

Végéphyll – COLLOQUE SCIENTIFIQUE SUR LES BIOAGRESSEURS DU BUIS
TOURS – 16 ET 17 OCTOBRE 2018

RECHERCHE ET INVENTAIRE D'AGENTS POTENTIELS DE REGULATION BIOLOGIQUE LIES A
LA PYRALE DU BUIS EN MILIEU NATUREL

E. TABONE ⁽¹⁾, O. BAUBET ⁽³⁾, F. ROCHER ⁽¹⁾, N. FORMEZ ⁽¹⁾, E. COLOMBEL ⁽¹⁾, M. VENARD ⁽¹⁾, M.
CORREARD ⁽²⁾, O. GILG ⁽²⁾, J. THEVENET ⁽²⁾, J.-C. MARTIN ⁽²⁾

⁽¹⁾UEFM INRA PACA, SITE VILLA THURET, 90 CH. RAYMOND, 06160 ANTIBES, FRANCE
elisabeth.tabone@inra.fr

⁽²⁾UEFM INRA PACA, SITE AGROPARC, DOMAINE SAINT PAUL, 84914 AVIGNON CEDEX 9,
FRANCE jean-claude.martin@inra.fr

⁽³⁾DRAAF-SRAL AUVERGNE-RHONE-ALPES, SITE DE MARMILHAT, BP 45, 63370 LEMPDES,
FRANCE

RÉSUMÉ

Dans le cadre du projet BIOPYR (2017-2019), financé par la DRAAF Auvergne-Rhône-Alpes, un des objectifs est d'étudier l'entomofaune associée au buis suite à l'arrivée d'un intrant invasif, *Cydalima perspectalis* Walker (Lepidoptera : Crambidae). Pour cela, un inventaire des auxiliaires, qui auraient spontanément parasité ou consommé la pyrale du buis depuis son introduction en France, est réalisé. Pour ce qui est des parasites, des échantillons de larves, œufs et chrysalides de pyrale du buis sont régulièrement collectés dans cinq départements de la région Auvergne-Rhône-Alpes entre mai et septembre. Tous les insectes présents dans les boîtes de collecte et qui émergent de la pyrale sont récupérés par le laboratoire Biocontrôle INRA UEFM à Antibes puis déterminés grâce à l'appui d'entomologistes systématiciens. Ainsi, une situation actuelle du système « buis » et sa réaction face aux attaques de la pyrale du buis sont obtenues avec une possibilité d'étude de la dynamique au fil des ans. Enfin, une tentative d'élevage des parasitoïdes potentiels est amorcée en vue d'évaluer leur efficacité comme agent de lutte biologique. En 2017, cinq types de prédateurs ont été repérés (araignées, syrphidées, chauve-souris, mésanges, guêpe poliste) ainsi que des chrysopes, coccinelles et hétéroptères. Quatre hyménoptères et un diptère (de la famille des Tachinidae) ont été inventoriés sur larves et chrysalides de la pyrale du buis. Malgré la toxicité de la pyrale du buis, due à l'accumulation des alcaloïdes dans les larves, des espèces indigènes s'adaptent déjà à ce nouvel hôte et sont capables de réaliser un cycle de développement complet dessus.

Mots-clés : *Cydalima perspectalis*, parasite, prédateur, forêt de buis, inventaire.

ABSTRACT

INVESTIGATION AND INVENTORY OF POTENTIAL BIOLOGICAL CONTROL AGENTS LINKED TO BOX-TREE MOTH IN NATURAL ENVIRONMENT

The program BIOPYR (2017-2018) aimed to study the fauna associated to box tree following the arrival of an invasive pest, *Cydalima perspectalis* Walker (Lepidoptera: Crambidae). For this an inventory, of insects which would take the box tree moth as a prey or as a host since its introduction in France, is currently in progress. For the parasite study, *C. perspectalis* moths, eggs, pupae samplings are regularly collected in five French departments of the Auvergne-Rhône-Alpes region, between May to September. This program is financed by this French ARA region. All collected insects are managed by the Biocontrol Laboratory at INRA Antibes and determined by entomologists. Thus, a current situation of the "box wood" system and its reaction to the attacks of boxwood pest are obtained with a possibility of studying its dynamic over the years. Finally, an attempt is made to rear potential parasitoids to evaluate their efficacy as a biological control agent. In 2017, five kind of predators (spider, bat, tit, wasp and syrphid flies) as well as lacewings, ladybirds and heteroptera have been kept. Four hymenopterans and one diptera were investigated on pupae and caterpillars of the box tree moths. Despite *C. perspectalis* toxicity (because of box tree alkaloids concentration) indigenous species have parasited this new host and are able to realize their total life cycle on it.

Keywords: *Cydalima perspectalis*, parasitoid, predator, box tree forest, inventory.

INTRODUCTION

La multiplication des échanges commerciaux mondiaux de bois et de plantes ornementales est un des facteurs à l'origine de l'introduction d'insectes exotiques envahissants (Roques, 2010). L'Asie, et notamment la Chine, est depuis trente ans l'origine majoritaire des espèces d'insectes invasives trouvées en Europe (Roques, 2010).

La pyrale du buis *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859) (Lepidoptera : Crambidae), papillon invasif originaire de l'Est de l'Asie (Mally et Nuss, 2010), en est un parfait exemple. C'est un ravageur spécifique du buis (Marumayama et Shinkaji, 1993), maintenant largement répandu en Europe (Bella, 2013) et en France depuis 2008 (Feldtrauer et al., 2009), dont la femelle pond en moyenne 800 œufs (Tabone et al., 2015a). La pyrale du buis a colonisé 87 départements en France en 8 ans (fig. 1).

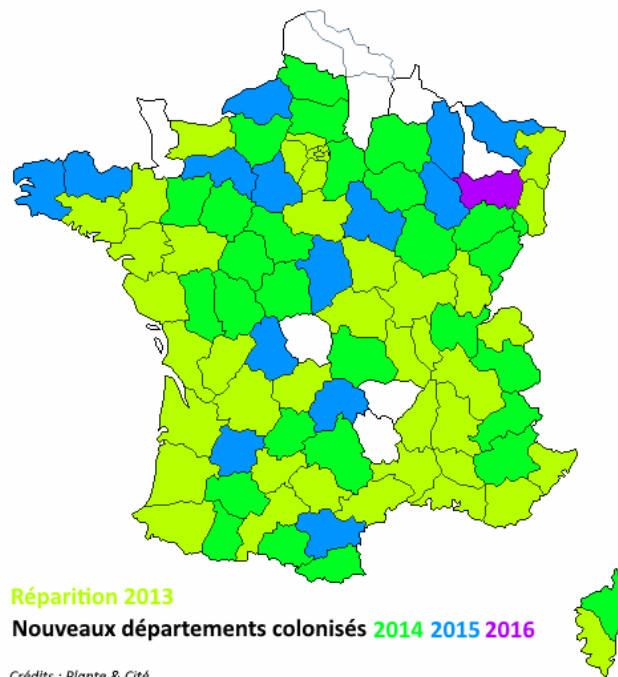


Figure 1 : Carte de répartition de la pyrale du buis en France selon la date d'arrivée dans chaque département (2013-2016)

