



HAL
open science

Spécificité et biologie d'*Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae), agent de biocontrôle potentiel contre les dompte-venins (Apocynaceae, *Vincetoxicum* spp.)

Marie-Eve Bayle

► To cite this version:

Marie-Eve Bayle. Spécificité et biologie d'*Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae), agent de biocontrôle potentiel contre les dompte-venins (Apocynaceae, *Vincetoxicum* spp.). Sciences agricoles. 2012. dumas-00741828

HAL Id: dumas-00741828

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00741828v1>

Submitted on 15 Oct 2012

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

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



AGROCAMPUS OUEST
CFR Angers



**Diplôme d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences Agronomiques,
Agroalimentaires, Horticoles et du Paysage**

Année universitaire : 2011 – 2012
Spécialisation ou Option : GDV

**Spécificité et biologie d'*Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae), agent de
biocontrôle potentiel contre les dompte-venins (Apocynaceae, *Vincetoxicum* spp.)**

Marie-Eve BAYLE

Volet à renseigner par l'enseignant responsable de l'option/spécialisation* Ou son représentant	Bon pour dépôt (version définitive) <input type="checkbox"/>
Date ;/...../..... Signature :	Autorisation de diffusion : Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>

Devant le jury :

le 21/09/2012

Sous la présidence de : J-C Michel

Maître de stage : René Sforza

Fiche de diffusion du mémoire

A remplir par l'auteur⁽¹⁾ avec le maître de stage

Aucune confidentialité ne sera prise en compte si la durée n'en est pas précisée.

Préciser les limites de la confidentialité ⁽²⁾ :

➤ Confidentialité absolue : oui non

(ni consultation, ni prêt)

↳ Si oui 1 an 5ans 10 ans

➤ A l'issue de la période de confidentialité **ou** si le mémoire n'est pas confidentiel, merci de renseigner les éléments suivants :

Référence bibliographique diffusable⁽³⁾ : oui non

Résumé diffusable : oui non

Mémoire consultable sur place : oui non

Reproduction autorisée du mémoire : oui non

Prêt autorisé du mémoire : oui non

.....
Diffusion de la version numérique : oui non

↳ Si oui, l'auteur⁽¹⁾ complète l'autorisation suivante :

Je soussigné(e) _____, propriétaire des droits de reproduction dudit résumé, autorise toutes les sources bibliographiques à le signaler et le publier.

Date :

Signature :

Angers, le

Le maître de stage⁽⁴⁾,

L'auteur⁽¹⁾,

L'enseignant référent,

(1) auteur = étudiant qui réalise son mémoire de fin d'études

(2) L'administration, les enseignants et les différents services de documentation d'AGROCAMPUS OUEST s'engagent à respecter cette confidentialité.

(3) La référence bibliographique (= Nom de l'auteur, titre du mémoire, année de soutenance, diplôme, spécialité et spécialisation/Option) sera signalée dans les bases de données documentaires sans le résumé.

(4) Signature et cachet de l'organisme.

REMERCIEMENTS

Le directeur de l'EBCL :

Kim HOELMER,

pour m'avoir accueillie au labo.

Mon maître de stage :

René SFORZA,

pour ce qu'il m'a appris.

Les stagiaires et le doctorant :

Matthew (chef),

Franck,

Thierry,

Lou,

Antoine,

pour leur présence et leur aide.

Les membres de l'équipe technique :

Olivier SIMONOT,

pour son aide quotidienne,

Arnaud,

Nathalie,

Dominique,

pour leur aide en quarantaine,

Bertrand,

Xavier,

pour leur appui technique,

Xavier,

pour son aide administrative.

Parmi les autres membres du labo :

Farida,

Marie,

pour leur gentillesse,

Dan,

Gaël,

pour leur sourire matinal.

Mon entourage extérieur :

Guillaume,

Joane,

pour leur soutien et leurs conseils,

Ma maman,

pour ses conseils et la relecture finale.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES FIGURES.....	2
TABLE DES TABLEAUX.....	4
LISTE DES ANNEXES	5
INDEX ET ABREVIATIONS.....	6
1 INTRODUCTION	7
1.1 Les invasions biologiques, un problème d'actualité.....	7
1.2 Une solution : la lutte biologique classique	9
1.3 Contexte de l'étude : la lutte contre les dompte-venins.....	13
1.4 Problématique	18
2 BIOLOGIE ET ECOLOGIE D' <i>ABROSTOLA ASCLEPIADIS</i>	19
2.1 Questions de recherche, objectifs.....	19
2.2 Relevés et observations de terrain.....	19
2.2.1 Matériel et méthodes.....	19
2.2.2 Résultats et observations	20
2.2.3 Discussion, limites et perspectives.....	21
2.3 Etude menée au laboratoire.....	21
2.3.1 Matériel et méthodes.....	21
2.3.2 Résultats et observations	23
2.3.3 Discussion, limites et perspectives.....	25
3 SPECIFICITE D' <i>ABROSTOLA ASCLEPIADIS</i>	27
3.1 Questions de recherche, objectifs.....	27
3.2 Matériel et méthodes.....	27
3.3 Résultats et observations	30
3.4 Discussion, limites et perspectives.....	32
4 CONCLUSION, PERSPECTIVES	34
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	36
REFERENCES WEBOGRAPHIQUES.....	38
ANNEXES	39

