



# **Le nématode du Pin et sa dissémination: le point des connaissances**

**François LIEUTIER, Bruno VINCENT, Fotini KOUTROUMPA**

**Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures,  
UPRES EA 1207, Université d'Orléans, France**

---

Santé des forêts - 20 ans d'expérience, un défi pour l'avenir  
10 et 11 mars 2009 - Colloque DSF à Beaune (Côte d'Or)



Portugal: 617 000 ha au sud de Lisbonne (1999 à 2008)  
+ foyers dans les forêts du nord depuis printemps 2008

Japon: 1984: 25% forêt, 2.4 millions m<sup>3</sup> / an  
actuellement: 700 000 à 900 000 m<sup>3</sup>/an

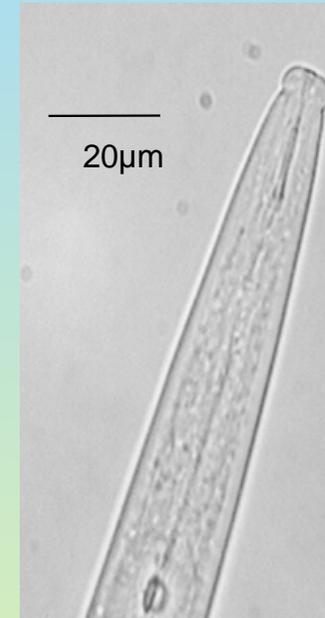
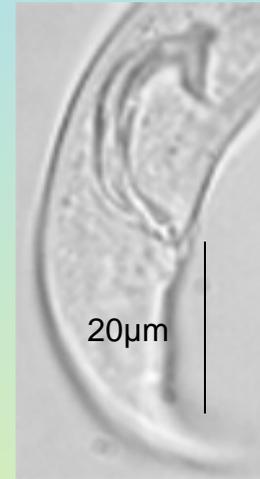
Chine: plusieurs millions d'ha



**Les agents biologiques en cause**

## Le nématode pathogène

Espèce invasive exotique,  
microscopique (< 1mm)



Se reproduit, se nourrit et se développe dans  
l'arbre, en détruisant et déstructurant les  
tissus

Transmis d'arbres en arbres par les  
coléoptères cérambycides du genre  
*Monochamus*)



Espèces vectrices :

*M. carolinensis*, *M. mutator*, *M. scutellatus*, *M. titillator* (Am nord)

*M. alternatus*, *M. saltuarius* (Asie de l'est)

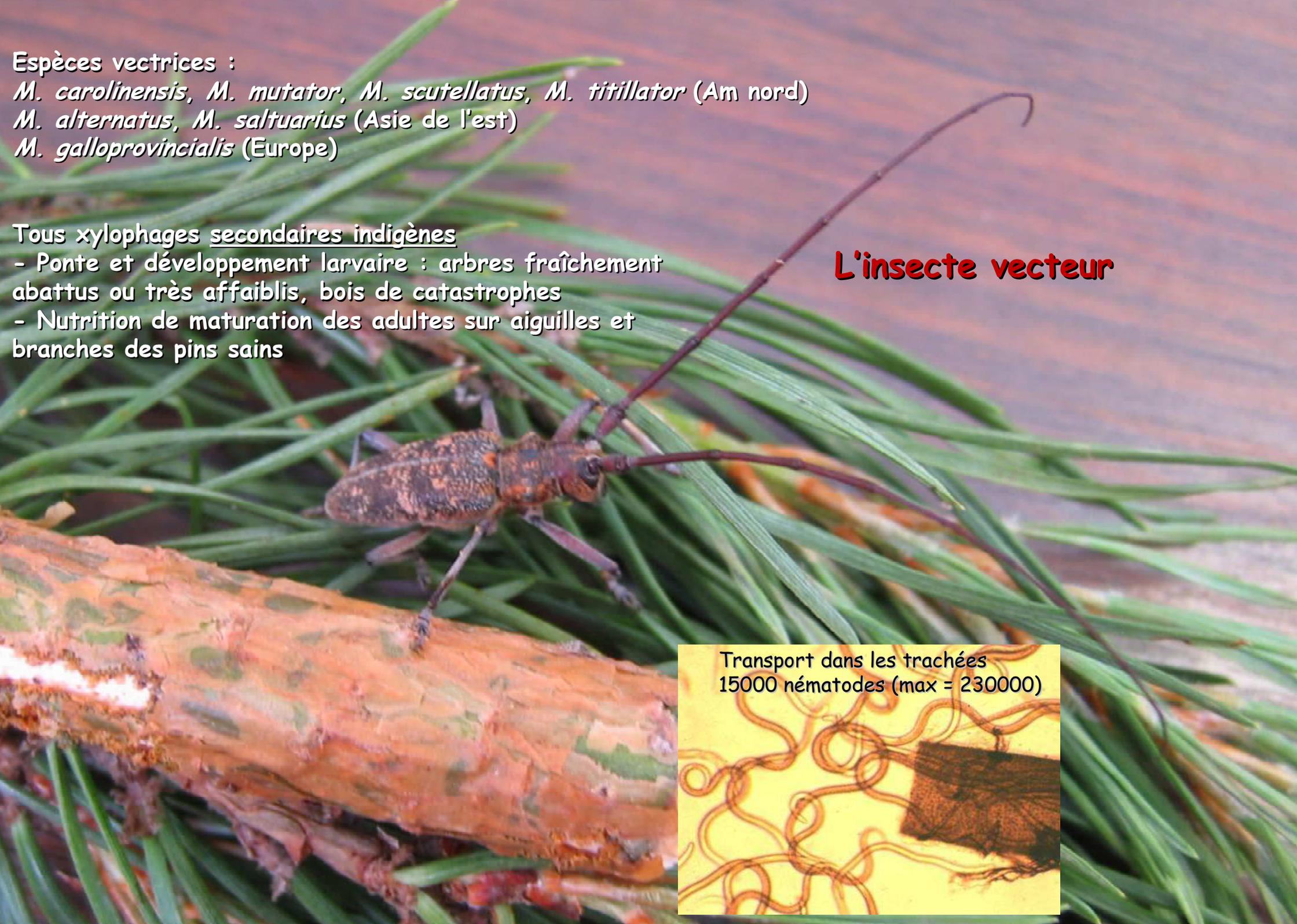
*M. galloprovincialis* (Europe)

Tous xylophages secondaires indigènes

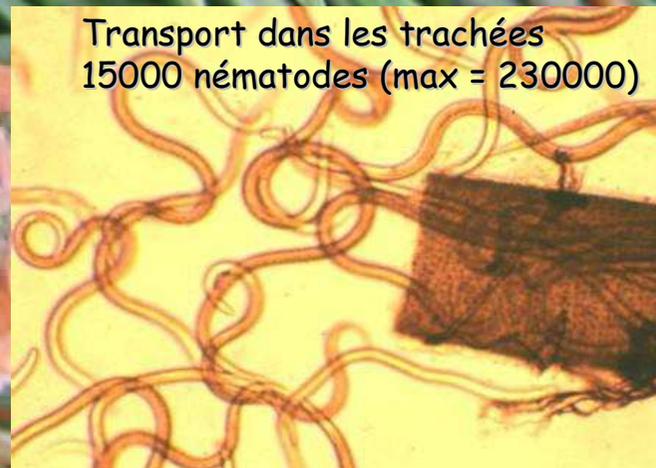
- Ponte et développement larvaire : arbres fraîchement abattus ou très affaiblis, bois de catastrophes

- Nutrition de maturation des adultes sur aiguilles et branches des pins sains

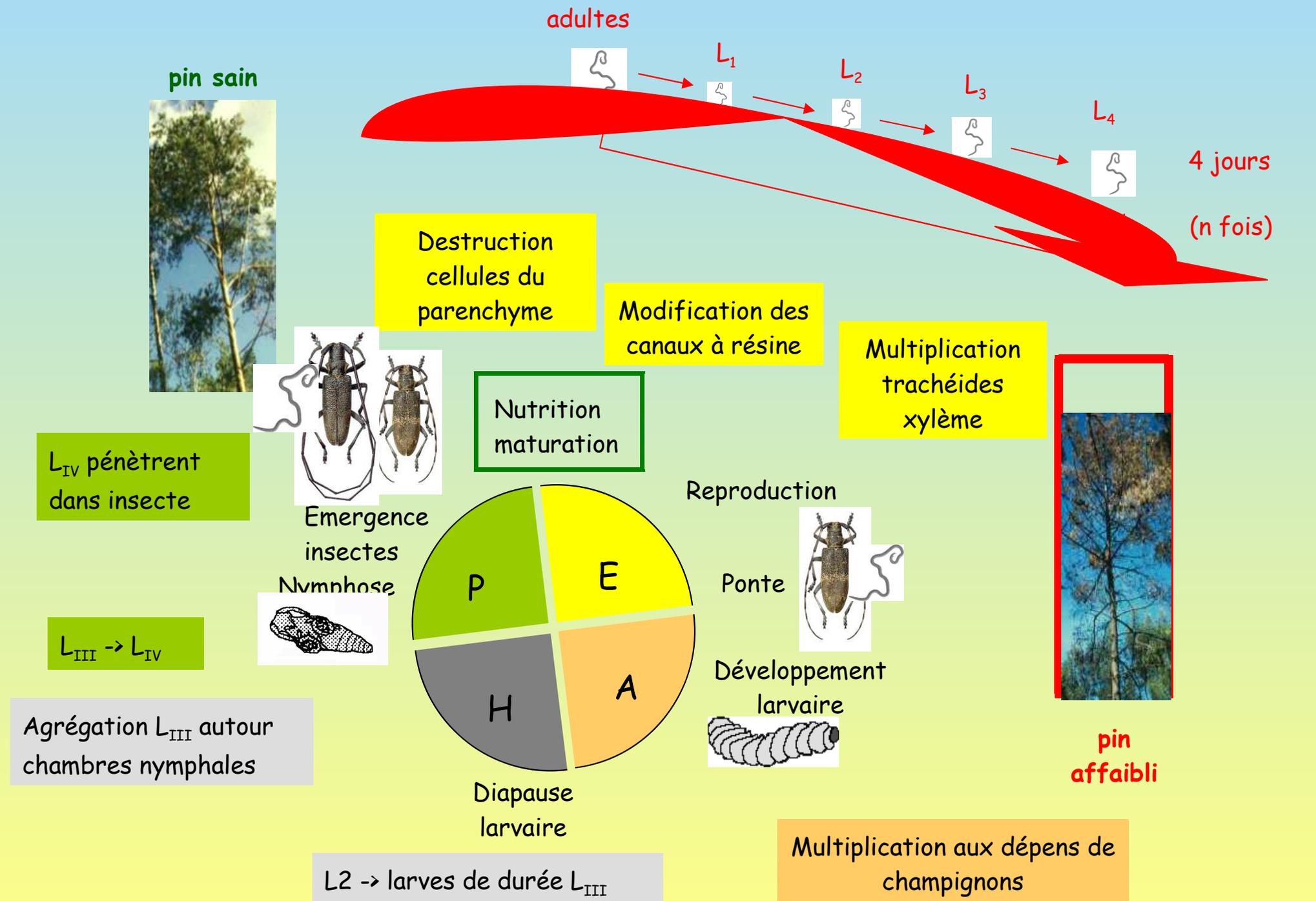
**L'insecte vecteur**



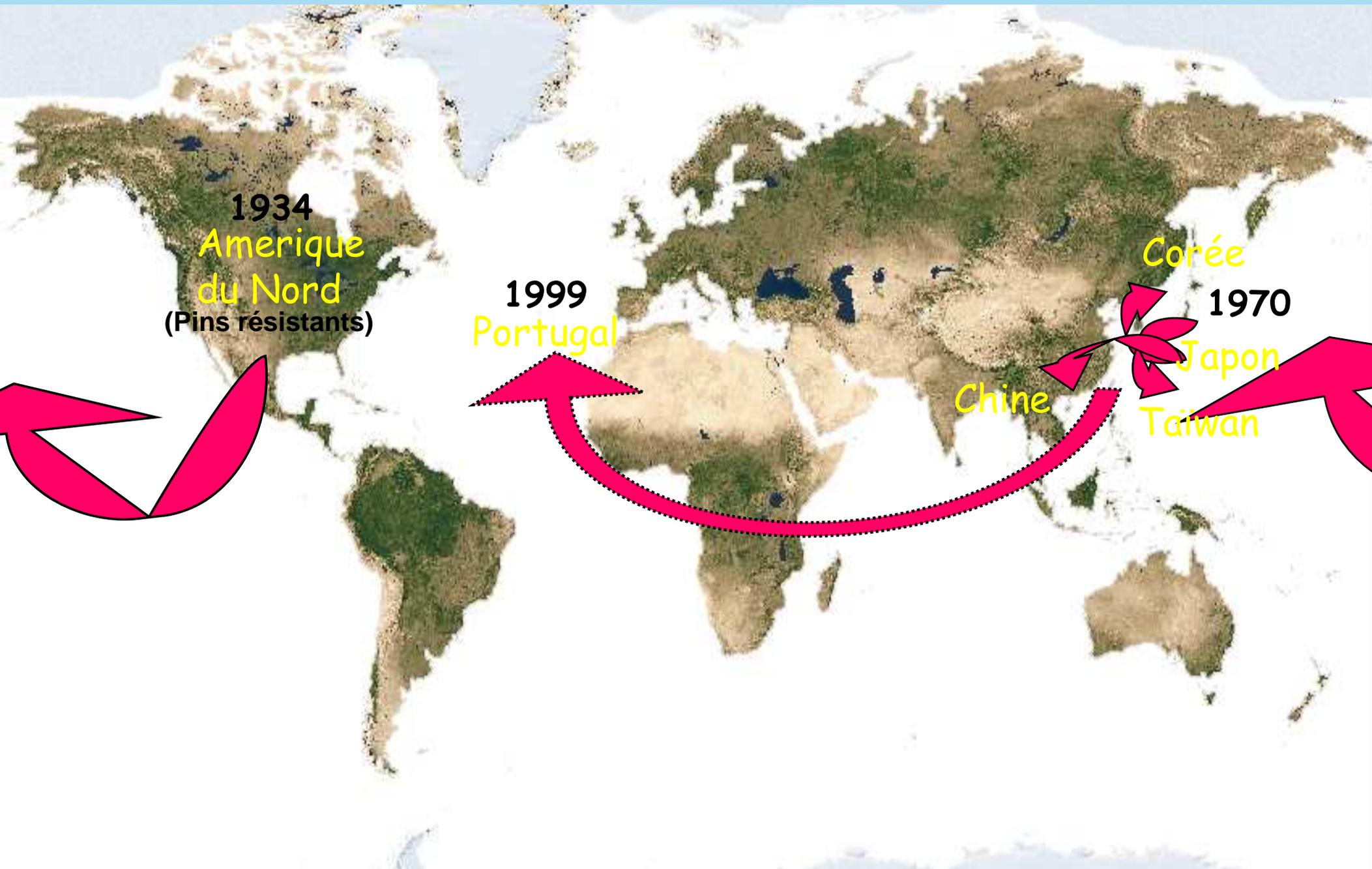
Transport dans les trachées  
15000 nématodes (max = 230000)