Figure 1: Distribution map of boxwood moth in France according to the date of arrival in each department (2013-2016)

En 2014, le ravageur est également passé dans le milieu forestier (Le Crenn, 2015 ; Martin, 2017 ; Martin et Brinquin, 2017). La prolificité élevée de la pyrale du buis, couplée à sa capacité de dispersion importante (environ 5 à 6 km/an) et au manque d'ennemies naturels (Nacambo, 2012) lui permettent de coloniser et de s'établir rapidement dans de nouveaux habitats. En effet, en 2016, les populations de la pyrale du buis ont explosé avec 3 générations au cours de l'année (CABI, 2016 ; Martin, 2017). Sa fécondité élevée donne naissance à un grand nombre de larves qui se nourrissent des feuilles du buis jusqu'à la défoliation totale du végétal. Le buis touché présente alors des symptômes de dessèchement, pouvant provoquer la mort de parties aériennes voire du pied lui-même (Kenis et al., 2013). Les générations étant souvent chevauchantes, les dégâts occasionnés par la larve sont répartis sur toute la durée d'activité de la pyrale, entre avril et octobre (Guerin, 2015). Les chenilles ravagent indistinctement les différentes espèces de buis plantées en parcs et jardins comme celles constitutives des buxaias naturelles européennes (Leuthardt et Baur, 2013). Ces populations de buis sont fréquentes à l'échelle de l'Europe bien que parfois fragmentées (Di Domenico et al., 2012). Ainsi, pour l'instant, la pyrale n'est pas limitée par le manque de ressources. Par ailleurs, le buis étant une plante peu consommée, la pyrale n'est pas non plus soumise à une pression de compétition (Nacambo et al.,

2014). Au cours de sa croissance la pyrale accumule les alcaloïdes toxiques des feuilles du buis (Leuthardt *et al.*, 2013), ce qui pourrait expliquer la faible prédation observée depuis son introduction (Nacambo *et al.*, 2014). L'expansion de la pyrale semble principalement limitée par des facteurs climatiques : le froid dans le nord de l'Europe (en Scandinavie et au nord de l'Ecosse) empêcherait son développement complet tandis que la trop brève période froide au sud ne serait pas suffisante pour l'induction de la sortie de diapause (arrêt du développement de la chenille en hiver) (Nacambo *et al.*, 2014). Selon ces prédictions, la majeure partie de l'Europe est susceptible d'être colonisée par la pyrale.

Des milliers d'hectares de buis sont à présent défoliés et, d'années en années, l'infestation se propage comme une trainée de poudre faisant craindre la disparition des buis et donc des changements importants dans les écosystèmes forestiers. Au-delà des impacts esthétiques, économiques et culturels provoqués par l'action de la pyrale sur les buis d'ornement, ce ravageur a un impact écologique non négligeable en milieu naturel (Lopez-Vaamonde *et al.*, 2010). La pyrale est une menace pour la survie des buis, mais elle est également susceptible de changer la composition et le fonctionnement d'écosystèmes où le buis joue un rôle majeur. Il a déjà été observé que la défoliation du buis entraîne une exposition au soleil accrue au niveau du sol, modifiant la composition de la strate herbacée (Kenis *et al.*, 2013). Son absence perturbe également la biodiversité car cette strate arbustive est un des éléments clé de la recolonisation des forêts après une perturbation (feu, etc.). D'autres dégâts collatéraux sont envisagés : augmentation de l'érosion des sols et des chutes de pierre, aggravation des risques d'incendie, disparition d'espèces inféodées aux buis entre autres.

Face à ces attaques, la question de la manière dont réagit le milieu naturel et en particulier l'entomofaune se pose. Des parasites vont-ils élargir leur spectre d'hôte et les prédateurs celui de leurs proies ? Dans une étude récente sur les ennemis naturels de *C. perspectalis* au NO de la Suisse (Nacambo, 2012), 5144 chenilles ont été collectées sur 19 sites et à des dates espacées entre le 28 Mars 2011 et le 06 Août 2012. 34 individus de la tachinaire *Pseudoperichaeta nigrolineata* (Walker) ont émergé des derniers stades larvaires. Cette tachiniare attaque à la fois la première génération en Avril–Mai et la seconde génération en Juillet–Août. Au total, elle a été trouvée sur 6 sites différents : 3 jardins privés et 3 sites naturels tous localisés dans les Cantons Suisse de Basel-Landschaft et Basel-Stadt et à la frontière du District de Lörrach dans le Baden-Württemberg (Allemagne). De plus, le taux d'adoption par les indigènes est susceptible d'augmenter avec le temps et, dans certains cas, peut entraîner une réduction substantielle de la population du ravageur exotique (Kenis *et al.*, 2017).

La pyrale, par les défoliations massives de buis qu'elle cause, transforme l'habitat de l'entomofaune de cette plante de manière radicale. Cette disparition d'un habitat peut être cause d'un déplacement des individus en raison de la raréfaction de la ressource alimentaire entraînant en cascade un déplacement des prédateurs et parasites à la recherche de proies et d'hôtes. De même, les parasites et prédateurs généralistes peuvent devenir plus abondants sur le buis en raison de l'augmentation de la ressource alimentaire qu'est potentiellement la pyrale. En 2016 (fig. 2), des premiers signes d'adaptation des auxiliaires et prédateurs de la pyrale du buis ont été observés tels des œufs de tachinaire sur chenille, des pinsons et mésanges se nourrissant de chenilles et une puppe de tachinaire sur une chrysalide de pyrale du buis en Camargue.



Figure 2 : Prédation des chenilles de pyrale par un pinson des arbres (a) et une mésange charbonnière (b) et parasitisme (c) d'une chenille de pyrale du buis par une tachinaire (Diptère). (Photos : (a) Anne-Sophie Brinquin ; (b) J-Cl Martin ; (c) Gille Carcasse ; 2017)

Figure 2: Predation of box tree moths by a chaffinch (a) and a great tit (b) and parasitism (c) of these same moths by a tachinid fly (Diptera). (Photos : (a) Anne-Sophie Brinquin ; (b) J-Cl Martin ; (c) Gille Carcasse ; 2017)

C'est de l'hypothèse que des parasites et prédateurs généralistes et opportunistes vont intégrer la pyrale du buis dans leur panel de proies et d'hôtes, qu'est né le projet BIOPYR (Recherche et inventaire d'agents potentiels de régulation biologique, liés à la pyrale du buis, en milieu naturel forestier en région Auvergne-Rhône-Alpes) porté par la Direction Régionale de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt Auvergne-Rhône-Alpes (DRAAF AURA). La première année du projet, un focus est fait sur la recherche de parasites des œufs, larves et chrysalides de la pyrale qui pourraient s'être adaptés à la pyrale depuis son introduction dans le milieu forestier en Auvergne-Rhône-Alpes en 2014. En région Auvergne-Rhône-Alpes les dégâts sont importants depuis 2015 et les défoliations totales en 2016 et 2017. Ce projet est basé sur une relation étroite entre l'équipe terrain de l'INRA UEFM (Avignon), qui récupère une fois par mois des échantillons de pyrale du buis dans 5 départements (Ain, Ardèche, Drôme, Isère, Savoie) entre Mai et Septembre, et le Laboratoire Biocontrôle de l'UEFM (Antibes), qui se charge de la récupération et de la caractérisation (parasitoïde, prédateur, phytophage, détritiphage) des insectes qui émergent des différents échantillons (Martin, 2017). De plus, les correspondants observateurs DSF des départements touchés réalisent un suivi continu afin de mieux appréhender la dynamique des populations de pyrale en milieu naturel et leur progression. Le programme a débuté au cours de l'année 2017 et s'étendra sur 3 ans.