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : schéma présentant le principe d'une invasion biologique et ses conséquences sur les populations indigènes.	8
Figure 2 : un moyen de contrôle est employé pour faire pression sur la population cible A et tenter de rétablir l'équilibre. (Adapté de Suty, 2010).	9
Figure 3 : illustration de la notion de seuil de nuisibilité. Les nuisances peuvent être écologiques, économiques ou sanitaires. (Adapté de Briese, 2000).	9
Figure 4 : principe de la lutte biologique classique : on introduit dans l'écosystème envahi un prédateur de A, ou agent de biocontrôle, pour rétablir l'équilibre perturbé par l'invasion. (Adapté de Suty, 2010).	10
Figure 5 : schéma représentant les effets directs et indirects de l'introduction d'un agent de biocontrôle.	10
Figure 6 : les quatre grandes étapes de la méthode générale d'analyse du risque, appliquée à la LBC.	11
Figure 7 : qualités requises pour être un bon agent de biocontrôle, et conséquences en cas d'absence de l'une de ces qualités.	12
Figure 8 : schéma en cible illustrant la sélection centrifuge. (Adapté de Sforza, 2009).	12
Figure 9 : aire de répartition des espèces du genre <i>Vincetoxicum</i> : <i>V. nigrum</i> et <i>V. rossicum</i> , invasives en Amérique du Nord, et <i>V. hirundinaria</i> , la plus commune en Eurasie.	13
Figure 10 : aire d'invasion de <i>Vincetoxicum nigrum</i> et <i>V. rossicum</i> en Amérique du Nord.	14
Figure 11 : monarque (<i>Danaus plexippus</i>) sur <i>Asclepias syriaca</i> , sa principale plante hôte, concurrencée par <i>Vincetoxicum</i> spp. ©R. Sforza.	15
Figure 12 : patch monospécifique de <i>Vincetoxicum</i> spp. dans l'état de New York (USA). ©R. Sforza.	15
Figure 13 : œufs d' <i>Abrostola asclepiadis</i> sur la face inférieure d'une feuille de <i>Vincetoxicum hirundinaria</i>	19
Figure 14 : deux œufs d' <i>Abrostola asclepiadis</i> parasités (noirs) à côté d'un œuf sain (blanc).	20
Figure 15 : parasitoïde <i>Trichogramma</i> sp. après émergence.	20
Figure 16 : parasitoïde <i>Telenomus laeviceps</i> après émergence.	20
Figure 17 : résultat du test de χ^2 réalisé sur R pour les trois récoltes.	21
Figure 18 : matériel employé pour filmer en continu le développement larvaire.	22
Figure 19 : boîte servant à la mise en cocon et nymphose des chenilles d' <i>Abrostola asclepiadis</i>	22

Figure 20 : capsule céphalique de larve d' <i>Abrostola asclepiadis</i> de stade larvaire L4 montrant la largeur mesurée en mm.	22
Figure 21 : moyenne des largeurs des capsules céphaliques pour les cinq stades larvaires d' <i>Abrostola asclepiadis</i> . Les écarts types sont représentés pour rendre compte de la faible variance de la variable.....	24
Figure 22 : résultat du test de Kruskal-Wallis réalisé sur R, appliqué aux capsules céphaliques de stade L3.	24
Figure 23 : résultat du test de Kruskal-Wallis réalisé sur R, appliqué aux durées de développement.	24
Figure 24 : moyenne des surfaces consommées cumulées du 22/06 (jour 0) au 04/07, pour les répétitions 1 à 5.	25
Figure 25 : pieds de <i>Vincetoxicum hirundinaria</i> après séparation de la motte et rinçage à l'eau claire.	27
Figure 26 : deux tubes contenant une chenille d' <i>Abrostola asclepiadis</i> et une feuille d' <i>Asclepias curassavica</i>	29
Figure 27 : pot de 7L surmonté d'un voile insect-proof soutenu par des arceaux d'acier, en serre de quarantaine.	29
Figure 28 : évolution du nombre de chenilles au cours du temps (jours) jusqu'au jour 5, pour les 17 espèces végétales non cibles et le témoin <i>Vincetoxicum hirundinaria</i>	30
Figure 29 : durée de vie moyenne (5 répétitions) et stades larvaires atteints. Les écarts types de la durée du stade larvaire L1 sont représentés.....	30
Figure 30 : feuille d' <i>Asclepias syriaca</i> attaquée. Perforations d'1mm ²	30
Figure 31 : résultat du test de Kruskal-Wallis réalisé à l'aide du logiciel R.	30
Figure 32 : perforation foliaire sur <i>Asclepias syriaca</i> , observée à la loupe binoculaire.....	31
Figure 33 : résultat du test du χ^2 réalisé sur R pour le test de non-choix en pot (test 4).	31

Page de couverture :

En haut : fleur de *Vincetoxicum nigrum* (Montferrier sur Lez).

En bas : larve d'*Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae) au cinquième stade larvaire.

Sauf indication contraire, l'ensemble des iconographies présentées dans ce mémoire sont de l'auteure.

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : taxinomie et nom vernaculaire des deux espèces cibles (Source : site internet Tela Botanica)	13
Tableau 2 : entomofaune étudiée dans les différents projets de recherche en LBC contre les dompte-venins (<i>Vincetoxicum</i> spp.)	16
Tableau 3 : taxinomie et nom vernaculaire de l'agent de biocontrôle potentiel, <i>Abrostola asclepiadis</i> (source : site internet Fauna Europaea)	17
Tableau 4 : bilan des trois récoltes d'œufs d' <i>Abrostola asclepiadis</i> . NR=non relevé.	20
Tableau 5 : p-values obtenues lors des tests de χ^2 confrontant les récoltes deux à deux.....	21
Tableau 6 : moyennes des durées des cinq stades larvaires pour trois tests menés en 2012. L'écart type est indiqué.	24
Tableau 7 : mortalité observée au cours du test 2	25
Tableau 8 : liste des espèces végétales non-cibles envisagées par R. Sfoza et L.R. Milbrath dans les tests de spécificité d' <i>Abrostola asclepiadis</i>	28
Tableau 9 : résultats du test de non-choix en pot.	31

LISTE DES ANNEXES

- ANNEXE I
Etablissement d'accueil
- ANNEXE II
Programmes de recherche en LBC contre *Vincetoxicum* spp.
- ANNEXE III
Tableau récapitulatif des tests et chronologie du stage
- ANNEXE IV
Illustrations de *Vincetoxicum nigrum*, *V. rossicum* et *V. hirsutinaria*
- ANNEXE V
Localisation des deux sites de récolte d'œufs d'*Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae)
- ANNEXE VI
Cycle de développement d'*Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae) en laboratoire
- ANNEXE VII
Détail de l'éclosion d'une chenille d'*Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae)
- ANNEXE VIII
Détail de la mue L4-L5 d'une chenille d'*Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae)
- ANNEXE IX
Explication du logiciel GeoTool
- ANNEXE X
Documents concernant la quarantaine

INDEX ET ABREVIATIONS

Acclimatation : adaptation au milieu d'introduction.