# Le cycle biologique insecte - nématode



**Origine du problème  
et risques pour la France**



1934  
Amérique  
du Nord  
(Pins résistants)

1999  
Portugal

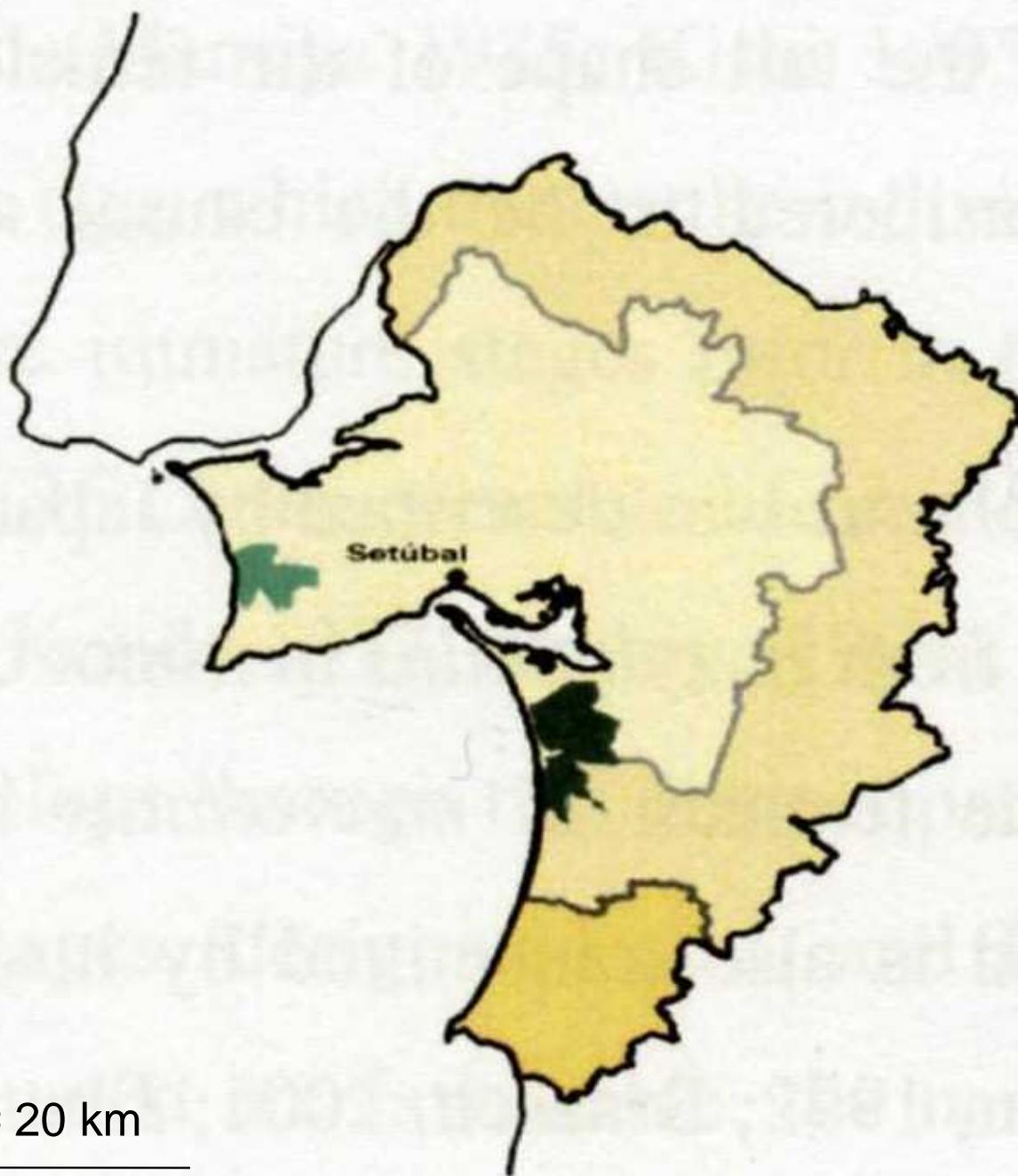
Corée

1970

Japon

Chine

Taiwan



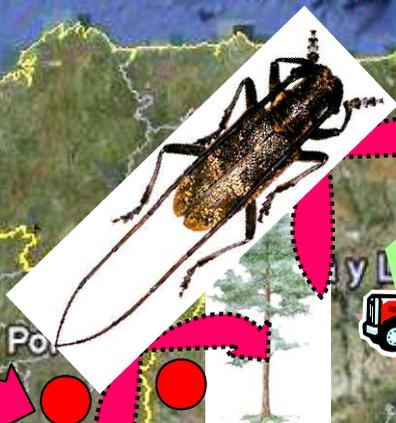
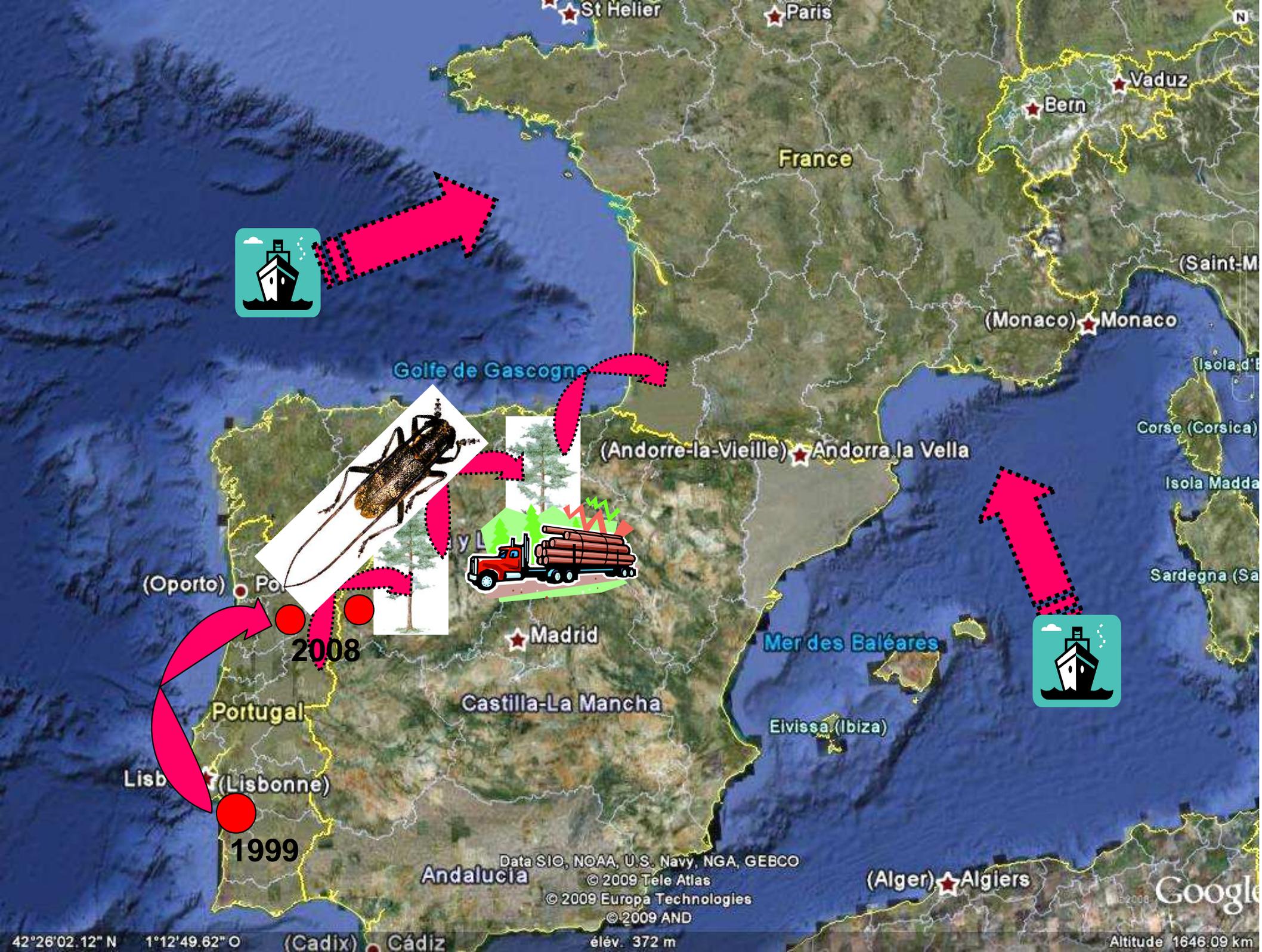
**Restriction zone**

- 1999 a 2000  
(309.000 ha)
- 2001 a 2003  
(564.000 ha)
- 2003 a 2005  
(617.000 ha)

**Critical areas of PWN incidence**

- Apostiça
- Comporta

# 20 km



2008

1999

Data SIO, NOAA, U.S. Navy, NGA, GEBCO  
© 2009 Tele Atlas  
© 2009 Europa Technologies  
© 2009 AND

Google

# Les besoins

## Des questions

- Quels sont les risques de dissémination du nématode en France, dans l'hypothèse où il atteindrait les Pyrénées ou parviendrait sur le territoire français via une nouvelle introduction accidentelle ?
- Quelles seraient les modalités d'extension ?
- Quelles bases pour une méthode de détection et de surveillance ?

## ➡ Des connaissances sur

- La biologie des *Monochamus* français
- Les nématodes qui leur sont naturellement associés (en particulier ceux du genre *Bursaphelenchus*)
- Les relations *Monochamus-Bursaphelenchus* dans les forêts françaises
- Les facteurs de dissémination.

# Les travaux réalisés en France

- 1- Relatifs au *vecteur* (Université Orléans; collaboration DSF)
- 2- Relatifs au *nématode* (Université d'Orléans; collab. DSF et INIA Oeiras Portugal)
- 3- Relatifs aux *facteurs de dissémination* (INRA Orléans - CAS Pékin)

# *1- Travaux relatifs au vecteur*

# Les vecteurs potentiels en France

*Monochamus galloprovincialis*  
(vecteur au Portugal)



Plaines, <700m,  
**Houppier**  
*Pinus sp.*  
+ ssp *pistor*  
moitié est ?