Les échantillons de terrain étudiés proviennent des zones les plus anciennement infestées par le ravageur et sont caractéristiques de microclimats variés. Le programme BIOPYR permet de faire un suivi de l'état général et de la réaction des différents milieux face à la pyrale du buis (réalisé par le DSF à l'aide d'un système de placettes caractéristiques dans chaque zone touchée) mais aussi d'acquérir des connaissances plus poussées sur l'écosystème buis et les différentes espèces concernées par ce milieu de vie en danger. En cas de sortie d'un parasite autochtone, agent potentiel de régulation biologique de la pyrale du buis, une tentative d'élevage sera faite en vue d'une réflexion sur une stratégie de biocontrôle de la pyrale en milieu naturel.

MATERIEL ET MÉTHODE

ECHANTILLONNAGE DANS 5 DEPARTEMENTS EN AUVERGNE-RHONE-ALPES

Méthode d'échantillonnage

En moyenne 300 individus du ravageur sont prélevés de façon systématique sur un site pour chacun des 5 départements (Savoie (73), Ain (01), Isère (38), Drôme (26), Ardèche (07)) de la région AURA une fois par mois d'avril à septembre. Le choix des départements s'est fait suivant la zone de répartition du buis en milieu naturel. Pour ce qui est des sites, le choix s'est porté sur ceux qui présentaient des signes d'attaque et étaient les plus anciennement attaqués (base de données Département Santé des Forêts), avec des écosystèmes variés.

La tournée se déroule sur 3 jours en début de semaine. Les boîtes sont rapidement transmises au laboratoire bioncontrôle, après un stockage en chambre climatique à Avignon (25°C, 75%HR).

Liste des sites échantillonnés en 2017 (figure 3)

Ain (01) : Contrevoz-Belley

Savoie (73) : Chambéry (Col du Granier)

Isère (38) : Gorges du Nan (Cognin-les-Gorges)

Drôme (06) : Saint-Nazaire-en-Royan (Combe Laval)

Ardèche (07) : Saint Péray et Saint Julien-en-Saint-Alban

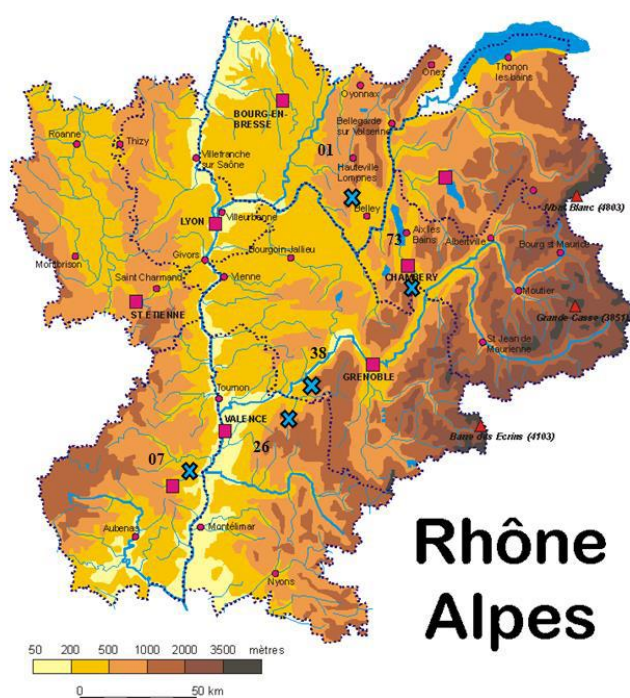


Figure 3 : Les croix bleues indiquent les sites d'échantillonnage de la pyrale du buis dans chaque département de la région AURA

Figure 3: Blue crosses indicates the Box Tree Moth samplings places in each French department of the AURA region

En cas de défoliation complète d'un site, un autre site est recherché aux alentours.

Conditionnement des échantillons et système de codification

Pendant la tournée, les échantillons sont conditionnés en boîtes en plastique transparent (36*23.5*14cm) possédant des trous d'aération fermés par un grillage de maille 150µm au niveau des parois. Du buis frais est ajouté au cours du transport pour maintenir les chenilles en vie. Pour limiter la mortalité due à la chaleur, les boîtes sont stockées dans des glacières avec pains de glace. Pendant les prélèvements, les œufs de pyrale et les cas dits suspects (chenille mourante ou d'une couleur inhabituelle, chrysalide de couleur inhabituelle, présence de pupes, parasitisme, difformités, ...) sont isolés dans des tubes fermés par un fin tissu pour l'aération.

Chaque tube est codifié de la façon suivante : Biopyr – jour/mois collecte – département – numéro du tube. Pour les boîtes le code est : Biopyr – département – numéro de la boîte – jour/mois/année de collecte. A chaque boîte correspond une fiche de notation indiquant : le nom du site, le nom de l'opérateur, la date de collecte, les nombres de chenilles, chrysalides, papillons et pontes prélevés, les coordonnées gps du prélèvement, le numéro de la boîte de stockage, les numéros des photos prises, les observations sur l'état du buis (% défoliation, repousse, ...), la météo du jour, les observations sur la pyrale (stade, cas suspects, mortalité, ...), les observations de prédateurs, les autres observations.

GESTION DES ECHANTILLONS DE PYRALE ET SUIVI DU PARASITISME EN LABORATOIRE

Méthode de prélèvement des parasites en laboratoire

A Antibes, les échantillons sont stockés en laboratoire sur des étagères à 25±3°C, 70±10%HR, photopériode 16L :8D. A leur réception, les chenilles sont comptées et réparties en deux boîtes à raison d'un maximum de 150 chenilles par boîte. Le couvercle de chaque boîte est parsemé de gouttes de miel afin d'attirer les insectes émergents et les maintenir en vie. Du buis frais indemne de toute attaque (Col de Vence (06)) est ajouté au fur et à mesure de la consommation.