Admixture : croisement de populations initialement isolées.

Agent de biocontrôle : organisme vivant (généralement de l'embranchement des arthropodes) utilisé par l'homme pour son action régulatrice sur une population végétale ou animale nuisible.

Agropolis international : communauté scientifique fédérant la recherche et l'enseignement dans les domaines de l'agriculture, de l'alimentation, de la biodiversité et de l'environnement, installée à Montpellier (34).

Aire de répartition : zone délimitant la répartition géographique d'une espèce.

Allélopathie : interactions biochimiques négatives d'une plante sur une autre, au moyen de métabolites secondaires exsudés dans le sol.

Biocénose : ensemble des êtres vivants cohabitant dans un espace (biotope) défini.

Dérive : changement de régime de l'agent de biocontrôle ayant lieu après son introduction.

Ecosystème : ensemble formé par une biocénose et son environnement physique et abiotique.

Fitness : Indique la capacité d'un individu ou d'une population à supporter la sélection naturelle.

Glycoside cardiotonique : molécule provoquant l'inhibition de la pompe Na^+/K^+ des cellules musculaires cardiaques.

Goulet d'étranglement : facteur extrinsèque venant diminuer l'effectif d'une population.

LBC : Lutte Biologique Classique

Monophage : qui se nourrit sur un seul hôte.

NS3 : Niveau de Sécurité 3, i.e. traitement en sortie des liquides (chlore choc), solides (autoclave) et de l'air (biofiltre).

OILB : Organisation Internationale de Lutte Biologique et Intégrée contre les Animaux et les Plantes Nuisibles.

Oligophage : qui se nourrit sur un étroit spectre d'hôtes.

Poly-embryonnaire : contenant au moins deux embryons viables.

Population cible : population nuisible visée par le programme de LBC.

Population non-cible : population non visée par le programme de LBC.

Réseau trophique : ensemble de chaînes alimentaires reliées entre elles au sein d'un écosystème, par lesquelles l'énergie et la matière circulent.

Seuil de nuisibilité : limite de nuisibilité (économique, écologique ou sanitaire) tolérable pour l'homme.

Spécificité : aptitude à se nourrir sur un spectre alimentaire le plus réduit possible.

Stade larvaire : phases du développement larvaire, séparées par les mues successives.

USDA-ARS : United States Department of Agriculture – Agricultural Research Service.

1 INTRODUCTION

1.1 Les invasions biologiques, un problème d'actualité

- *Définition et origine du phénomène*

Une invasion biologique est définie comme l'accroissement de l'**aire de répartition** initiale d'une espèce, avec ou sans rapport avec l'activité humaine, provoquant ainsi l'apparition de populations pérennes se reproduisant et se maintenant dans l'aire nouvellement conquise (Müller, 2004).

Ce phénomène est favorisé par les introductions d'espèces non indigènes, mais plus généralement par toute modification touchant à l'équilibre des **écosystèmes** : activités liées à l'agriculture ou à l'exploitation des ressources naturelles, pollution, changement climatique, etc. La conjoncture actuelle de mondialisation des échanges et des transports, de surexploitation des ressources et de changement climatique global augmente les risques d'invasion biologique, mais également leur impact, d'autant plus fort que les changements sont brutaux.

On parle d'introduction lorsqu'un organisme est délocalisé de son écosystème d'origine vers un autre écosystème d'où il était jusqu'alors absent. Cela peut être volontaire (cas des collections botaniques du XIX^{ème}, ou des espèces d'intérêt agronomique), ou non (prenons le cas des microorganismes). Plusieurs scénarios sont possibles suite à une introduction : soit la population introduite ne parvient pas à s'acclimater (ce qui conduit à son extinction sur l'aire d'introduction), soit elle réussit à s'acclimater et s'installe dans son nouvel écosystème. Elle peut alors parvenir à un équilibre sans perturber profondément son environnement, ou au contraire son développement incontrôlé peut devenir problématique. Cela devient alors une population invasive.

- *Caractéristiques d'une population invasive*

On distingue les populations invasives des populations envahissantes, qui sont indigènes et prolifèrent suite à une perturbation de l'équilibre écologique local. Une reproduction efficace (cycle court chez les insectes, multiplicité des moyens de reproduction chez les plantes), une plasticité importante (que prouve son **acclimatation**), ainsi que la rareté des prédateurs dans l'aire d'introduction sont les principaux atouts des populations invasives. Ces avantages écologiques viennent du fait que :

- La population introduite a franchi un **goulet d'étranglement**. Elle est ainsi génétiquement purifiée des allèles délétères présents dans la population mère. Des phénomènes d'**admixture** ont pu s'ajouter à cette purge génétique, augmentant la **fitness** des individus de la population qui en résulte.
- Elle est également affranchie du **réseau trophique** au sein duquel elle a évolué dans son aire d'origine. Seuls les prédateurs généralistes peuvent réguler la population, mais uniquement si l'organisme n'est pas toxique.