*Monochamus sutor*



Collines, >700m  
**Jeune bois**  
*Picea sp.*  
*Pinus sp.*  
*Abies sp.*

*Monochamus sartor*



Basse montagne,  
800-1000m  
**Troncs**  
*Picea sp.*  
*Abies sp.*  
*Pinus sp.*

# Objectifs des travaux relatifs au vecteur



## 1- Approfondir la biologie et l'écologie des *Monochamus* en France (*M. g.*)

- Données biologiques de base  
(élevages terrain et laboratoire)
- Distribution géographique des trois espèces de *Monochamus* en France  
(piégeage attractif artificiel et naturel, chasse à vue)
- Définition de la gamme d'hôtes potentiels  
(piégeage, tests de préférences)

## 2- Connaître la structuration inter- et intra-spécifique des populations de *Monochamus* en France:

- Variabilité des populations de *M. galloprovincialis*
- Situation *M. g. gallo.* / *M. g. pistor* / *M. sutor*
- Rôle de la distribution géographique et de l'essence hôte  
*(approche morphologique externe et interne)*  
*(approche moléculaire)*

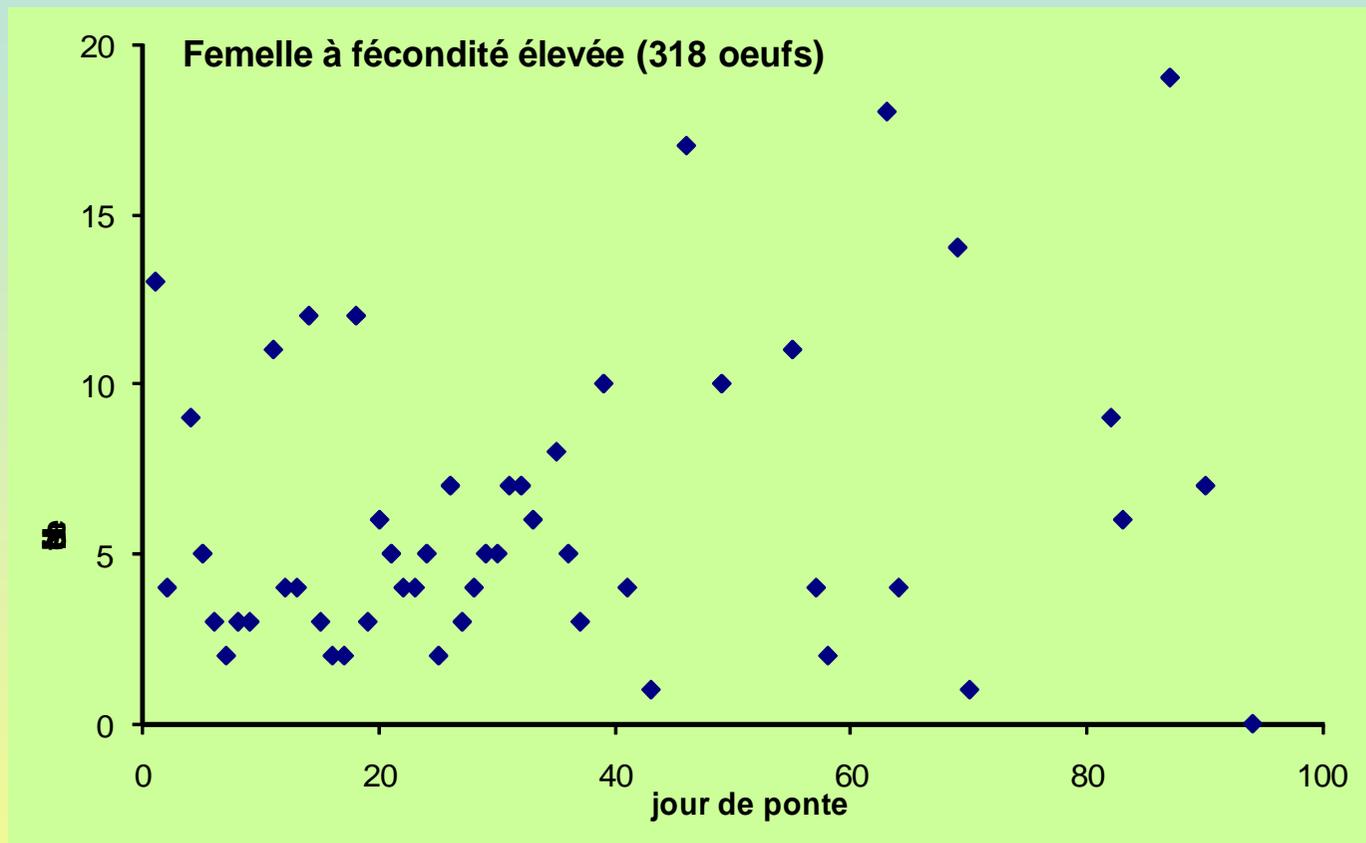
**Approfondissement de la biologie et de l'écologie**

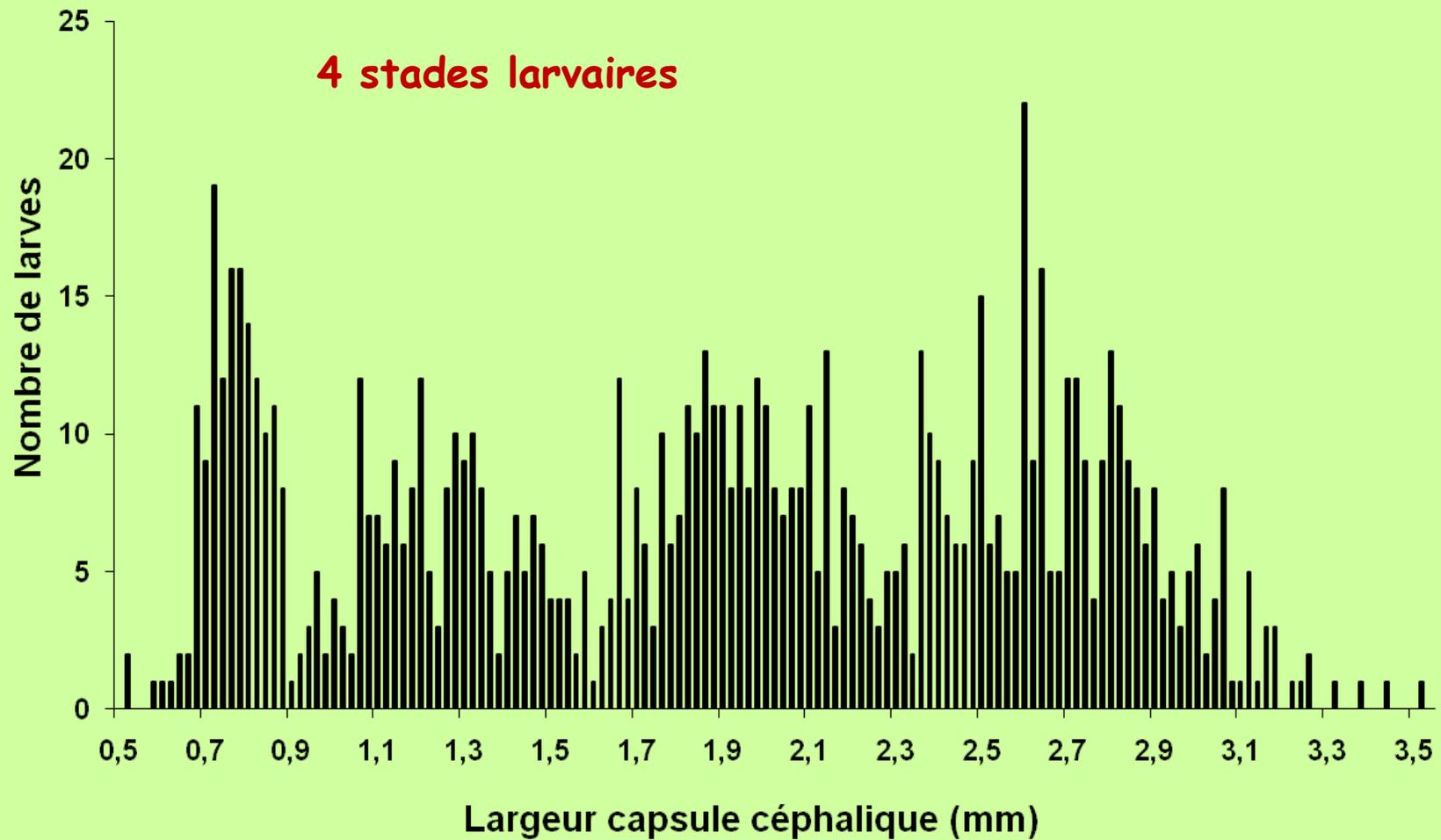
## Quelques résultats marquants des élevages