Tous les jours, les parois et couvercles des boîtes cristal sont minutieusement inspectés à la recherche de tous types d'insectes puis les boîtes sont ouvertes dans une grande cage de récupération en plexiglas transparent (60*60*110cm) avec un néon allumé positionné à l'arrière. Tout insecte sortant est récupéré en tube eppendorf sur lequel sont inscrits le code de la boîte d'origine et la date du jour. Ensuite, les papillons qui émergent sont récupérés dans cette même cage au moyen de bocaux en verre. Dans un tableau sont répertoriés, le code de chaque boîte, la date du jour d'émergence, le nombre de papillons afin d'avoir une idée du % d'émergence et pour déterminer les dates d'arrêt des observations (2 semaines après l'émergence du dernier papillon). Lors de l'arrêt d'une boîte, tout déchet biologique est passé au congélateur à -20°C pendant 10 jours avant d'être mis en sac poubelle et d'aller à la benne.

Tous les individus récupérés dans les boîtes sont conditionnés en tube eppendorf rempli d'alcool à 70% et pris en photo sous loupe binoculaire (microscope VHX-2000). Les photos et échantillons sont ensuite envoyés pour détermination morphologique à des entomologistes de sociétés privées, de l'université de Rome ou du muséum de Londres.

Après détermination, une recherche bibliographique est menée sur chaque espèce afin de mieux connaître son régime alimentaire et confirmer ou non qu'il s'agit d'un parasite de lépidoptère donc potentiellement de la pyrale du buis.

Des études bibliographiques ont été faites également afin d'identifier les insectes liés à la pyrale (insectes de l'aire d'origine et d'Europe) et d'identifier les autres ravageurs du buis.

Mise en élevage

Les parasites pour lesquels la certitude ou une forte suspicion est faite sur leur émergence des chenilles ou chrysalides de pyrale sont mis en élevage afin de s'assurer (1) de leur potentiel comme parasite de la pyrale et (2) d'évaluer leur capacité en tant qu'agent potentiel de régulation biologique.

Pour chaque individu ou chaque couple d'une espèce, est mis à disposition 50 œufs, 3 chenilles de chaque stade et 3 chrysalides de pyrale du buis à raison d'un renouvellement tous les 3 jours tout le long de la vie du parasite présumé. En attendant d'éventuelles émergences d'insectes de la même espèce, les individus sont maintenus en vie à température basse (15 à 18°C).

Une fois les insectes morts suite aux essais d'élevage, ils sont conditionnés en tube avec alcool et envoyés aux spécialistes ciblés pour une détermination morphologique. Après identification, une étude bibliographique est menée en vue de connaître son écologie et son régime alimentaire.

RESULTATS

ELEVAGE

Les élevages ne donnent pas de résultat à ce jour. Les protocoles sont adaptés régulièrement en fonction des informations trouvées dans la bibliographie et recueillies auprès des spécialistes mais aussi de nos premières observations.

Les difficultés viennent de la méconnaissance des cycles de vie, du comportement reproducteur, de l'âge de maturation sexuelle mais aussi du peu d'individus de la même espèce et surtout de l'absence du partenaire sexuel simultanément.

ETAT DES SITES

Détail des différentes situations observées jusqu'à présent (Annexe I) :

- Fin avril : défoliation totale avec des buis secs pour la plupart et quelques repousses. Les buis encore verts sont attaqués à raison d'au moins 50%. Des chenilles affamées sont observées. Tous les stades larvaires sont présents.
- Fin mai : reprise de buis avec des repousses non attaquées. Observation de papillons en vol. Collecte de chrysalides et derniers stades larvaires. Les attaques d'avril se poursuivent.
- Mi-Juillet : les repousses sont attaquées. Tout est défolié ou sec sauf quelques rares cas (Saint-Baldoph, Ain). Des papillons en vol sont observés et des jeunes stades sont essentiellement collectés.
- Début Août : défoliation totale presque partout. Les écorces se font attaquer à leur tour. Tous les stades sont présents jusqu'à la chrysalide et au papillon en vol. Des jeunes stades en cocons sont aperçus (diapause estivale ?).
- Mi-septembre : des buis secs avec des repousses majoritairement intactes. Selon les sites, présence des derniers stades larvaires jusqu'au papillon en majorité. A Contrevoz (Ain) et Saint-Baldoph (Savoie) des jeunes stades en cocons sont présents.

En cas de défoliation totale, des nymphoses sur d'autres végétaux à proximité sont observées sans que ces derniers soient eux-mêmes attaqués.

BILAN DES PREMIERES COLLECTES D'INSECTES ET AUTRES ARTHROPODES

Identification des parasites trouvés

Suite à la campagne de collecte de 2017, plusieurs espèces de parasitoïdes ont été trouvées dans les échantillons récupérés dans les 5 départements de la région AURA. 391 insectes ont été prélevés entre la fin du mois d'avril et le début du mois de septembre 2017. Seul le cas des parasites de pyrale sera développé dans cette étude. Le parasitoïde le plus retrouvé (96% des parasitoïdes trouvés) est *Compsilura concinnata* (Meigen, 1824) (Diptera : Tachinidae). Sur les 391 prélèvements, 22% correspondent à cette tachinaire. 12% des prélèvements correspondent à des Hyménoptères et certains de ces individus sont potentiellement des parasitoïdes de la pyrale du buis. Dans le département de l'Ain, *Meteorus pendulus* (Muller, 1776) (Hymenoptera : Braconidae) a émergé d'une larve de pyrale préalablement isolée début juin et *Itoplectis maculator* (Fabricius, 1775) (Hymenoptera : Ichneumonidae) a été prélevé mi-juin. Dans la Drôme, un individu de l'espèce *Stibeutes sp.* (Förtser, 1869) (Hymenoptera : Ichneumonidae) a été récupéré fin juillet. Enfin, dans l'Ardèche un parasitoïde oophage polyphage a été récupéré mi-juillet. Il s'agit de *Amblyscelio striaticeps* (Kieffer, 1913) (Hymenoptera : Platygasteridae) (fig. 4).



Figure 4 : Photos des espèces de parasitoïdes larvaires potentiels de la pyrale du buis prélevées dans le cadre du projet BIOPYR (source : Laboratoire Biocontrôle - 2017)

Figure 4: Pictures of potential larval parasitoids of the Box tree Moth removed during BIOPYR program (source: Laboratoire Biocontrôle – 2017)

Cependant, la majorité des Hyménoptères prélevés sont des parasitoïdes d'autres ravageurs du buis tels que des espèces gallocoles appartenant à la famille Cecidomyiidae (Diptère), des diptères mineuses et des coléoptères phytophages. La présence de ce complexe de parasitoïdes est en accord avec la bibliographie réalisée sur les ravageurs potentiels du buis.

Taux de parasitisme (2017)

En fonction du département, les taux de parasitisme varient entre 1 et 8% (fig. 5a et 5b). Il sont majoritairement dus au parasitisme par *C. concinnata*. La Drôme et l'Isère sont les départements présentant les plus forts taux de parasitisme en 2017 (fig. 5a). Les résultats révèlent la présence de parasitisme à toutes les dates de prélèvement sauf en avril (fig. 5b). Le pic est atteint en mai pendant le printemps. Ces graphiques permettent de montrer la pertinence des prélèvements dans

tous les départements et mettent en évidence que ceux-ci doivent se faire à partir de début mai jusqu'à la rentrée naturelle en diapause de la pyrale (courant septembre selon les climats).