Par ailleurs, certaines populations invasives présentent des avantages écologiques qui leur sont propres. Dans le cas de plantes invasives par exemple, il est désormais admis que nombre d'entre elles présentent des facultés d'**allélopathie** dans leur milieu d'introduction (Thorpe & al., 2009 ; Delabays & Mermillod, 2002 ; Galler & Pelissier, 2002)

Sorte d'anomalie de l'évolution, la population invasive a toute l'énergie nécessaire pour se développer massivement et concurrencer les espèces indigènes (Figure 1).

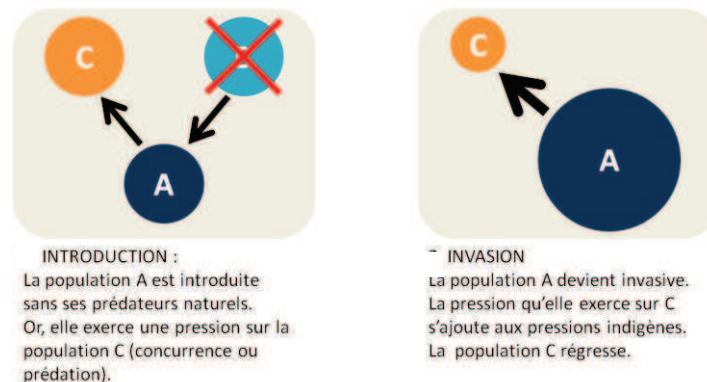


Figure 1 : schéma présentant le principe d'une invasion biologique et ses conséquences sur les populations indigènes. N.B. : Le fond gris représente l'écosystème, qui contient les populations A (introduite) et C (indigène). Une flèche représente une pression. (Adapté de Suty, 2010).

- *Ampleur des dommages causés*

Ecologiques

Les premiers dommages sont d'ordre écologique. En effet, durant des milliers d'années de coévolution, des **biocénoses** se sont créées, regroupant les espèces d'une même zone géographique dans un écosystème complexe et équilibré. Mais cet équilibre est fragile, et le développement incontrôlé d'une population risque de provoquer son effondrement. Ainsi, les espèces invasives sont considérées comme étant la deuxième source de perte de biodiversité après la destruction des habitats (Parker & al., 1999 ; Mooney & Hobbs, 2000 ; Goudard, 2007).

Economiques

Associées à ces dégâts écologiques, les invasions biologiques ont également des conséquences économiques directes. Aux Etats-Unis, plus de 50 000 espèces non-indigènes sont recensées, dont 25 000 espèces végétales. Leur impact global est estimé à près de 120 milliards de dollars de perte par an pour ce pays seulement (Pimentel & al., 2000 ; Pimentel & al., 2005). Ne perdons pas de vue que, parmi ces espèces introduites, certaines participent à la richesse du pays : les céréales, le bétail et autres denrées non-indigènes représentent 98% de l'agriculture du pays, pour une valeur créée de 800 milliards de dollars par an (Pimentel & al., 2005).

Sanitaires

Enfin, les invasions biologiques, qu'elles soient végétales, animales ou microbiennes, peuvent provoquer des dégâts sanitaires, rajoutant un impact économique indirect lié aux traitements médicaux. En France, l'exemple le plus courant pour parler de dégâts liés aux invasions biologiques végétales est le cas de l'ambrosie (*Ambrosia artemisiifolia*), à l'origine de vagues d'allergies à son pollen. Le cas du moustique tigre (*Aedes albopictus*), insecte d'origine indo-asiatique tropicale, est un autre exemple d'invasion biologique à risque sanitaire : il fait partie des cent espèces les plus invasives au monde (GISD, Global Invasive Species Database), et c'est le principal vecteur de la dengue et du chikungunya. Par ailleurs, chaque pandémie illustre le risque sanitaire induit par les invasions biologiques de pathogènes.

On comprend mieux l'enjeu mondial que représente la lutte contre les invasions biologiques.

- *Evolution des moyens de contrôle*

Une population invasive pose problème lorsqu'elle dépasse un **seuil de nuisibilité**, qu'il soit écologique, économique ou sanitaire. L'enjeu est alors de trouver un moyen de contrôler la **population cible** (Figure 2), pour la maintenir sous un seuil tolérable (Figure 3).

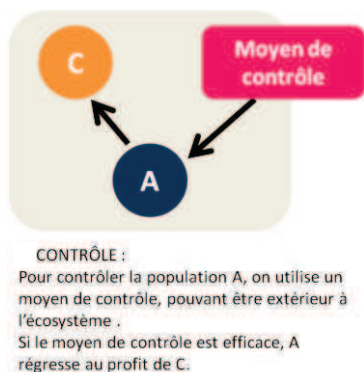


Figure 2 : un moyen de contrôle est employé pour faire pression sur la population cible A et tenter de rétablir l'équilibre. (Adapté de Suty, 2010).

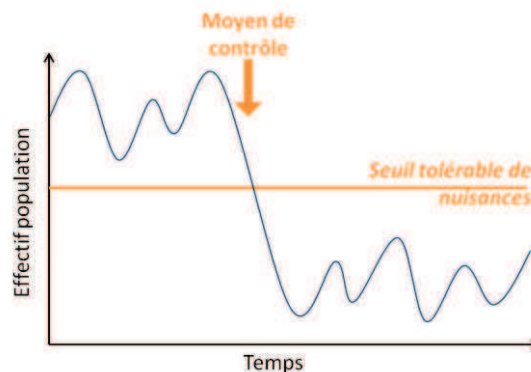


Figure 3 : illustration de la notion de seuil de nuisibilité. Les nuisances peuvent être écologiques, économiques ou sanitaires. (Adapté de Briese, 2000).

Initialement, la lutte chimique était prioritairement employée pour lutter contre les invasions biologiques, en particulier lorsqu'il s'agissait de populations cibles végétales. Pouvant être efficace, cette méthode présente toutefois de nombreux inconvénients : les pesticides sont coûteux, pas toujours spécifiques, et ils provoquent un déséquilibre de l'écosystème favorisant la pullulation d'espèces. La lutte mécanique était une alternative dans certains cas (par exemple dans le cas des populations invasives végétales), mais cette méthode est également coûteuse et rarement efficace sur le long terme.