**Longévité** des femelles : plus de 113 jours au laboratoire

**Fécondité** : 138 œufs / femelle (maxi = 378)

62 à 80% des œufs pondus pendant la première moitié de la durée de ponte

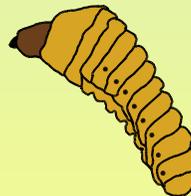




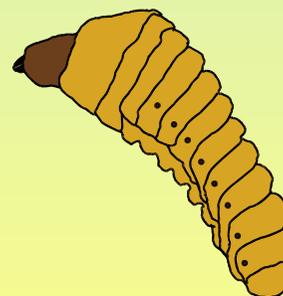
CC = 0,61-0,86 cm  
7-23jours



CC = 0,88-1,46cm  
24-40jours

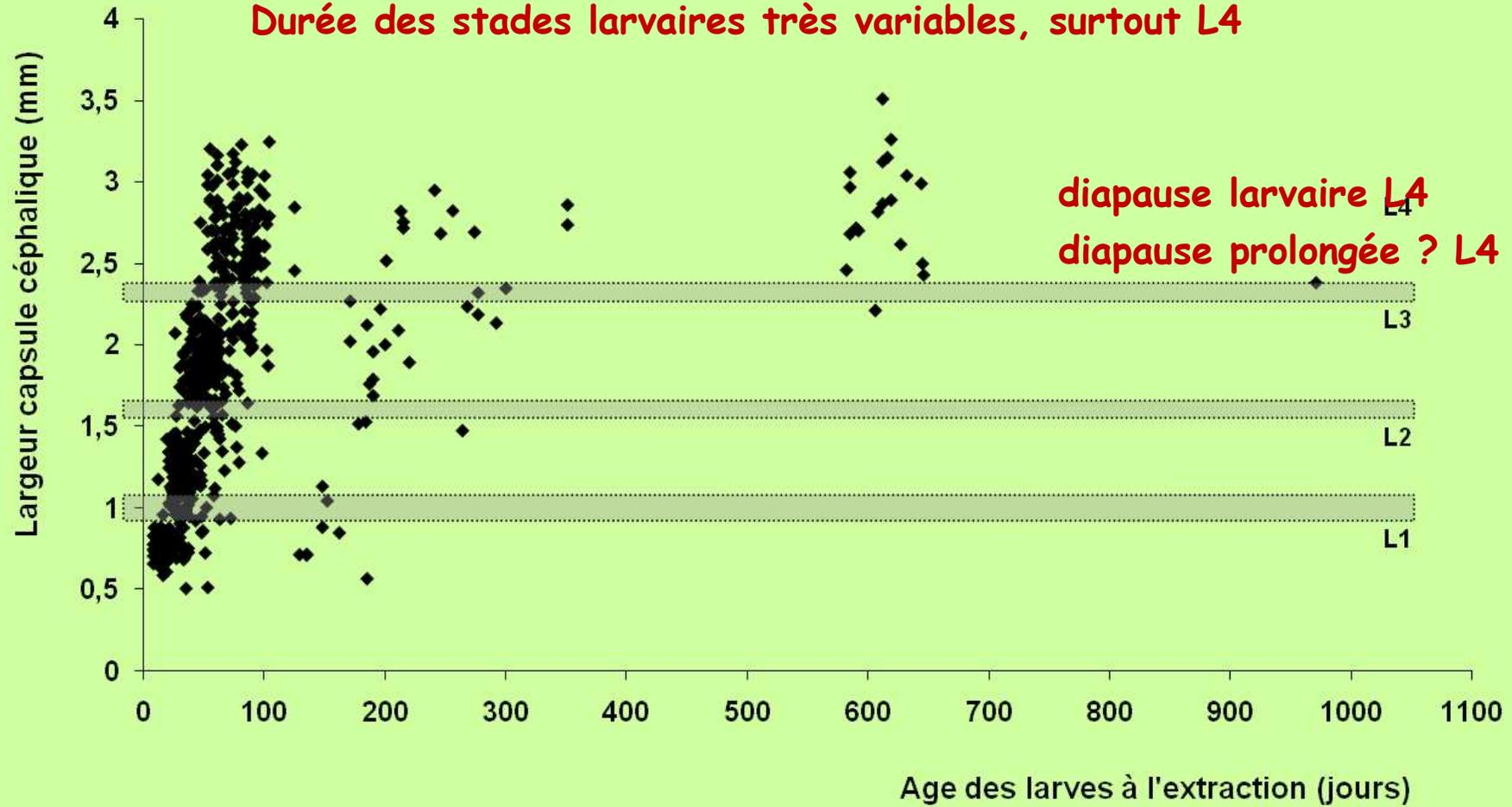


CC = 1,43-2,1cm  
38-69jours



CC = 2,23-3,2cm  
54-101jours

Durée des stades larvaires très variables, surtout L4



## Résultats marquants des captures

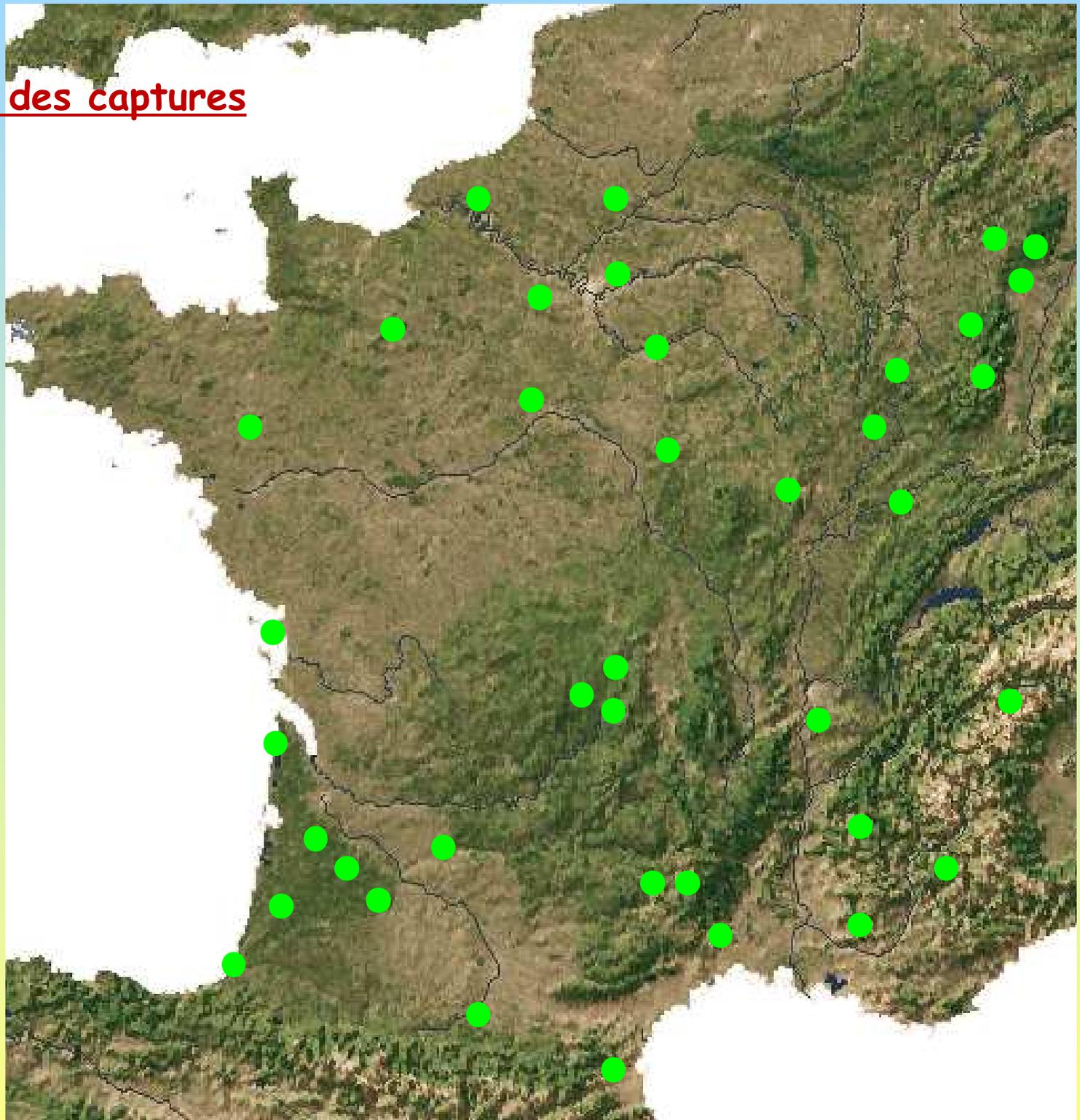
### ● Localités

123 à 150 pièges

32 à 40 sites

8 essences

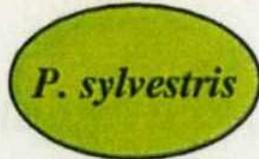
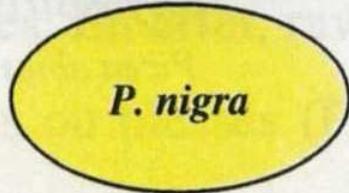
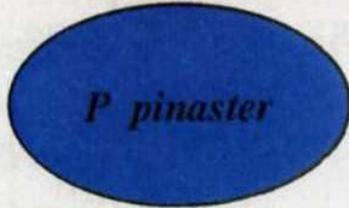
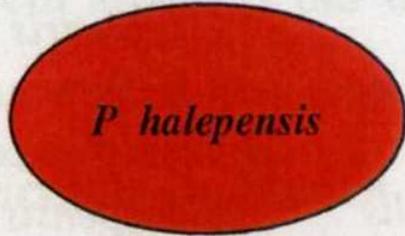
(rôle des CO-DSF)



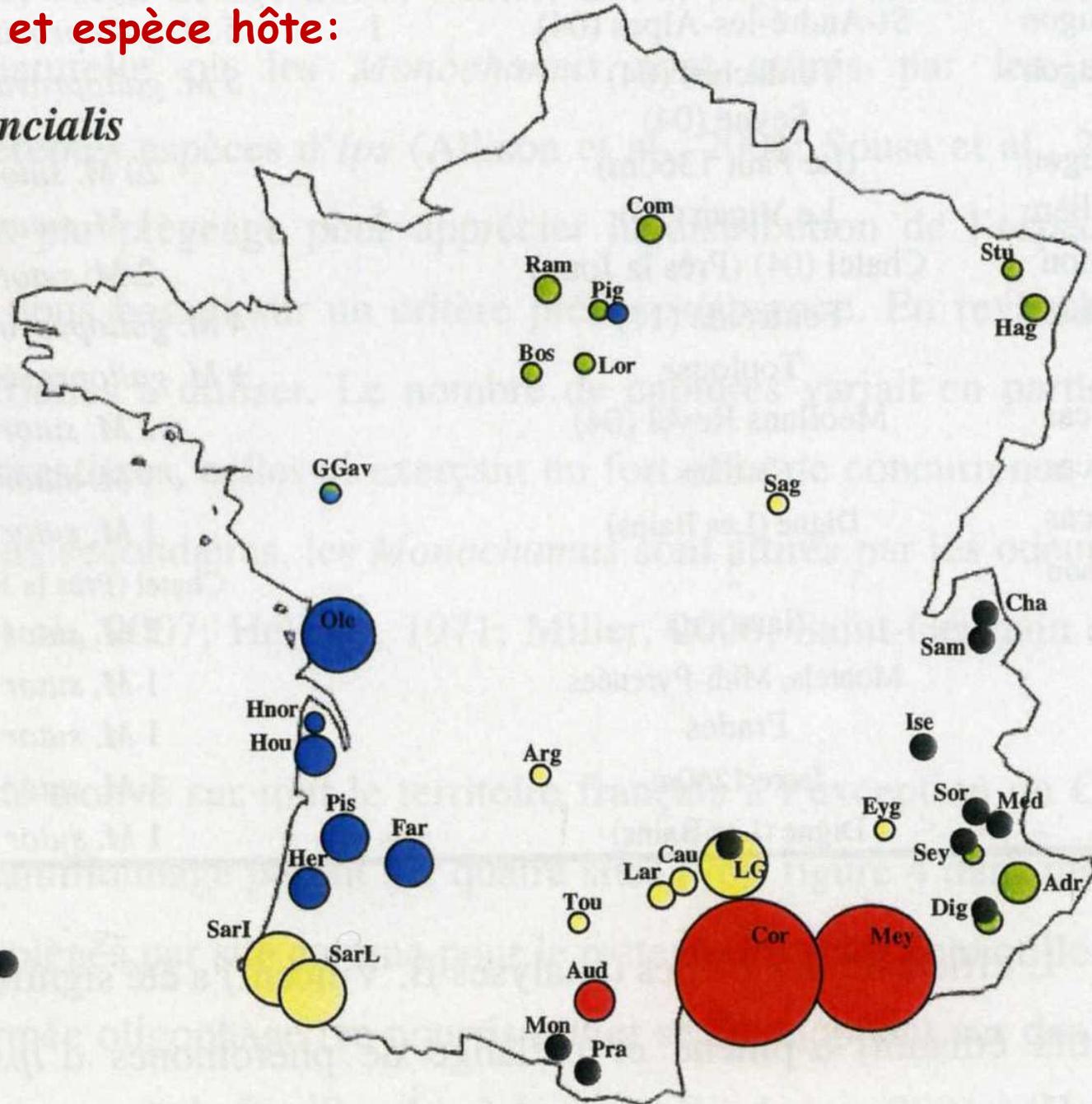
223 *Monochamus* capturés (130 par piègeage, 93 par chasse à vue)

Distribution par région et espèce hôte:

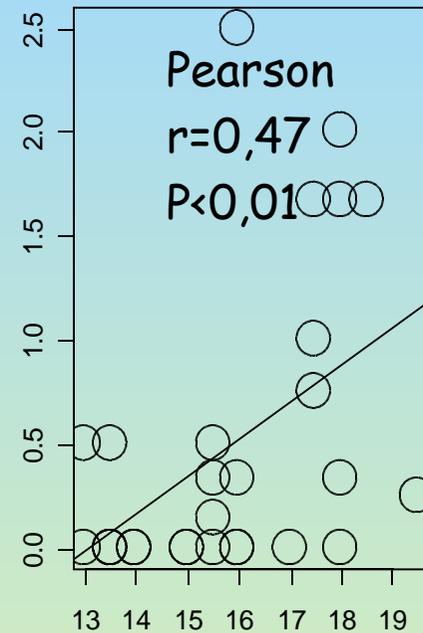
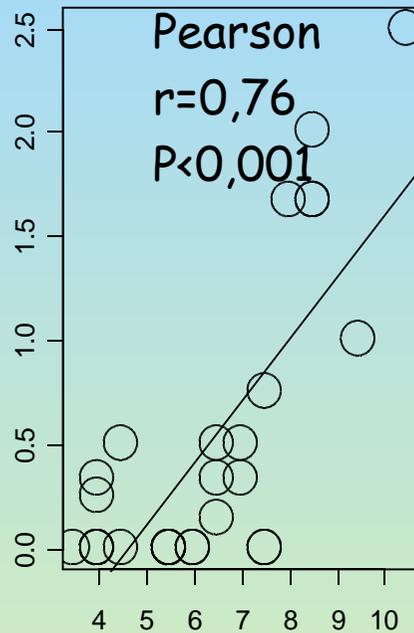
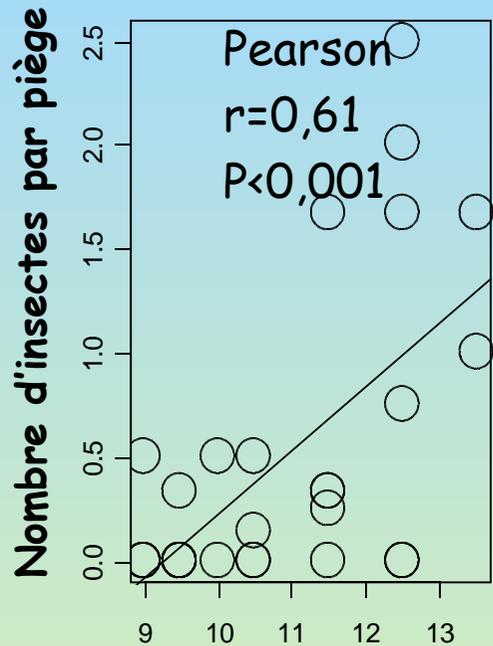
Captures *M. galloprovincialis*



Captures *M. sutor* ●



# Facteurs affectant les captures



## Températures

moyennes

minimales

maximales

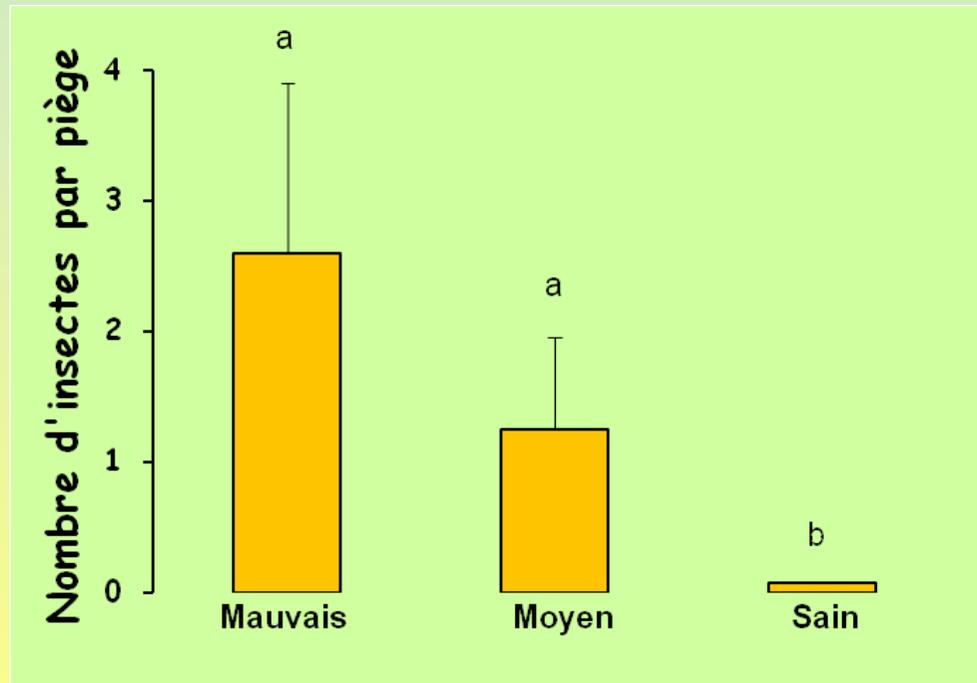
## Etat sanitaire du peuplement

(présence d'arbres morts ou affaiblis, de chablis ou de coupes récentes)