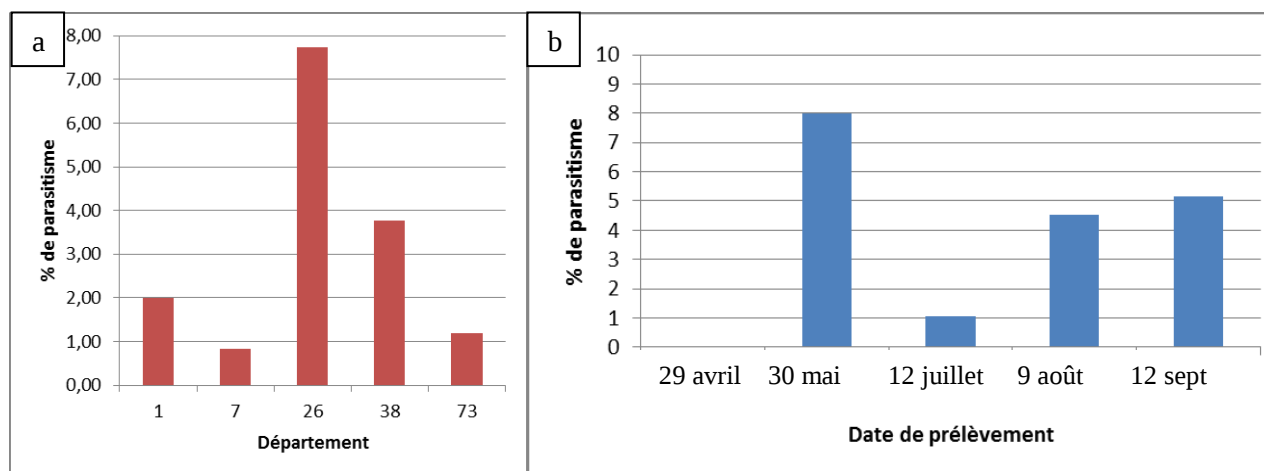


Figure 5 : Taux de parasitisme (%) de la pyrale du buis en fonction du département (a) et de la date d'échantillonnage (b)

Figure 5: Box tree moth parasitism rate (%) depending on the French department (a) and the date of sampling (b)

Il a été dit précédemment que *Compsilura concinnata* était le parasitoïde majoritairement retrouvé, c'est pourquoi une étude spécifique du parasitisme de cette espèce a été réalisée.

Le département de la Drôme représente plus de la moitié des prélèvements de *C. concinnata*. La Savoie est le département dans lequel la tachinaire est la moins présente avec seulement 2% des prélèvements. Les autres départements se partagent le reste des individus de la tachinaire. Après étude des émergences en conditions contrôlées en laboratoire, les dates préférentielles pour la recherche de *C. concinnata* adulte sur le terrain en 2017, ont été déterminées de début à fin juin et de fin août à septembre, même si quelques individus ont pu être trouvés en juillet et août (tableau II).

Tableau II : Emergence de *C. compsilura* au cours du temps et en fonction des départements

Table II: *C. compsilura* emergence over time depending on French departments

Département	Date de collecte			
	Fin mai	Mi-Juillet	Début Août	Mi-Septembre
Ain	x	x		
Ardèche		x	x	
Drôme	x		x	x
Isère	x		x	x
Savoie	x		x	x

Compsilura concinnata est présente dans tous les départements et durant toute la période de collecte (Tableau II). Plus en détail, la dynamique de ce parasite trouvé cette année est difficilement interprétable par les seuls résultats de 2017, de part des prélèvements trop espacés dans le temps et un développement de ce parasite dépendant du cycle de la pyrale (3 pics). Ainsi, le faible pourcentage de parasitoïdes collectés en juillet n'est pas interprétable. De plus, les échantillons collectés au début du mois de juillet et du mois d'août ayant subi de très fortes températures *in situ*,

l'ensemble des parasites (tachinaires et les hyménoptères) pouvant être thermiquement sensibles, cela pourrait-il expliquer leur absence ? (fig. 6).

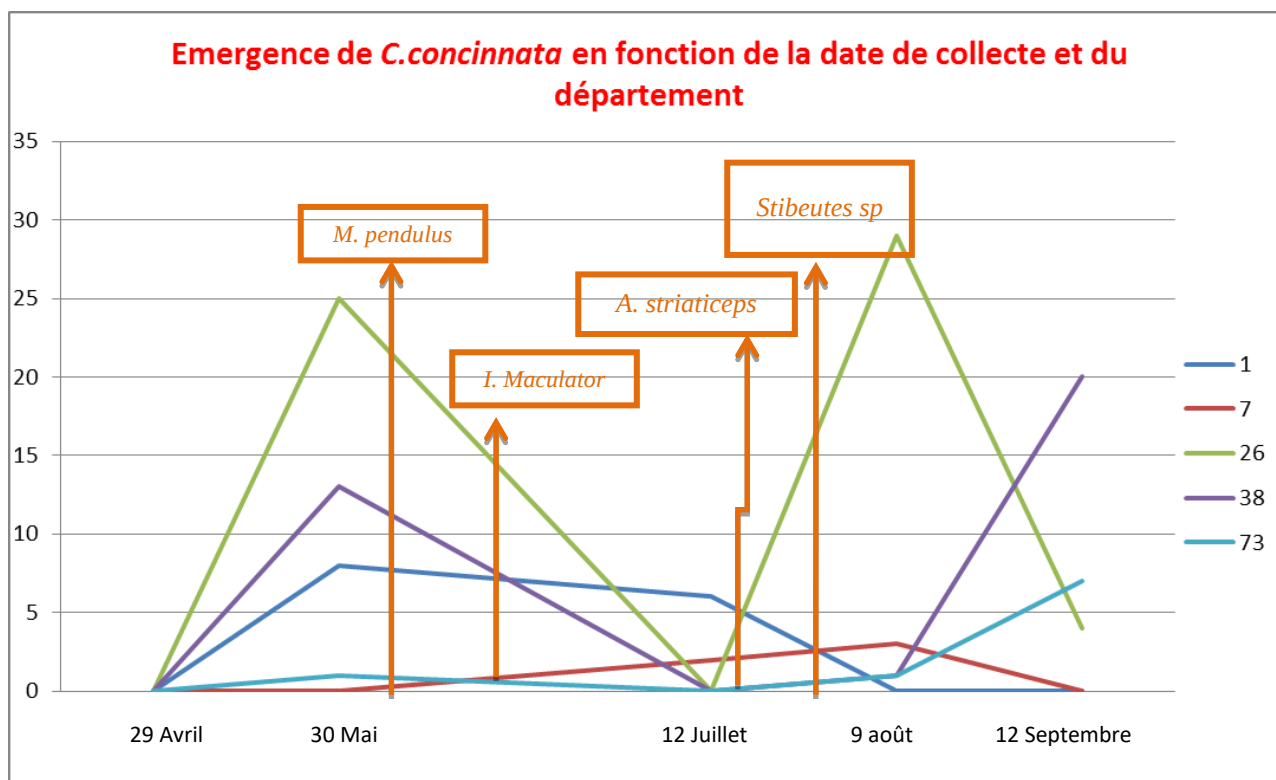


Figure 6 : Taux d'émergence de *C. concinnata* de la pyrale du buis, en fonction de la date et du département d'échantillonnage des chenilles. Les encadrés orange indiquent les émergences des autres parasitoïdes potentiels.