Ces inconvénients ont poussé la recherche à se tourner vers une solution plus écologique, durable et efficace sur le long terme : la lutte biologique classique, ou par acclimatation.

1.2 Une solution : la lutte biologique classique

- *Principe général de la lutte biologique*

Selon l'**OILB**, la lutte biologique est « l'utilisation par l'homme d'ennemis naturels tels que des prédateurs, des parasitoïdes ou des agents pathogènes pour contrôler des populations d'espèces nuisibles et les maintenir en dessous d'un seuil de nuisibilité » (Suty, 2010). On distingue trois catégories :

- la lutte biologique par conservation, qui vise à favoriser le maintien des populations de prédateurs naturels ;
- la lutte biologique par augmentation, qui a pour but d'endiguer les invasions soudaines de ravageurs par des lâchers ponctuels et massifs d'auxiliaires ;
- la lutte biologique classique (notée **LBC**), ou par acclimatation, qui vise à contrôler les populations invasives par l'introduction d'un prédateur, qualifié d'**agent de biocontrôle**. L'objectif est de rééquilibrer le réseau trophique perturbé par l'invasion (Figure 4).

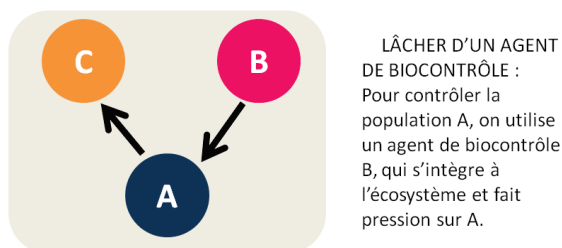


Figure 4 : principe de la lutte biologique classique : on introduit dans l'écosystème envahi un prédateur de A, ou agent de biocontrôle, pour rétablir l'équilibre perturbé par l'invasion. (Adapté de Suty, 2010).

- *Risques et effets non-intentionnels en LBC*

Les effets non-intentionnels (en anglais, « non-target effects ») sont les dommages collatéraux causés par le lâcher d'un agent de biocontrôle. On peut distinguer deux catégories : les effets directs et indirects (Figure 5).

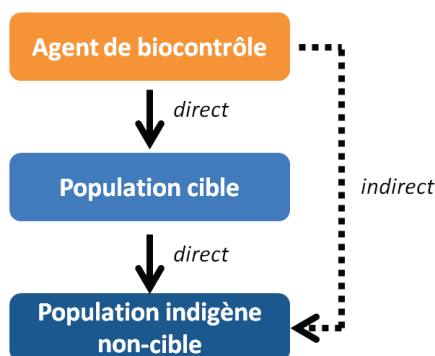


Figure 5 : schéma représentant les effets directs et indirects de l'introduction d'un agent de biocontrôle. L'effet indirect peut être positif ou négatif, selon que la population cible fait pression ou est une ressource pour la population indigène. (Adapté de Lonsdale & al., 2001).

On parle d'effets non-intentionnels directs lorsque l'agent de biocontrôle s'attaque à des **populations non-cibles**. On parle aussi de **dérive** de l'agent. Quelques cas d'effets non-intentionnels directs ont suscité l'opprobre des écologues contre la lutte biologique (Strong, 1997 ; Louda & al., 1997 ; Simberloff, 1996) : le charançon *Rhinocyllus conicus* (Col. Curculionidae), lâché aux USA en 1969, qui a dérivé sur des chardons indigènes protégés (Strong, 1997); la coccinelle asiatique (*Harmonia axyridis*, Col. Coccinellidae), importée d'Asie en Europe et aux USA pour lutter contre les pucerons, devenue invasive dans les années 90 et 2000 ; l'exemple de la lutte contre l'oponce en Australie (*Opuntia* spp., Cactaceae), qui est à la fois un succès (les oponces sont éradiquées suite au lâcher des agents) et un insuccès, en raison de la dérive de l'un des agents de biocontrôle employé (*Cactoblastis cactorum* (Lep. Pyralidae), qui, lâché sur d'autres îles envahies, dérive sur des oponces indigènes non-cibles) (Sforza, 2009). Depuis, afin d'éviter ce type d'impact négatif, les exigences de spécificité ont augmenté, et la sélection d'organismes **monophages** est devenue la règle. Il est néanmoins important de rappeler que depuis plus d'un siècle, des programmes de LBC sont menés contre les populations végétales invasives, et seulement 1% d'entre eux ont présenté des effets non-intentionnels directs durables (R. Sforza, com. pers.). Ce 1% comprend les cas très connus cités plus haut.

En revanche, lorsqu'il n'y a pas de contact physique entre l'agent et les espèces touchées, on parle d'effets non-intentionnels indirects (Lonsdale & al., 2001). Ils sont causés par la cascade de perturbations que l'agent de biocontrôle va provoquer lors de son installation dans son nouvel

écosystème. Ils sont plus difficiles à anticiper et mesurer, et c'est là que réside la complexité des programmes de lutte biologique actuels : ils doivent prévoir le devenir et le rôle des agents introduits dans leur nouvel écosystème (Sforza, 2009).

Malgré les effets non-intentionnels parfois observés, les bénéfices apportés par les programmes de lutte restent supérieurs aux impacts négatifs observés (Waage, 2001). Cependant, le rôle des chercheurs en lutte biologique est de limiter ces effets non-intentionnels, et pour cela, il faut les comprendre et tenter d'en évaluer les risques.