État sain : aucune de ces caractéristiques

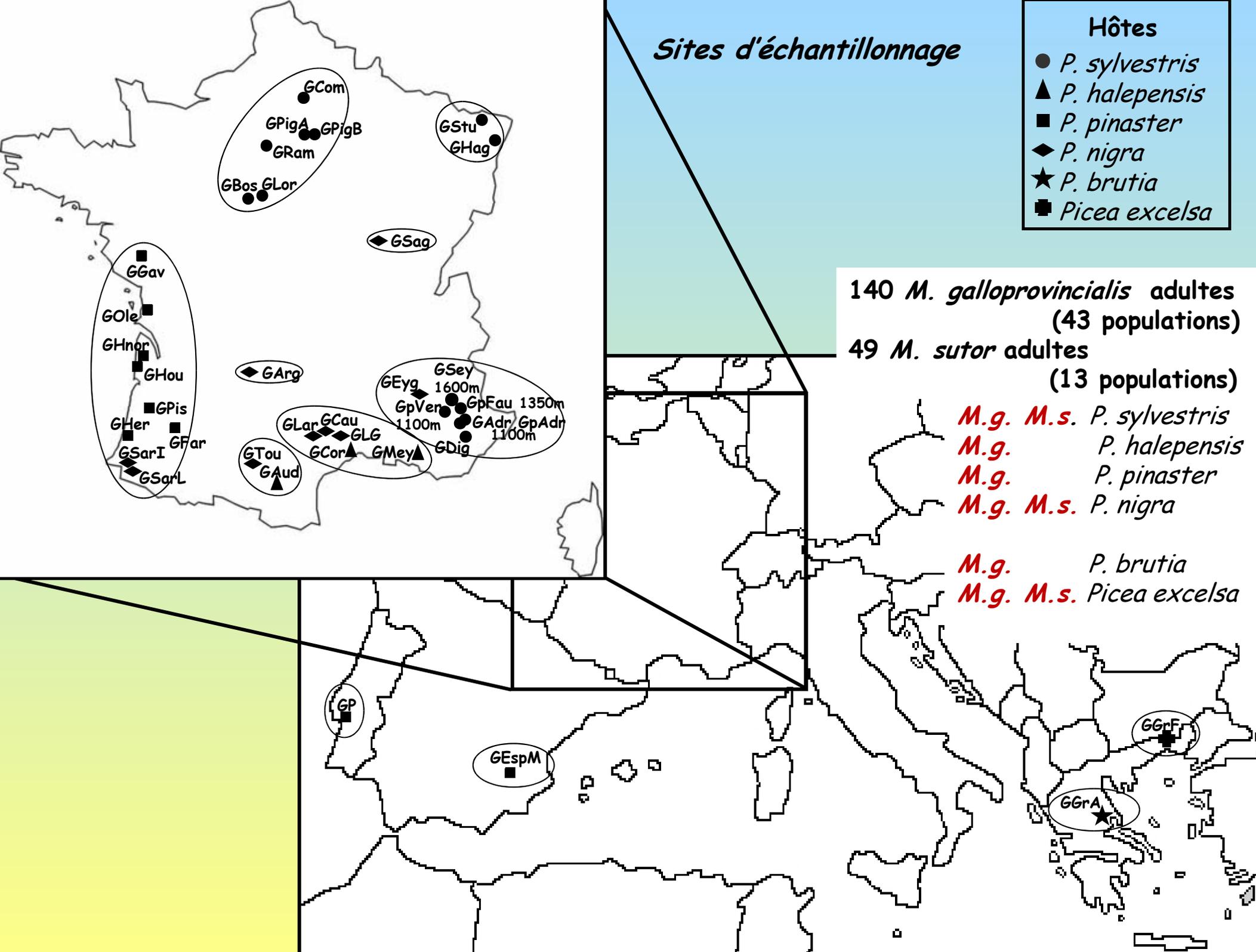
État moyen : 1 de ces caractéristiques

État mauvais : >1 de ces caractéristiques



# Structure intra- et interspécifique des populations

(Approche, combinant génétique et morphologie)



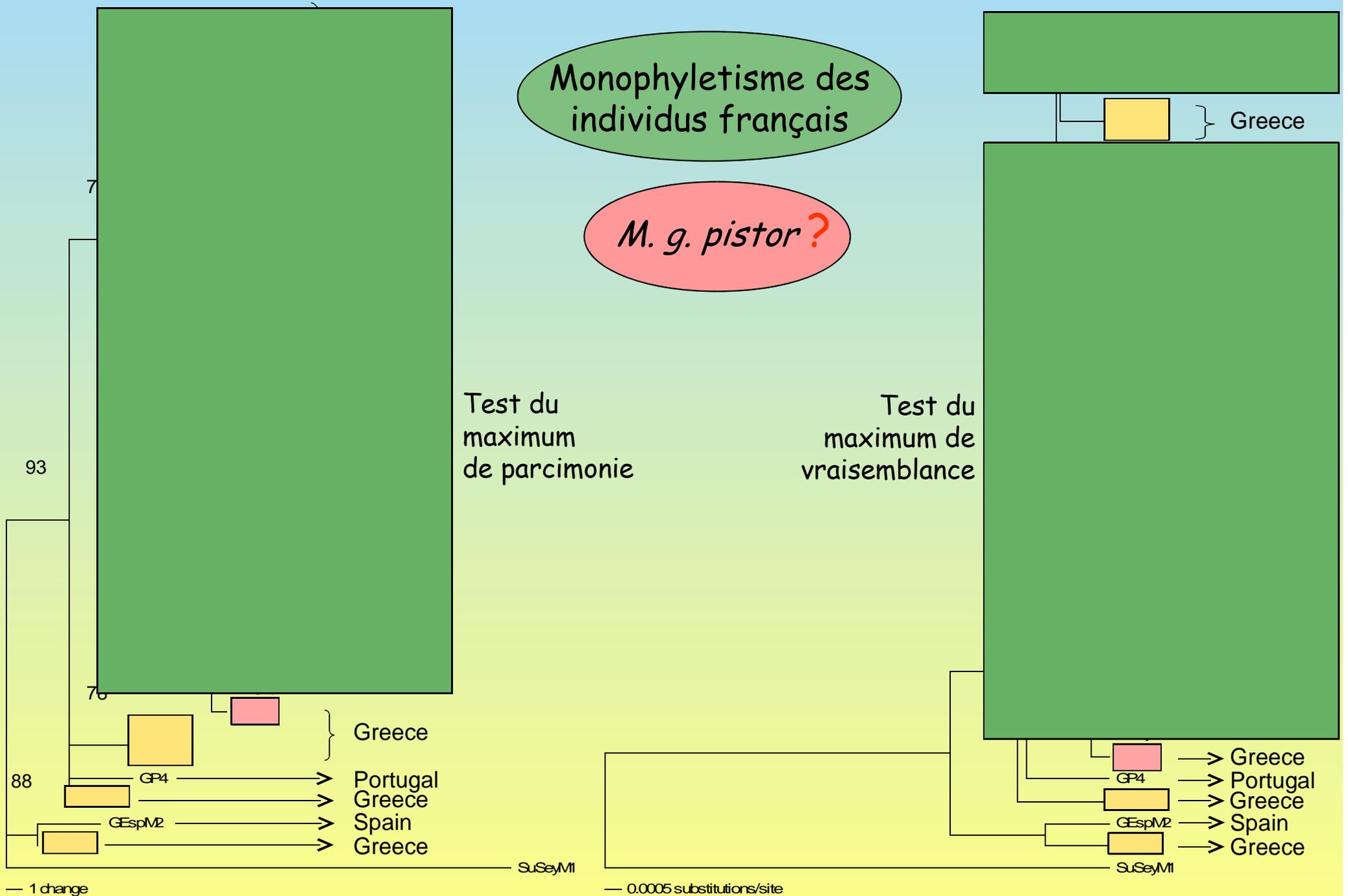
*Sites d'échantillonnage*

- Hôtes**
- *P. sylvestris*
  - ▲ *P. halepensis*
  - *P. pinaster*
  - ◆ *P. nigra*
  - ★ *P. brutia*
  - *Picea excelsa*

140 *M. galloprovincialis* adultes  
(43 populations)  
49 *M. sutor* adultes  
(13 populations)

- M.g. M.s.* *P. sylvestris*
- M.g.* *P. halepensis*
- M.g.* *P. pinaster*
- M.g. M.s.* *P. nigra*
- M.g.* *P. brutia*
- M.g. M.s.* *Picea excelsa*

# Arbre phylogénétique intraspécifique (COI et COII)



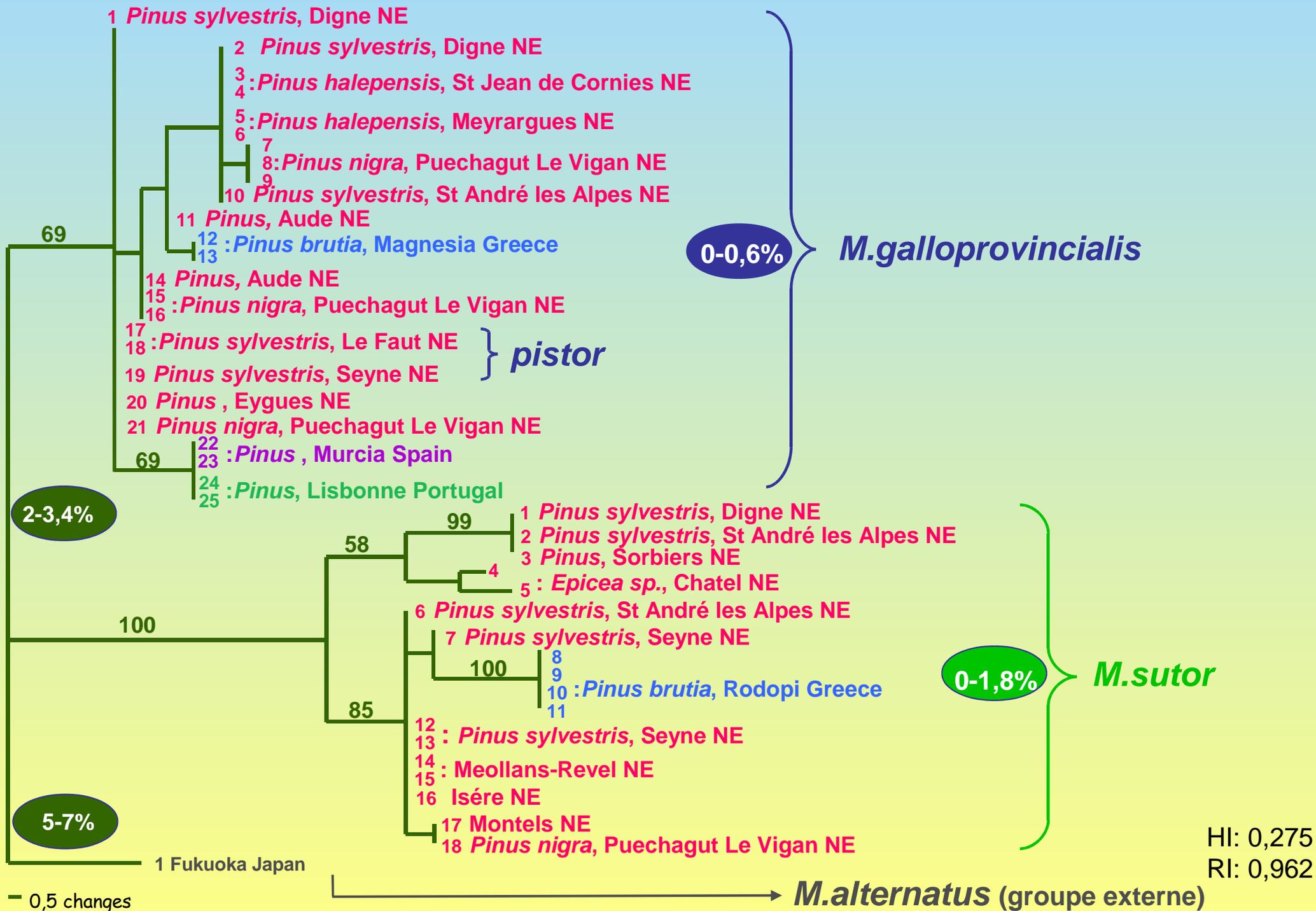
**Tests de structuration génétique  
des populations françaises de *M. galloprovincialis***

Variabilité intra-populations élevée

Pas de structuration significative due à la géographie

Faible structuration due aux arbres hôtes

# Arbre phylogénétique interspécifique (COI et COII)



# Principales conclusions sur les travaux relatifs au vecteur *M. galloprovincialis*

- Fécondité élevée; diapause en L4 (prolongée ?)
- Sympatrie avec *M. sutor*
- Distribution sur l'ensemble du territoire (même à 1 300 m), et sur au moins 6 espèces de Pin hôtes [*P. sylvestris*, *P. pinaster*, *P. nigra* (+ *laricio*), *P. halepensis*, *P. uncinata*, (+ *P. brutia*)]



- Mais pas de réelle structuration des populations par la géographie ou par les arbres hôtes.  
Flux de gènes important (homogénéisation des populations), à relier à 2 périodes de dispersion (maturation sexuelle + ponte) et à capacités de vol élevées



**Risques élevés de dissémination du nématode par *M. galloprovincialis***

## *2- Travaux relatifs au nématode*

# Objectif

Apprécier si l'extension de *B. xylophilus* en France pourrait être perturbée par la présence de nématodes indigènes dans sa niche écologique

**Définir les espèces indigènes de *Bursaphelenchus* liées à *M. galloprovincialis* dans les forêts françaises**

*(échantillonnage et identification des nématodes dans les arbres attaqués par *M. galloprovincialis*)*

**Déterminer leurs relations phorétiques avec *M. galloprovincialis***

*(dissections d'insectes émergents de rondins pièges; coïncidences entre nématodes et insectes sur les arbres attaqués)*