Figure 6: *C. concinnata* emergence from Box Tree Moth depending on the date and the French department of moths sampling. Orange boxes shows the emergence of other potential parasitoids.

Prédateurs, phytophages et détritivores

A ce jour, suite à la campagne 2017, quelques individus prédateurs d'organismes de type « puceron » ont été trouvés avec notamment la présence de Syrphidés (Diptera), de coccinelles (Coleoptera) et de chrysopes (Neuroptera) plus polyphages. L'écosystème buis abrite également une multitude d'espèces d'araignées, de fourmis et de forficules. De nombreux cas de prédation des larves de pyrale du buis par la guêpe poliste (*Polistes dominula*, Hyménoptère) ont été observés dans la région toulousaine. Les mésanges et chauve-souris comptent également parmi les prédateurs naturels de la pyrale du buis.

De nombreux individus collectés appartiennent à des espèces phytophages représentantes de l'ordre des Hémiptères dont des Cicadellidae, Psyllidae et autres familles mais aussi quelques Coléoptères, Orthoptères et Diptères dont des Cecidomyiidae et des Nematocera. Enfin, les détritivores de l'ordre des Psocoptera représentent la majorité des prélèvements.

DISCUSSION

Des hyménoptères ont été inventoriés sur différents stades de la pyrale du buis : 1 endoparasitoïde larvaire de lépidoptères (Braconidae : Euphorinae), 1 endoparasitoïde de chrysalides de lépidoptères (Ichneumonidae : Pimplinae), 1 parasitoïde de larves et pupes de lépidoptères (Ichneumonidae : Cryptinae), 1 parasitoïde oophage polyphage (Platygastridae : Scelioninae). D'autres hyménoptères non issus de la pyrale sont également présents dans l'écosystème buis (Tetrastichinae, Myrmaridae, Toryminae, etc.). Dans l'ordre des diptères, une espèce de la famille des Tachinidae (parasitoïde larvaire) a émergé de larves de la pyrale du buis.

Faible taux de parasitisme observé

Dans cette étude, seulement l'implication réelle de la tachinaire *C. concinnata* dans la régulation de *C. perspectalis* a pu être mise en évidence avec des taux de parasitisme cependant très faibles. Originaire d'Europe, son introduction aux Etats-Unis en 1906 pour contrôler les populations invasives de *Lymantria dispar* et de *Euproctis chrysorrhoea* a été un échec au niveau écologique. En effet, même si la régulation de ces espèces est jugée réussie par les scientifiques un siècle plus tard, *C. concinnata* a eu également un fort impact sur d'autres espèces non-cibles (Elkinton et Boettner, 2012).

Le faible taux de parasitisme trouvé dans notre étude est comparable à ceux des travaux de Nacambo (2012) qui a isolé une trentaine d'individus de la tachinaire *Pseudopericha nigrolineata* dans la région suisse de Bâle lors des débuts de l'introduction de la pyrale.

Si des perspectives de lutte biologique peuvent être envisagées à l'aide de *C. concinnata*, le faible taux de parasitisme observé cette année et les risques potentiels non-cibles sont peu en sa faveur.

Plus largement, le faible nombre de parasites indigènes (diptères et hyménoptères) impliqués dans la régulation de *C. perspectalis* peut s'expliquer par la vitesse d'expansion de ce ravageur et de la rapidité d'écroulement des populations de pyrale suite aux défoliations totales. De plus, selon l'*Enemy Release Hypothesis* (ERH), le succès de l'installation d'une espèce exotique est d'une part liée à l'absence de son cortège d'ennemis naturels d'origine et d'autre part au manque d'espèces indigènes pour la réguler (prédateurs ou parasitoïdes indigènes potentiels inefficaces dans la régulation de celle-ci (Sih et al., 2010). Cette hypothèse est également fortement corrélée avec la *Resource-Enemy Release Hypothesis* (R-ERH) qui combine l'ERH et l'*Increased Resource Availability Hypothesis* (IRAH). Celle-ci démontre que la disponibilité et la non compétition pour une ressource donnée favorisent l'invasion. C'est le cas pour le buis qui possède très peu de ravageurs indigènes (Rocher, 2017). L'impact de ces derniers est minime sur la défoliation. La pyrale n'est pas en compétition pour la consommation des feuilles de buis. L'absence d'ennemis naturels permet ainsi à l'espèce exotique de « s'affranchir de sa vigilance envers ses ennemis » et de concentrer ses efforts dans sa compétitivité pour la ressource. De même, l'hypothèse *Biotic Resistance* (BR) considère qu'un écosystème avec une biodiversité très riche est beaucoup plus résistant à l'invasion d'une nouvelle espèce qu'un écosystème pauvre en biodiversité. En effet, la présence de niches écologiques non occupées facilite l'installation de nouvelles espèces. Ainsi, plus le nombre d'espèces d'un écosystème est élevé, plus l'occupation de ses niches est grande et plus il est difficile à la nouvelle espèce de s'installer (Jeschke, 2014). Enfin, la capacité des larves de *C. perspectalis* à stocker les alcaloïdes dans leur corps semble également un moyen de défenses efficaces contre ses ennemis et répond à l'hypothèse *Novel Weapon* (NW). Les espèces indigènes n'étant pas adaptées, la pyrale du buis est ainsi plus compétitive.

Le taux d'adoption par les indigènes est susceptible d'augmenter avec le temps et, dans certains cas, peut entraîner une réduction substantielle de la population du ravageur exotique (Kenis et al., 2017). L'exemple du lépidoptère *Coleophora serratella* originaire d'Europe et arrivé accidentellement en Amérique du Nord au XXe siècle compte 28 parasitoïdes indigènes dans l'aire d'introduction avec

des taux de parasitisme entre 5 et 16% contre un cortège de 24 parasitoïdes dans son aire d'origine et des taux de parasitisme entre 40 et 70% (Cornell et Hawkins, 1993). Kenis et al. (2017) a émis également l'hypothèse que les insectes invasifs sont susceptibles d'être adoptés par des ennemis naturels si le groupe auquel il appartient est généralement attaqué par des généralistes et s'il existe des insectes étroitement liés sur le plan taxonomique et écologique de l'invasif. A ce que nous retrouvons dans la littérature asiatique, *C. perspectalis* est régulée essentiellement par des ennemis naturels polyphages. Toutefois, à notre stade d'étude, il est encore difficile de prédire le potentiel d'adaptation des indigènes pour ce ravageur, en France voire en Europe.

Méthode et fréquence de collecte

Dans le but d'obtenir plusieurs individus de chaque espèce d'hyménoptère qui, potentiellement, parasitent la pyrale du buis, il est nécessaire de resserrer les dates de prélèvement, avec un prélèvement tous les 15 jours, dans les 5 départements, avec un focus particulier sur l'Ain et la Drôme. Etant donné les caractéristiques des parasitoïdes déjà récupérés, il est important également de prélever un maximum de chrysalides de *C. perspectalis* en plus des ooplaques et des larves ; en les isolant le mieux possible.