- *Evaluation des risques en lutte biologique classique*

La prédiction des risques est la principale préoccupation du chercheur en lutte biologique. Elle comprend deux aspects majeurs :

- L'évaluation de la **spécificité** de l'agent de biocontrôle ; la communauté de chercheurs ne s'accorde pas tout à fait sur la spécificité à étudier avant lâcher : faut-il évaluer l'impact sur toutes les espèces concernées, ou certaines doivent-elles être particulièrement surveillées (espèces protégées, cultivées), ou seules celles-ci doivent être étudiées et les autres ignorées? Par ailleurs, le comportement de spécificité de l'agent peut varier en expérience en champs, en laboratoire, dans son aire d'origine et dans son aire d'introduction (Hopper, 2001).
- La correspondance climatique (plutôt nommée « climate matching ») : à l'aide de logiciels tels que Climex, il s'agit d'étudier le climat et son évolution pour anticiper l'accroissement éventuel de l'aire de répartition de l'agent de biocontrôle, qui pourrait alors atteindre des populations non-cibles sensibles.

Une méthode générale d'analyse de risques s'applique à la lutte biologique (Lonsdale & al., 2001) et permet de structurer ces étapes. Elle comprend quatre volets (Figure 6) : l'analyse comparative de risques, qui compare plusieurs types de risques pour prendre la décision d'agir ; l'évaluation du risque, dont les tests de spécificité font partie ; la gestion du risque, qui se penche sur les facteurs économiques, sociaux et politiques ; et enfin l'étape de communication des informations concernant le risque encouru.

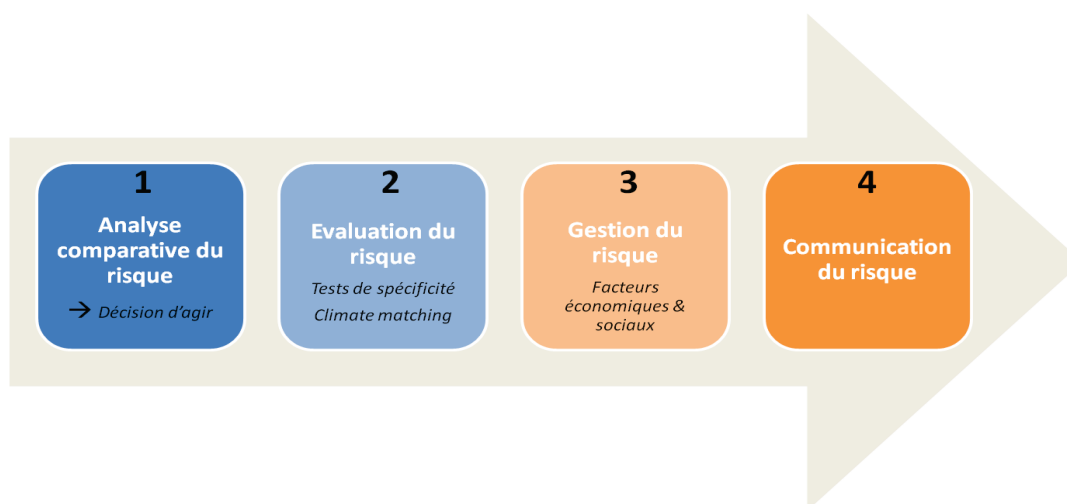


Figure 6 : les quatre grandes étapes de la méthode générale d'analyse du risque, appliquée à la LBC

- *Sélection d'un agent de biocontrôle*

Un agent de biocontrôle doit présenter les trois caractères principaux suivants : spécificité, adaptabilité, efficacité (Figure 7). Ces caractères balisent la marche à suivre lors de la sélection d'un agent de biocontrôle.

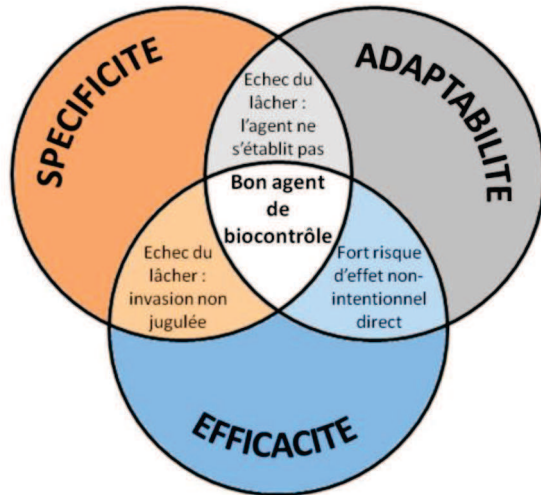


Figure 7 : qualités requises pour être un bon agent de biocontrôle, et conséquences en cas d'absence de l'une de ces qualités.

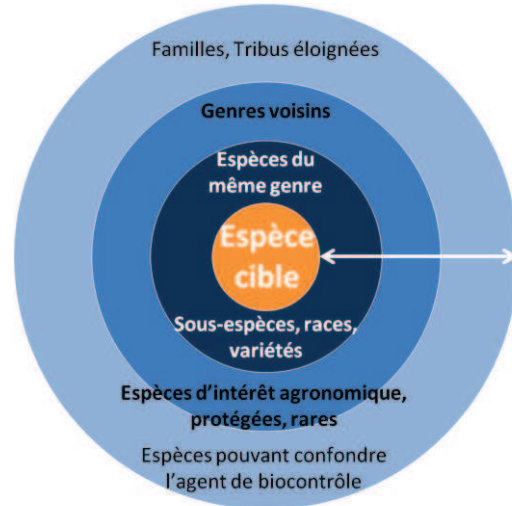


Figure 8 : schéma en cible illustrant la sélection centrifuge. (Adapté de Sforza, 2009).