**Caractériser leurs relations de compétition avec *B. xylophilus***

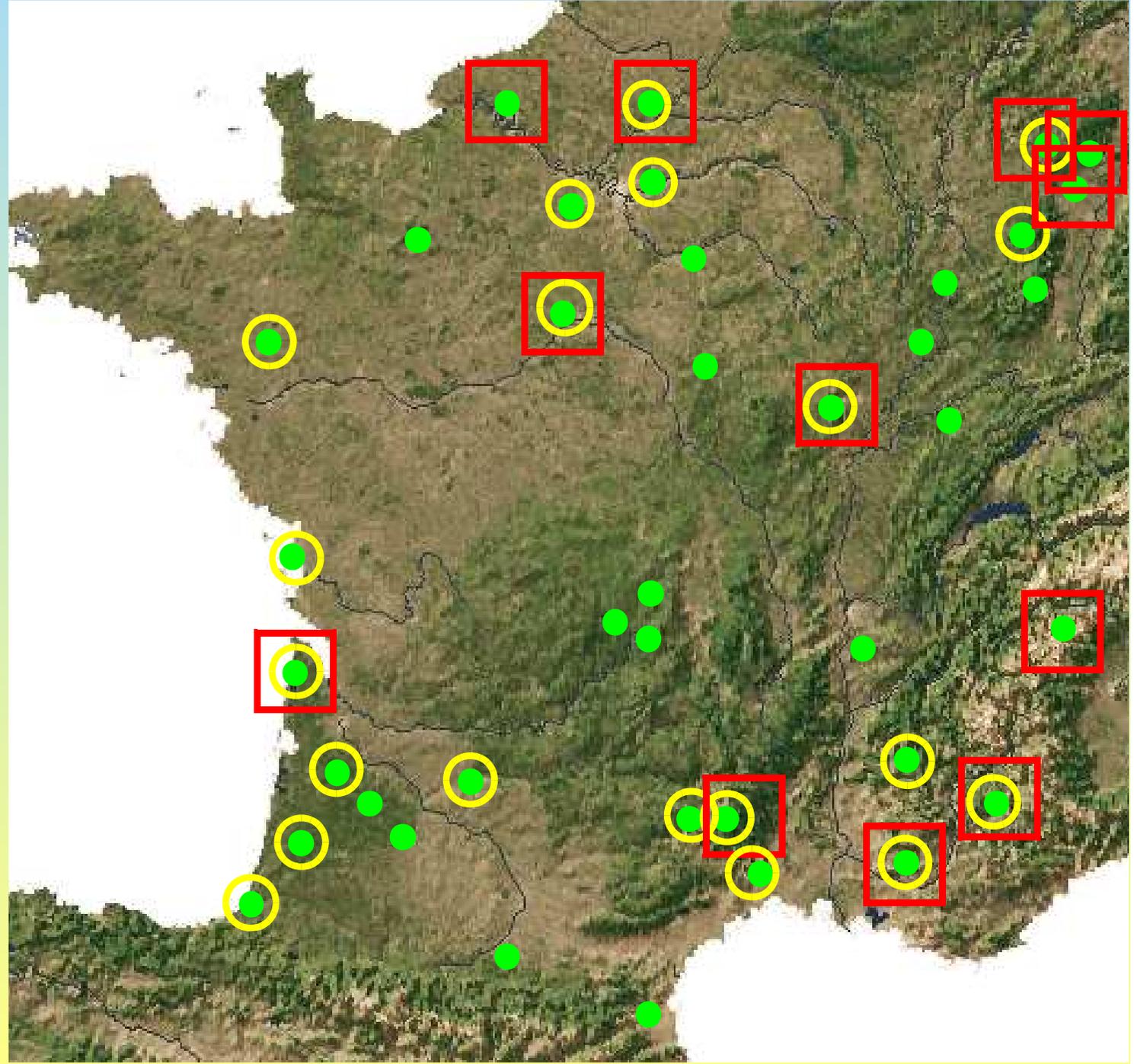
*(élevages conjoints en milieu artificiel; élevages conjoints dans rondins avec insectes non contaminés)*

# Définition des espèces indigènes de *Bursaphelenchus* liées à *M. galloprovincialis* dans les forêts françaises

● Localités de piégeage

○ Captures de *Monochamus* en 2003-2004

□ Étude nématodes (12 localités) en 2005



# Résultats des extractions à partir d'arbres attaqués:

□ Pas de *Bursaphelenchus* spp.

□ Peu d'individus de *Bursaphelenchus* spp.

*B. sexdentati*



*B. hellenicus*



*B. leoni*



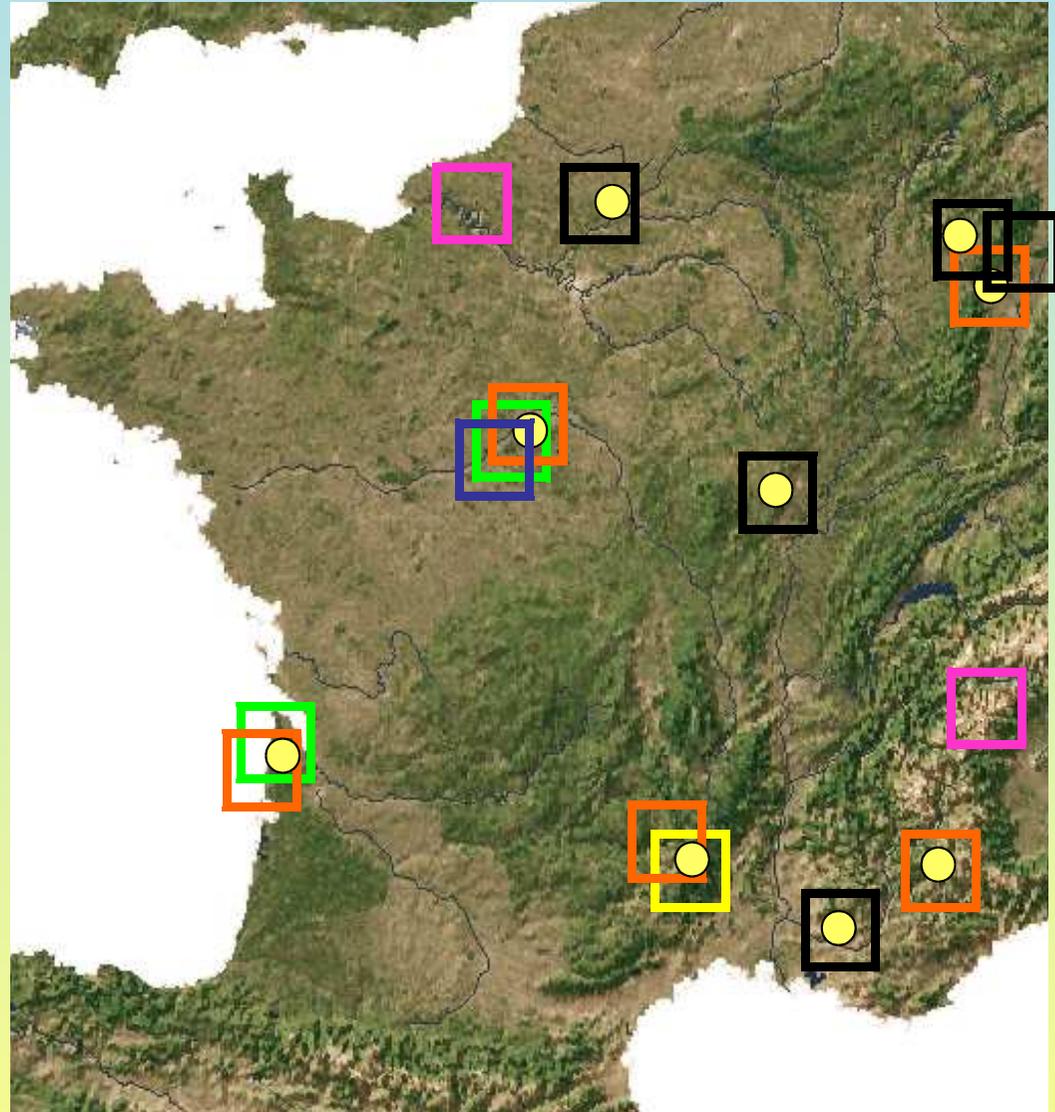
*B. espèce A (B. mucronatus / B. xylophilus)*  
identité morphologique



↓  
identification moléculaire  
(marqueurs ITS)

↓  
*B. mucronatus*

● Presence de *M. galloprovincialis*  
(campagne 2003 - 2004)



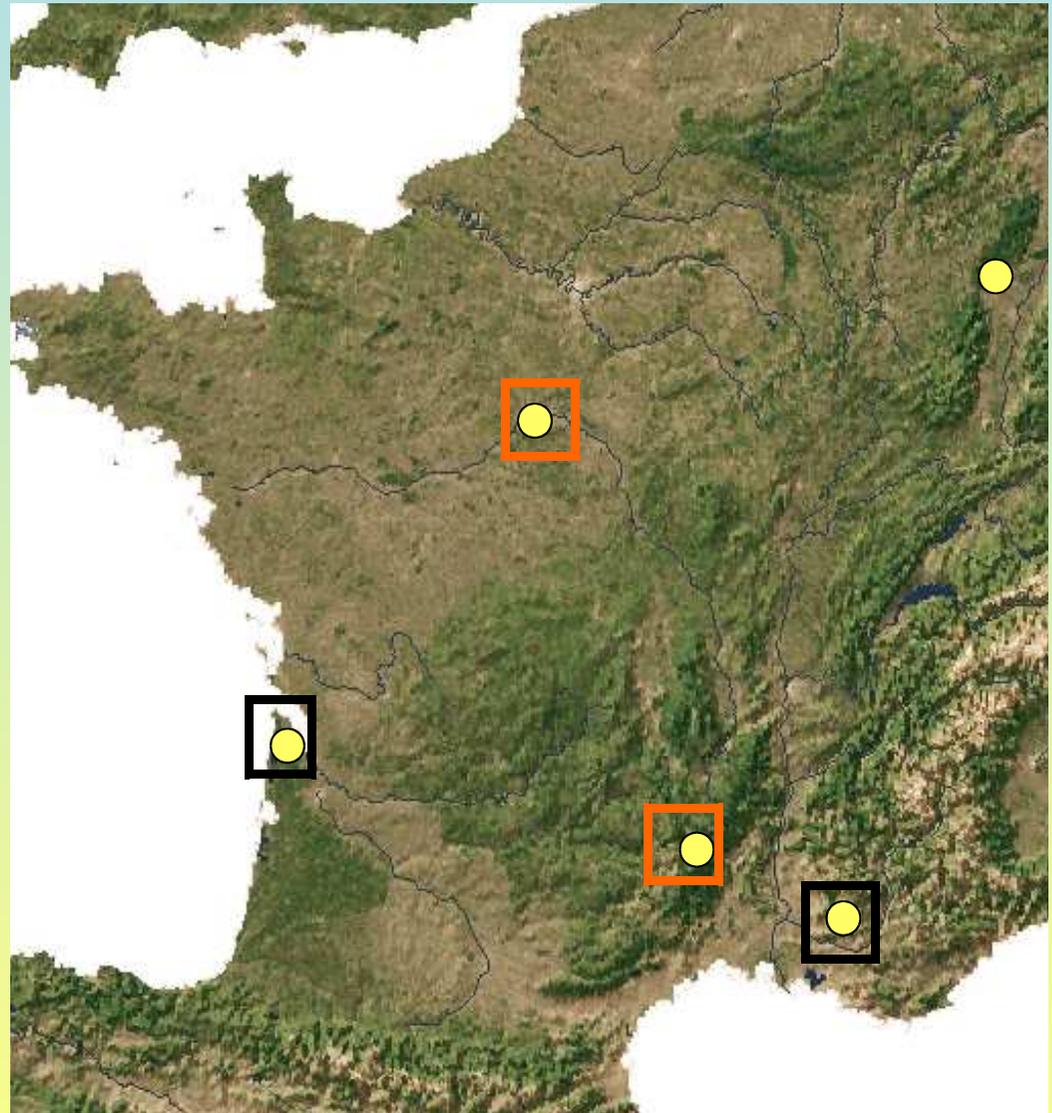
# Détermination des relations phorétiques entre *Bursaphelenchus* spp. et *M. galloprovincialis*

Dissection d'insectes émergents de rondins pièges :

**Seul *B. mucronatus* a été trouvé dans les insectes émergents**

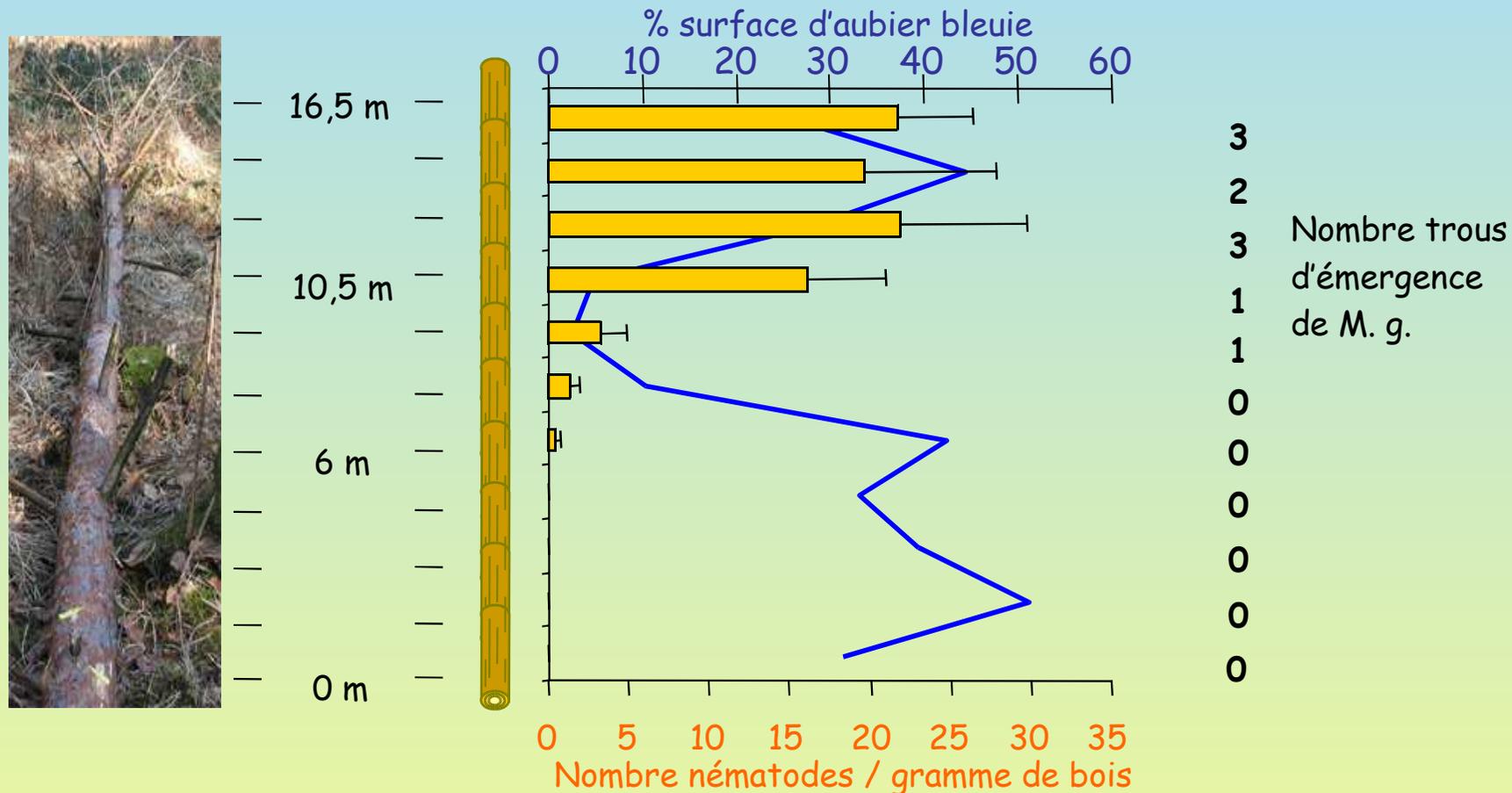
- Lorris: **27%** d'insectes porteurs (4/15) émergeant de *P. sylvestris*
- Le Vigan: **13%** d'insectes porteurs (2/16) émergeant de *P. nigra*
- Hourtin: **0%** d'insectes porteurs (0/4) émergeant de *P. pinaster*
- Meyrargues: **0%** d'insectes porteurs (0/89) émergeant de *P. halepensis*

