caractérisant des éléments permettant d'expliquer son succès d'invasion tels que : (i) sa diversité génétique, (ii) sa capacité à produire des œufs diapausants tout au long de l'année et (iii) ses aptitudes à disperser de plusieurs kilomètres par le vol actif. Ces caractéristiques ont été reprises dans un modèle de dynamique des populations permettant de mieux comprendre sa colonisation en zone tempérée.

En perspective, cette thèse permet notamment de prendre en compte la diapause et les capacités de vol actif dans les réflexions sur le développement de nouvelles stratégies de lutte contre cette espèce invasive.

Mots-clefs : *Aedes japonicus*, vecteur, invasif, Trait d'Histoire de Vie, diapause, dispersion

Résumé en anglais

Aedes japonicus (Theobald) is a vector mosquito native from Southeast Asia. Since 2000, this invasive species started to colonise Europe and reached recently the Upper Rhine valley region.

The main objective of this thesis is to characterise invasive biological traits of this mosquito species in the Northeast of France and to fill the gap of knowledge regarding winter diapause and dispersal capacities. The result presented in this dissertation have lead to a to better understanding of the population biology of the East Asian Bush Mosquito, as we characterise key points explaining its successful invasiveness: (i) its genetic diversity, (ii) its capacities to produce diapausing eggs along the season and, (iii) its dispersal capacities which allow specimens to fly several kilometre. Those characteristics were implemented in a dynamic population model to improve comprehension of its colonisation in temperate region.

In future, this thesis particularly allows to take into account both diapause phenomenon and flight capacities to develop novel control strategies against this invasive.

Keywords: *Aedes japonicus*, vector, invasiv, Life History Traits, diapause, dispersal capacities