La spécificité est un critère fondamental, qui permet de limiter les risques non-intentionnels directs. Pour vérifier ce caractère, les deux principaux outils sont les **tests de non-choix** et les **tests de choix**. En test de non-choix, on cherche à reproduire le cas extrême selon lequel l'agent de biocontrôle aurait éradiqué la population cible. On force ainsi une éventuelle dérive. En test de choix, l'agent de biocontrôle potentiel est soumis à un choix alimentaire. Les espèces à tester sont sélectionnées de manière centrifuge (Figure 8) : espèces du même genre, de la même famille, espèces d'intérêt agronomique ou écologique, et enfin espèces pouvant être confondues par l'agent (espèces morphologiquement ou chimiquement ressemblantes). Un critère géographique s'ajoute à cette sélection centrifuge, c'est là qu'intervient le « climate matching ».

L'adaptabilité est un critère important permettant de s'assurer de l'établissement de l'agent dans son aire d'introduction. Pour vérifier ce caractère, des logiciels tels que Climex permettent de modéliser l'adaptation et la dynamique de population d'organismes vivants non indigènes, dans l'hypothèse où ils seraient introduits sur un continent. Il faut entrer des paramètres propres à l'espèce (répartition géographique ou données de biologie, température de développement, diapause, etc) suivant lesquels le logiciel estime ses préférences climatiques puis modélise sa distribution potentielle dans l'aire d'introduction (Poidatz, 2011).

L'étude de l'efficacité de l'agent permet de confirmer son impact sur la population cible. Ne perdons pas de vue l'objectif de la LBC : abaisser la population invasive sous un seuil de nuisibilité acceptable (Figure 3). Dans le cas particulier des populations cibles végétales, il est judicieux de sélectionner autant que possible un arthropode phytophage s'attaquant aux parties sensibles de la plante cible (les racines dans le cas de reproduction végétative, les graines si la reproduction est davantage sexuée). La meilleure stratégie est de combiner plusieurs agents, ayant chacun sa spécificité d'attaque de la cible, pour combiner leurs impacts.

1.3 Contexte de l'étude : la lutte contre les dompte-venins

- *Vincetoxicum spp.* : *taxinomie, aire d'origine, biologie*

Taxinomie

Le Tableau 1 présente la classification des deux espèces ciblées par le programme de LBC auquel ce mémoire contribue : *Vincetoxicum nigrum* et *V. rossicum*. Leurs noms de famille et de genre ont évolué récemment : auparavant, elles entraient dans la famille des Asclepiaceae, rebaptisée Apocynaceae, et appartenaient au genre *Cynanchum* avant la création d'un genre propre.

Tableau 1 : taxinomie et nom vernaculaire des deux espèces cibles (Source : site internet Tela Botanica)

Ordre	Famille	Genre	Espèce	Nom commun
Gentianales	Apocynaceae	<i>Vincetoxicum</i>	<i>V. nigrum</i> (L.) Moench	Dompte-venin noir
			<i>V. rossicum</i> (Klopow) Barbar.	Dompte-venin de Russie

Origine

Sur son aire d'origine, ce genre est en grande majorité représenté par *Vincetoxicum hirundinaria*, qui traverse l'Europe de l'Espagne au Caucase (Figure 9). On trouve également cette espèce aux USA, mais elle ne pose pas de problèmes d'invasion. Au contraire, les populations de *V. nigrum* et *V. rossicum* sont plutôt discrètes en Europe, mais sont invasives en Amérique du Nord.

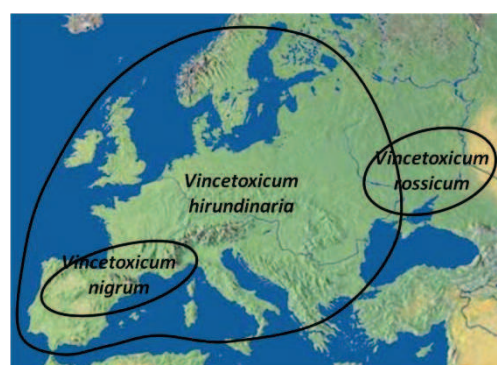


Figure 9 : aire de répartition des espèces du genre *Vincetoxicum* : *V. nigrum* et *V. rossicum*, invasives en Amérique du Nord, et *V. hirundinaria*, la plus commune en Eurasie.

Habitat

Dans leur région d'origine, on rencontre les dompte-venins sur sols sablonneux ou calcaires, en lisière de forêts, bords de route, haies, jachères, généralement à proximité d'un cours d'eau. En Amérique du Nord, les aires colonisées par *V. nigrum* et *V. rossicum* sont du même type, quoiqu'un peu plus variées : toute zone de transition écologique peut leur servir d'habitat.

Morphologie

Les dompte-venins sont des plantes vivaces herbacées. Leurs tiges ressemblant à des lianes peuvent s'enrouler et former des couverts très denses (Tewksbury & al., 2002) en utilisant les supports alentours pour pousser plus vite et plus haut sans dépenser d'énergie à synthétiser de la lignine. Les feuilles sont opposées, d'un vert très franc. Les fleurs apparaissent au printemps, sont groupées en inflorescences de dix fleurs maximum, placées sous les aisselles des feuilles. Elles sont petites, ont cinq pétales pointus en forme d'étoile, noirs pour *V. nigrum* et rouges pour *V. rossicum*. Après floraison, des gousses se forment. Leur système racinaire est très robuste et fourni. Il leur permet de survivre à des conditions hostiles plusieurs années avant de se développer en conditions propices (Leimu & Lehtilä, 2006). Voir l'Annexe IV pour davantage d'illustrations.

Ces plantes ont plusieurs stratégies de reproduction. Malgré leur système racinaire dense, la reproduction végétative n'est pas la plus courante : une étude montre l'importance de la dispersion éolienne des graines grâce à leur parachute de soie, ainsi que celle de la fertilisation par les insectes et l'autofécondation pour des patches isolés (St Denis & Cappuccino, 2004). Les dompte-venins forment également des graines *poly-embryonnaires* (Blanchard, 2010 ; DiTommaso, 2005) qui augmentent leurs facultés de colonisation. S'appuyant sur toutes ces stratégies, le potentiel reproductif des dompte-venins est très élevé (Smith, 2006).