● Presence de *B. mucronatus* sur les arbres attaqués par *M.g.*



# Détermination des relations phorétiques entre *Bursaphelenchus* spp. et *M. galloprovincialis*

Distribution de *B. mucronatus* sur les arbres et coïncidence avec *M. g.* :

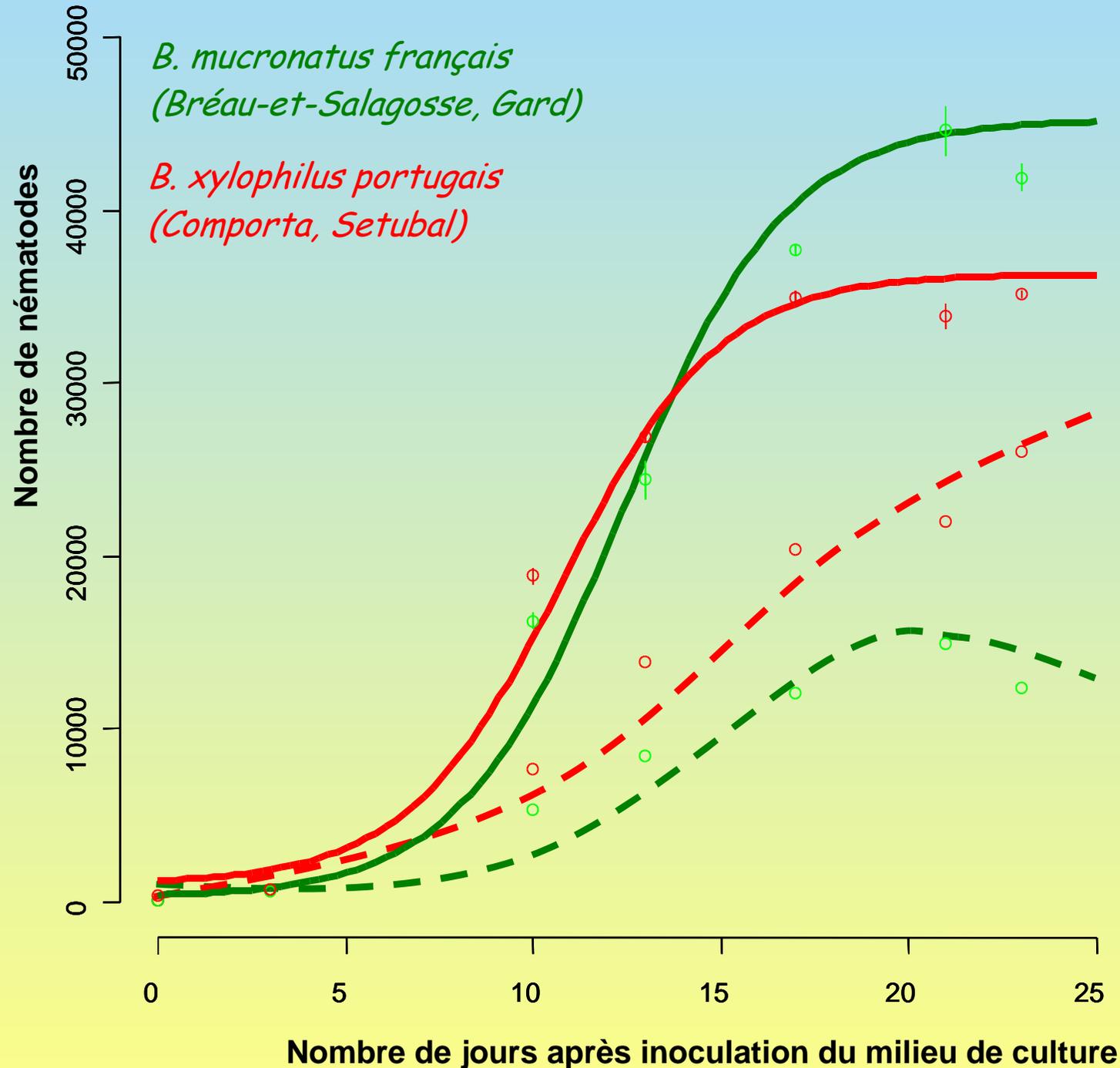


*B. mucronatus* abondant au niveau du houppier, absent de la partie inférieure de l'arbre.

Pas de relation avec le % de surface d'aubier bleue

Nombre de *B. mucronatus* corrélé au nombre de trous d'émergence de *M. g.* (Pearson :  $r = 0,88$  à  $0,94$  ;  $p < 0,01$ )

# Caractérisation des relations de compétition entre *B. mucronatus* et *B. xylophilus* sur cultures de *Botrytis cinerea*.



Espèces seules

$$r_{Bm} = 0,46 \pm 0,01$$

$$r_{Bx} = 0,48 \pm 0,01$$

Bm + Bx

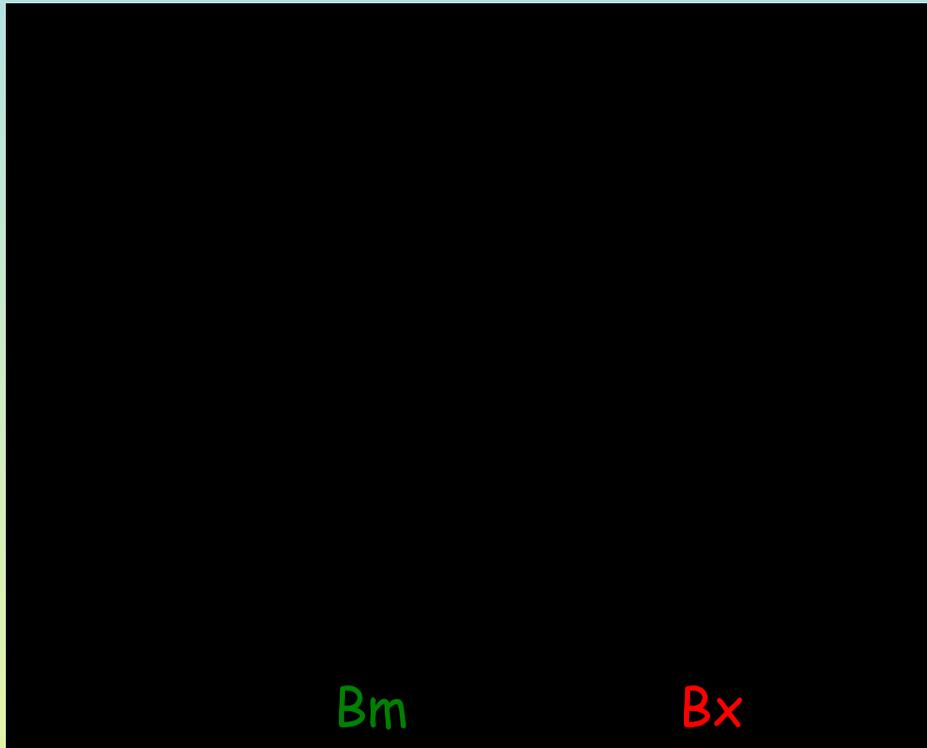
$$r_{Bx} = 0,28 \pm 0,003$$

$$r_{Bm} = 0,22 \pm 0,01$$

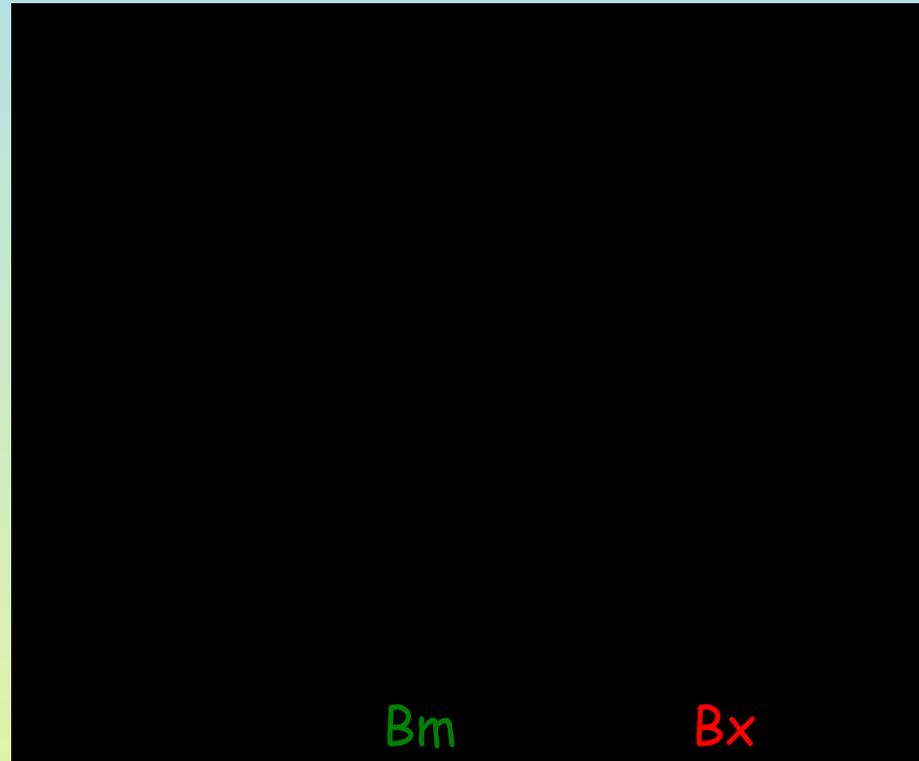
Prédominance de  
*B. xylophilus* (66,5 %)

# Caractérisation des relations de compétition entre *B. mucronatus* et *B. xylophilus* sur rondins, en liaison avec le passage sur les insectes

Importance de chaque espèce dans le cas du double traitement  
(rondin inoculé par *B. mucronatus* + *B. xylophilus*) :



Au niveau des chambres nymphales  
après émergence des insectes



Dans les insectes émergents

**Avantage compétitif de *B. xylophilus* à la fois dans le rondin et sur l'insecte**  
**Avantage acquis avant la contamination des insectes**

## Principales conclusions sur les travaux relatifs au nématode

- *B. xylophilus* n'a pas été isolé en France
- *B. mucronatus* occupe effectivement la même niche écologique que *B. xylophilus*, y compris dans ses relations avec *M. galloprovincialis*

Mais,

- Les insectes ne sont pas toujours contaminés. D'importantes populations de *M. galloprovincialis* peuvent exister sans que *B. mucronatus* soit présent (ni dans les arbres morts, ni dans les insectes)
- En conditions expérimentales, sur milieu artificiel comme sur rondin, *B. xylophilus* apparaît plus compétitif que *B. mucronatus*