Pour *C. concinnata*, en 2017, les meilleures périodes d'émergence ont été les mois de juin et août ; ce qui permet d'en déduire les meilleures dates de collecte pour les échantillons de chenilles de pyrale du buis parasitées par *C. concinnata*. En août, dans les départements de l'Ain, l'Ardèche et la Savoie, les buis étaient totalement défoliés et l'écorce commençait à être attaquée. Cette situation peut être responsable de l'absence de phytophages et donc de leur cortège de parasitoïdes et prédateurs.

CONCLUSION

L'importance du buis dans le patrimoine français en JEV et au niveau écologique en forêt rend la menace de la pyrale du buis particulièrement préoccupante.

Cette première étude (2017) a déjà montré l'existence d'agents potentiels de régulation de la pyrale du buis. L'étude du parasitisme a permis d'isoler la tachinaire *C. concinnata* et quatre espèces d'hyménoptères.

Le parasitisme de *C. perspectalis* est à ce jour faible. Des équilibres biologiques, qui apparaîtront potentiellement dans le futur, n'ont pas encore eu le temps de se faire (au moins dans les régions étudiées) pour limiter la propagation de la pyrale du buis, probablement à cause de son arrivée récente. Le caractère invasif de ce ravageur découle notamment d'un développement rapide (forte fécondité, faible mortalité, ...), et d'un manque de prédateurs et de parasites en milieu naturel, essentiels pour réguler les populations. La dynamique de la pyrale, avec des défoliations foudroyantes suivies d'un effondrement de ses populations, rend également difficile l'appropriation d'un nouvel hôte ou d'une nouvelle proie par les parasites ou prédateurs. Une stabilisation des populations de pyrale liée à une disponibilité en ressource alimentaire, serait plus favorable à une installation de parasites et prédateurs indigènes.

En 2018, les collectes se poursuivent en vue de continuer à étudier la réaction du milieu naturel face aux attaques de pyrale avec des collectes plus rapprochées (tous les 15 à 21 jours). L'adaptation à la pyrale de nouveaux parasites indigènes pourra ainsi être vérifiée. Une étude des prédateurs potentiels a également été mise en place.

Une étude de présence et d'efficacité de ces auxiliaires sur les phase post invasives (c'est à dire sur les rejets et gourmands qui vont générer de plus faibles populations de pyrale) est également envisagée. Notre travail a déjà permis de mettre au point la méthodologie d'inventaire qui pourrait

être étendue à la France entière, car la vérité écologique en Auvergne-Rhône-Alpes n'est pas la même que pour les autres régions. Un suivi temporel reste également essentiel pour détecter les évolutions des relations pyrales-enemis naturels. Des campagnes menées tous les trois à cinq ans pourraient être intéressantes, afin de garder ce suivi constant tout en laissant suffisamment de temps entre les campagnes pour observer l'émergence de nouvelles relations.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé dans par la DRAAF Auvergne-Rhône-Alpes. Il a également été réalisé grâce au concours technique du Pôle Santé des Forêts Auvergne-Rhône-Alpes.

Nous remercions MM. Pascale Rousse et Pierfilippo Cerretti pour leur travail patient et minutieux de détermination des hyménoptères et diptères collectés en Auvergne-Rhône-Alpes.

BIBLIOGRAPHIE

Bella S., 2013. The box tree moth *Cydalima perspectalis* continues to spread in southern Europe: new records for Italy. Redia, XCVI: 51-55.

Centre for Agriculture and Biosciences International, Août 2016, *Cydalima perspectalis* (box treemoth) <http://www.cabi.org/isc/datasheet/118433>

Cornell H.V. and Hawkins B.A., 1993. Accumulation of native parasitoid species on introduced herbivores: a comparison of hosts as natives and hosts as invaders. The American naturalist, 141(6): 847-865.

Di Domenico, F., F. Lucchese, and D. Magri. 2012. Buxus in Europe: Late Quaternary dynamics and modern vulnerability. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics 14: 354-362.

Feldtrauer J.-F., Feldtrauer J.-J., Brua C., 2009. Premiers signalements en France de la Pyrale du Buis *Diaphania perspectalis* (Walker, 1859), espèce exotique envahissante s'attaquant aux Buis (Lepidoptera, Crambidae). Bulletin de la Société Entomologique de Mulhouse, 65: 55-58.

Guerin. 2015. SaveBuxus, Volet Pyrale - Suivi de la biologie : Compte-rendu 2014. Plante & Cité, Angers.

Jeschke J.M., 2014. General hypotheses in invasion ecology. Diversity and distribution, 20: 1229-1234.

Kenis M., Nacambo S., Leuthardt F.-L.-G., Di Domenico F., Haye T., 2013. The box tree moth, *Cydalima perspectalis*, in Europe: horticultural pest or environmental disaster? Aliens, 33: 38-41

Kenis M., Hurley B.P., Hajek A.E., Cock M.J.W., 2017. Classical biological control of insect pest of trees: facts and figures. Biol Invasions, 19: 3401-3417.

Le Crenn P., INRA, Octobre 2015, SaveBuxus : une solution de biocontrôle contre la pyrale du buis. <http://www.inra.fr/Entreprises-Monde-agricole/Resultats-innovation-transfert/Toutes-les-actualites/Pyrale-buis>

Leuthardt, F., G. Glauser, and B. Baur. 2013. Composition of alkaloids in different box-tree varieties and their uptake by the box-tree moth *Cydalima perspectalis*. Chemoecology, 23.

Leuthardt, F. L. G., and B. Baur. 2013. Oviposition preference and larval development of the invasive moth *Cydalima perspectalis* on five European box-tree varieties. Journal of Applied Entomology 137: 437-444.

Lopez-Vaamonde C., Agassiz D., Augustin S., De Prins J., De Prins W., Gomboc S., Ivinskis P., Karsholt O., Koutroumpas A., Koutroumpa F., Lastuvka Z., Marabuto E., Olivella E., Przybylowicz L., Roques A., Ryrholm N., Šefrova H., Šima P., Sims I., Sinev S., Skulev B., Tomov R., Zilli A., Lees D., 2010. Lepidoptera, Chapter II. In : Roques et al. (Eds) Alien terrestrial arthropods of Europe. Biorisk, 4(2): 603-668.

Mally R., Nuss M., 2010. Phylogeny and nomenclature of the box tree moth, *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859) comb. n., which was recently introduced into Europe. Eur. J. Entomol., 107 : 393–400.

Martin J.C., UEFM, INRA PACA, Juillet 2017, La Pyrale du buis en milieu naturel : projet BioPyr. https://www6.paca.inra.fr/entomologie_foret_med/Projets/La-Pyrale-du-buis-en-milieu-naturel-projet-BioPyr

Martin J.C., Brinquin A., INRA, Février 2017, Mieux connaître et déclarer la pyrale du buis. <http://ephytia.inra.fr/fr/C/21274/Agiir-Aire-de-repartition>

Maruyama T., Shinkaji N., 1993. The life cycle of the box-tree pyralid, *Glyphodes perspectalis*. III. Photoperiodic induction of larval diapause. Jap. J. App. Ent. Zool. And zool., 37: 45-51.