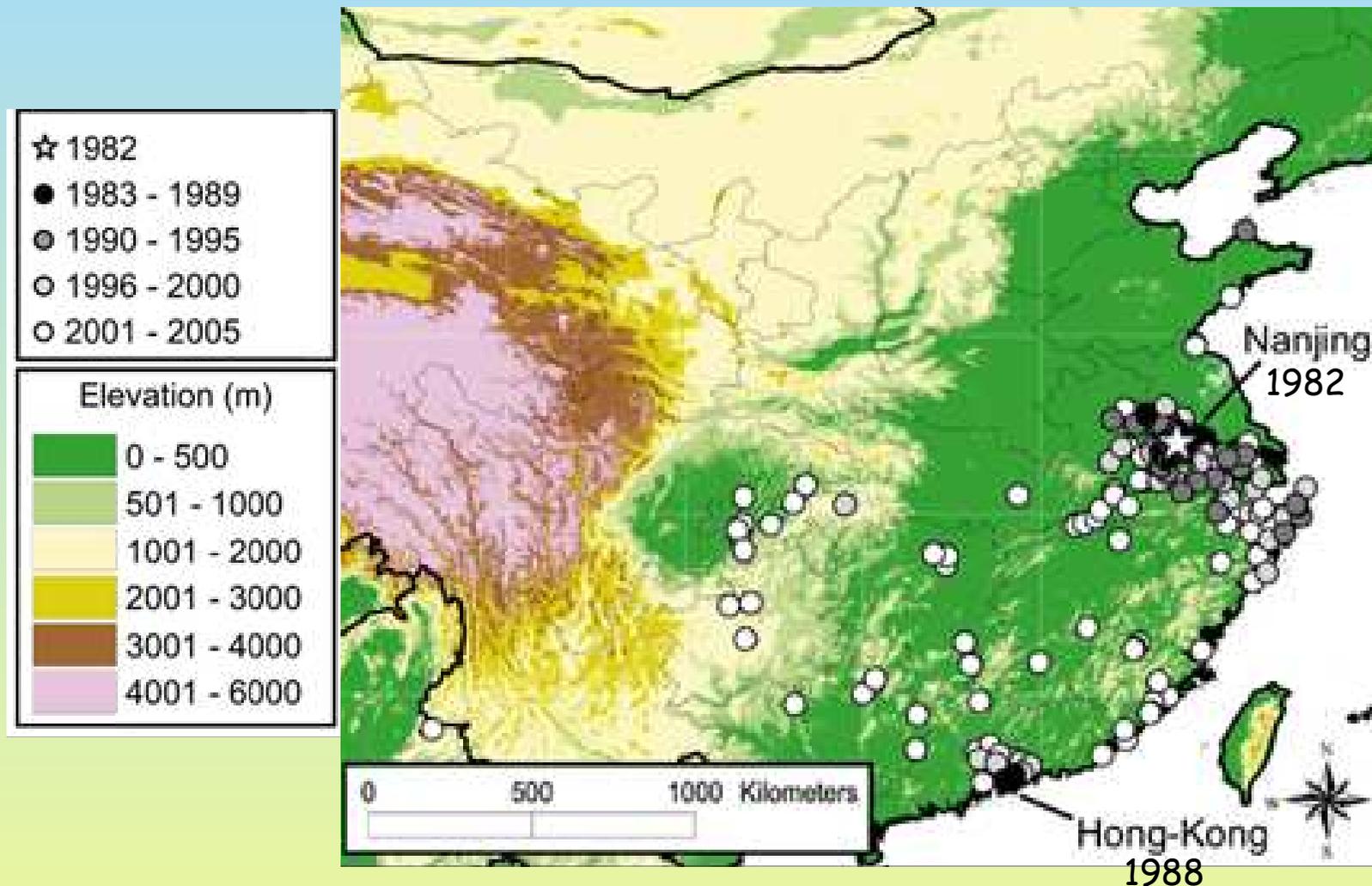
Il y a très peu de chance que *B. mucronatus* puisse perturber  
l'installation et l'extension de *B. xylophilus* en France

### ***3- Travaux relatifs aux facteurs de dissémination***

[Robinet C., Roques A., Pan H., Fang G., Ye J., Zhang Y., Sun J., 2009. PLoS ONE, 4(2), e4646]

Dissémination en Chine mais adaptable pour la France et l'Europe

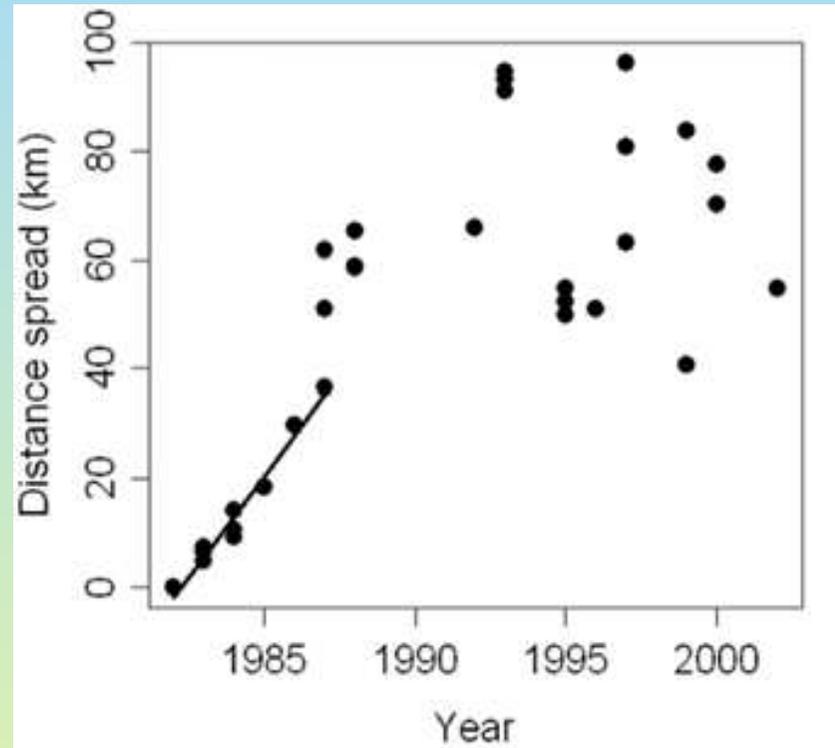
## Progression de l'invaion de 1982 à 2005



- Depuis 1982, extension jusqu'à 2 000 km des points d'introduction
- Relevés réguliers des localités infestées
- **Conditions favorables à une étude des modalités de dissémination à différentes échelles de distance**

# Construction d'un modèle de dispersion à courte distance

Examen de l'expansion dans un rayon de 100 km autour de Nanjing



- Modèle linéaire de 1982 à 1987 ( $r = 0.98$ )  $\Rightarrow$  vitesse = **7,5 km / an** (= Expansion locale)
- Après 1987, modèle de « réaction-diffusion » basé sur l'utilisation d'un coefficient de diffusion (dépendant du taux net de reproduction du nématode et de la vitesse d'invasion de 7,5 km / an)
- Combinaison de ces informations  $\Rightarrow$  **modèle de dispersion à courte distance**

**Modèle compatible avec une dispersion naturelle par *Monochamus***

# Construction d'un modèle de dispersion à longue distance

Sites qui, infestés l'année n, sont situés à  $> 7.5$  km des sites infestés l'année n-1

= plus de 90% des sites infestés, avec sauts moyens estimés à 111-339 km

## Rôle important de la dispersion à grande distance

Recherche des effets anthropogéniques (présence de rivières, ports, lacs, voies ferrées, densités de population humaine, à proximité des sites infestés en considérant des grilles avec mailles de diverses tailles)

Effet significatif des **voies ferrées**

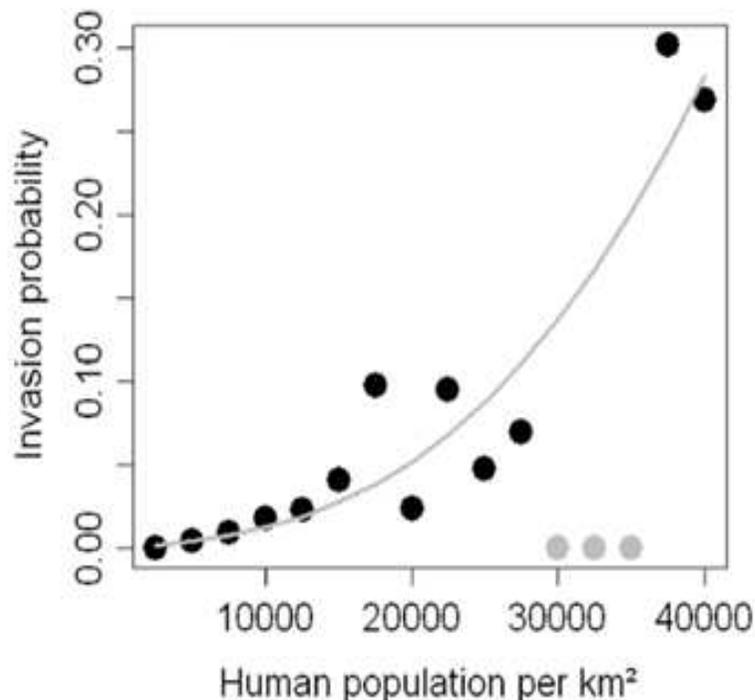
**ports**

**lacs**

**densités de population**, sur la dispersion

Pas d'effet des rivières,

ni de la distribution des essences sensibles

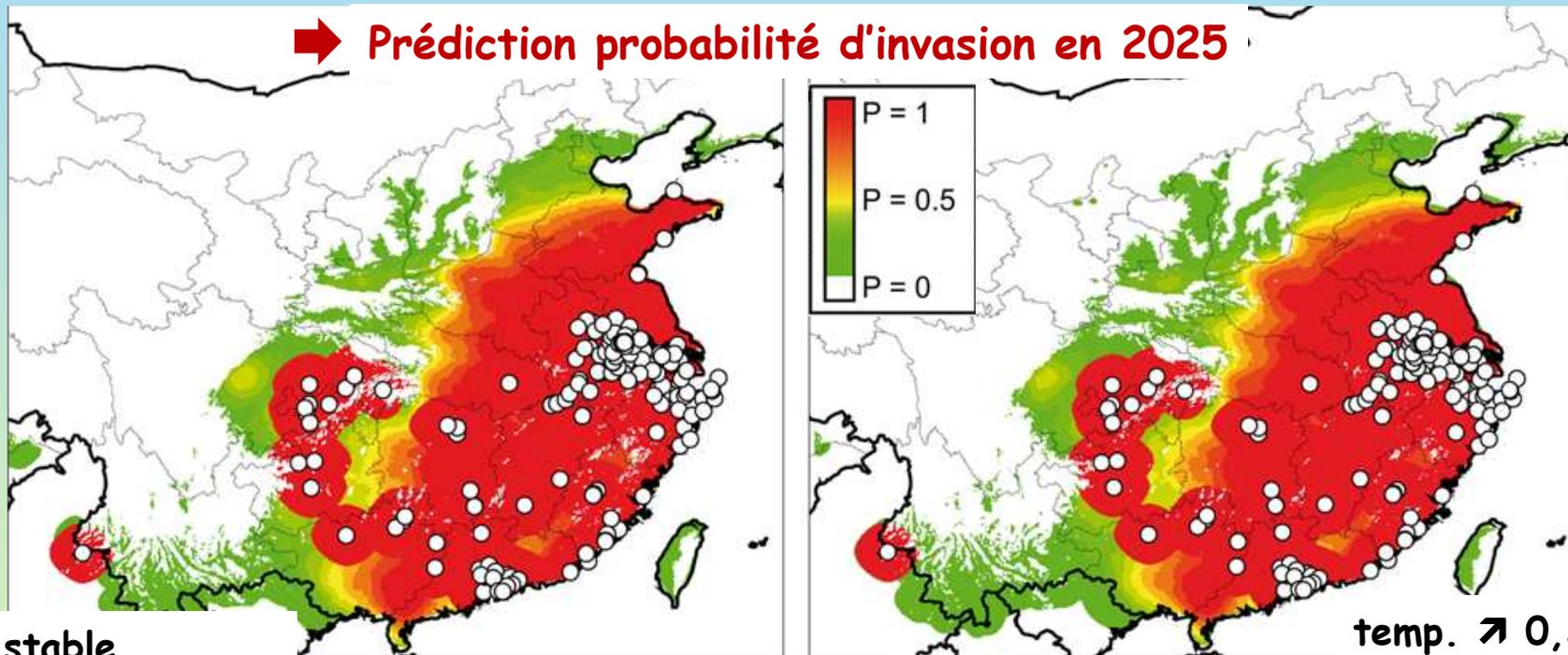


- Combinaison de ces informations ➔ **modèle de sauts à longue distance**

# Combinaison des modèles de dispersion à courte et longue distance

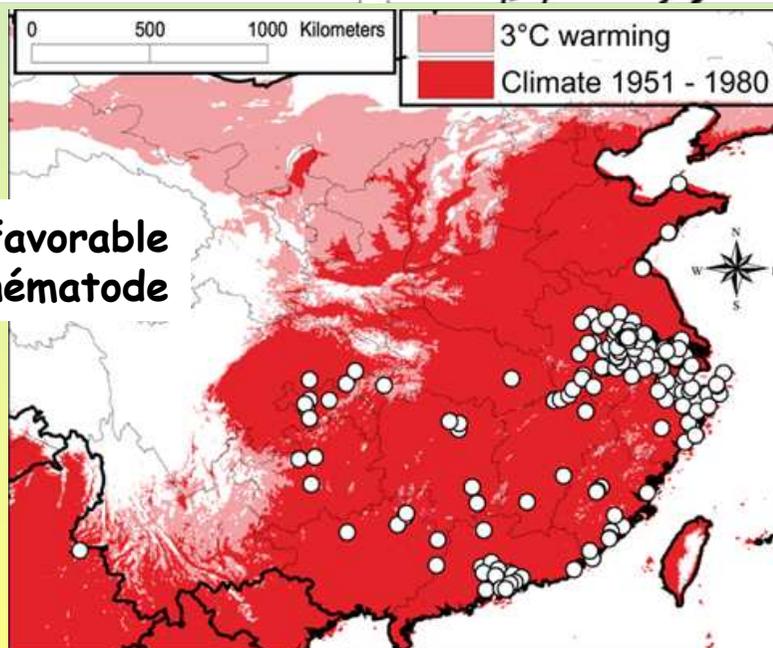
Prédiction de la présence du nématode avec 13% d'erreur (testé / situation 2005)

➔ Prédiction probabilité d'invasion en 2025



Climat stable  
Expansion de 45%

temp. ↗ 0,3°C / an  
Expansion de 55%



Zone climatique favorable  
au nématode

# Les projets de recherche

- Modélisation prédictive de l'expansion du nématode en France et en Europe (INRA Orléans)
- Construction d'une méthode de détection et de surveillance du nématode basée sur le piégeage odorant (INRA Bordeaux, Université Orléans)
- Combinaison des deux approches pour prévention et contrôle