Nacambo, S., F. L. G. Leuthardt, H. Wan, H. Li, T. Haye, B. Baur, R. M. Weiss, and M. Kenis. 2014. Development characteristics of the box-tree moth *Cydalima perspectalis* and its potential distribution in Europe. Journal of Applied Entomology 138: 14–26.

Rocher F., 2017. BIOPYR, la pyrale du buis en milieu naturel. Recherche et inventaire d'agents potentiels de régulation biologique de la pyrale du buis en milieu naturel. Rapport de stage : Master I, ENSAT, Toulouse.

Roques, A. 2010. Alien forest insects in a warmer world and a globalised economy: impacts of changes in trade, tourism and climate on forest biosecurity†. New Zealand Journal of Forestry Science: 18.

Sih A., Bolnick D.I., Luttbeg B., Orrock J.L., Peacor S.D., Pintor L.M., Preisser E., Rehage J.S., Vonesh J.R., 2010. Predator-prey naïveté, antipredator behavior and the ecology of predator invasions. Oikos, 119(4): 610-621.

Tabone E., Enriquez T., Giorgi C., Venard M., Colombel E.-A., Gaglio F., Buradino M., Martin J.-C., 2015. Mieux connaître la pyrale du buis *Cydalima perspectalis*. Phytoma, 685 : 18-20.

Annexe I : Données d'observations de l'état du buis et des stades de pyrale pour chacun des 5 départements au cours des 5 échantillonnages (été 2017). Pour chaque site et chaque date sont donnés le nombre de pontes, chenilles et chrysalides

Annexe I: Observation data of box tree sate and box tree moth stage for each of the five French departments during the five samplings (summer 2017). For each place and each date the egg masses, moths and chrysalis numbers are given

Date	Dep	Site	Etat Buis	Stade Pyrale	Nb chenilles	Nb chrysalides	Nb pontes
Fin Avril	Ain	Saint-Bois	Buis secs	/	0	0	0
		Contrevoz	Attaque forte	Tous stades larvaires	300+	0	0
	Savoie	Brisson-Saint-Innocent	Buis totalement défoliés	/	0	0	0
			Repousses intactes				
		Saint-Jean-d'Arvey	Défoliation totale 2017	Tous stades larvaires	300+	0	0
				Chenilles affamées			
	Isère	Fontanil-Cornillon	Buis totalement défoliés	/	0	0	0
			Repousses à la base				
		Mallevall-en-Vercors	Attaque moyenne	Jeunes stades	300+	0	0
	Drôme	Saint-Thomas-en-Royans	Défoliation totale 2016	/	0	0	0
			Repousses intactes				
		Saint-Jean-en-Royans	Certains totalement défoliés	Chenilles affamées	300+	0	0
			Repousses attaquées	Chenilles en bonne santé			
			Des buis encore verts				
	Ardèche	Sarras	Beaucoup totalement défoliés	Chenilles mourantes	50+	1	0
			Attaque 50% pour quelques buis				
			Repousses attaquées	Chenilles en bonne santé			
		Talentieux	Défoliation totale	/	0	0	0
			Repousses intactes				

		Saint-Péray	Défoliation totale	Chenilles affamées	300+	0	0
			Repousses attaquées	Chenilles			
			Attaque 50% pour quelques buis	Chenilles stade avancé			
Fin Mai	Ain	Contrevoz	Défoliation totale	Quelques chenilles L6	64	27	0
			Repousses	Chrysalides			
	Savoie	Saint-Jean-d'Arvey	Défoliation totale	Chenilles jeunes stades sur écorce	91	249	0
			Repousses	Petites chrysalides sur arbres voisins			
	Isère	Mallevall-en-Vercors	Attaque forte	Tous stades	300	8	0
	Drôme	Saint-Jean-en-Royans	Défoliation totale	Chenilles	283	25	0
			Repousses intactes	Peu de chrysalides			
			Attaque forte sur autres buis				
	Ardèche	Saint-Péray	Défoliation totale	Papillons en vol	0	0	0
			Repousses intactes				
		Rompon	Faible défoliation	Chrysalides	0	249	3
Mi-juillet	Ain	Contrevoz	Buis secs	Stades L2 à L4	300+	0	0
		Saint Baldoph	Buis légèrement verts	Jeunes stades	300+	0	0
				Quelques L4-L5			

Début Août	Isère	Mallevall-en-Vercors	Repousses attaquées	Papillons en vol	320+	0	1
				Jeunes stades			
	Drôme	Saint-Jean-en-Royans	Repousses attaquées	Jeunes stades	300	0	1
				Papillons en vol			
	Ardèche	Rompon	Défoliation totale	Chenilles affamées	320+	1	0
				Tous stades			
Début Août	Ain	Contrevoz	Défoliation totale	Papillons en vol	100	0	0
				Chrysalides			
				Jeunes stades en cocon			
		Saint Baldoph	Buis secs	Tous stades	300+	10	0
			Ecorce attaquée				
	Isère	Mallevall-en-Vercors	Attaque forte	Tous stades larvaires	300+	1	0
				Des chenilles en cocons			
	Drôme	Saint-Jean-en-Royans	Repousses attaquées	Tous stades larvaires	300+	10	0
			Ecorce attaquée	Quelques chrysalides			
	Ardèche	Rompon	Défoliation presque totale	Derniers stades	300+	20	0
				Jeunes stades en cocons			
				Quelques chrysalides			
Mi-septembre	Ain	Saint Bois	Défoliation totale	/	0	0	0
			Repousses intactes				
		Contrevoz	Repousses intactes	/	0	0	0
			Buis secs	Jeunes stades			

	Savoie	Brison-Saint-Innocent	Buis secs	/	0	0	0
			Repousses intacts	Quelques chenilles derniers stades			
		Saint Badolph 1	Buis secs	Jeunes stades en cocons	0	0	0
		Saint Badolph 2	Défoliation totale	Jeunes stades en cocons	94	96	0
				Quelques chrysalides			
	Isère	Fontanil-Cornillon	Repousses attaquées	/	0	0	0
		Mallevall-en-Vercors 1	Buis secs	Papillons en vol	50	50	0
			Repousses intacts	Quelques chenilles derniers stades			
				Quelques chrysalides			
		Mallevall-en-Vercors 2	Quelques buis verts	Beaucoup de chrysalides	40	260	0
				Quelques chenilles derniers stades			
	Drôme	Saint Jean-en-Royans 1	Buis secs	/	0	0	0
			Repousses intacts				
		Saint Jean-en-Royans 2	Quelques rares feuilles vertes	Chrysalides	29	310	0
				Quelques chenilles derniers stades			
				Papillons en vol			
	Ardèche	Rompon	Buis secs	Jeunes stades en cocons	0	0	0