La toxicité de ces espèces, liée à la présence de composants tels que la vincetoxine, un *glycoside cardiotonique* (Foräre, 1995), ainsi qu'à la forte concentration en alcaloïdes de leurs tissus (Foräre, 1995 ; Tewksbury & al., 2002 ; Sforza, 2009a), est probablement à l'origine de leur panel restreint de prédateurs. Cela contribue à leur invasion en Amérique du Nord, car peu d'insectes polyphages peuvent les consommer (Milbrath, 2010).

- *Aire d'invasion et dégâts causés*

Ce genre était absent en Amérique du Nord, jusqu'à son introduction au milieu du XIX^{ème} siècle, par le biais des jardins botaniques. Ils sont décrits pour la première fois en 1868 (Tewksbury & al., 2002). Depuis, *Vincetoxicum nigrum* et *V. rossicum* ont progressivement étendu leur aire d'invasion (Figure 10). Ces espèces ont acquis le statut de plante nuisible (« noxious weeds ») en Amérique du Nord depuis environ trente ans (Milbrath, 2010). Elles sont répertoriées dans la base de données de l'USDA (USDA Plant Database, 2012).

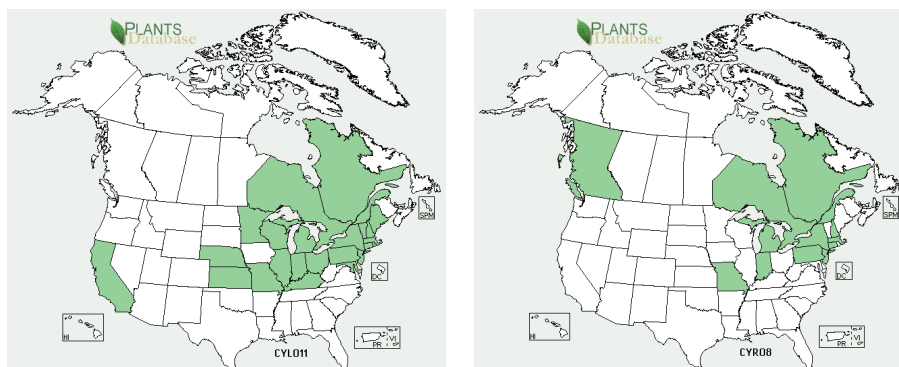


Figure 10 : aire d'invasion de *Vincetoxicum nigrum* et *V. rossicum* en Amérique du Nord.
Source : site internet de l'USDA Plant Database.

La principale cause à l'origine du programme de lutte est l'impact des populations invasives de dompte-venins sur le papillon monarque (*Danaus plexippus*, Lep. Nymphalidae), espèce protégée et emblématique (Figure 11). Ce lépidoptère, ainsi que huit autres insectes indigènes, a pour hôte naturel les espèces du genre *Asclepias* spp., et principalement *Asclepias syriaca* (Apocynaceae) (Tewksbury & al., 2002). Or, ce genre est fortement concurrencé par *V. nigrum* et *V. rossicum*. Par ailleurs, bien que la chenille du monarque soit incapable de se développer sur les dompte-venins, les femelles pondent préférentiellement sur ces espèces (Tewksbury & al., 2002), ce qui contribue à accélérer l'amenuisement des populations de ce papillon.



Figure 11 : monarque (*Danaus plexippus*) sur *Asclepias syriaca*, sa principale plante hôte, concurrencée par *Vincetoxicum* spp. ©R. Sforza.



Figure 12 : patch monospécifique de *Vincetoxicum* spp. dans l'état de New York (USA). ©R. Sforza.

Par ailleurs, les dompte-venins forment des patchs monospécifiques vastes et denses (Sheeley, 1996) (Figure 12), aussi bien en milieu ouvert (parcs, réserves naturelles) qu'en sous-bois ombragé. Cela cause des pertes de biodiversité végétale bien sûr, mais aussi animale, car ces plantes invasives n'abritent que peu d'espèces, et en nourrissent encore moins : en Europe, seulement une quinzaine de prédateurs régulent les populations de *Vincetoxicum* spp. (Ernst & al., 2005 ; Tewksbury & al., 2002).

A ces dégâts écologiques s'ajoutent désormais des dommages économiques : depuis peu, des cas d'invasion de zones agricoles (prés et cultures de soja, maïs) ont été constatés dans l'état de New York (Weston & al., 2005). Or, leur système racinaire leur confère une grande résistance aux méthodes classiques de lutte chimique et mécanique (Muola & al., 2010 ; Lawlor, 2002). Cela pose d'importants problèmes d'éradication.

Aux USA, aucun prédateur indigène n'est assez performant actuellement (Tewksbury & al., 2002 ; Sforza, 2009 ; Milbrath, 2010). Pour juguler l'invasion, il serait nécessaire de procéder à l'introduction d'un ou plusieurs agents de contrôle.

- *Programmes de lutte contre les dompte-venins*



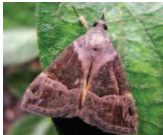



Un programme de LBC contre les plantes du genre *Vincetoxicum* a débuté en 2007, coordonné par Lindsay R. Milbrath, auquel contribue l'EBCL ainsi que ce mémoire. Simultanément, un autre programme était lancé contre les mêmes plantes, par d'autres équipes de recherche, coordonnées par le CABI (Delémont, Suisse). L'Annexe II présente l'historique de la LBC contre les dompte-venins, ainsi que les équipes de recherche travaillant sur le projet et les différents thèmes étudiés. L'Annexe I présente l'EBCL.

- *Entomofaune étudiée*

Le Tableau 2 présente la synthèse des agents de biocontrôle potentiels contre *Vincetoxicum* spp., ainsi que leurs avantages et inconvénients lorsqu'ils ont été étudiés.

Eumolpus asclepiadeus (Col. Chrysomelidae) n'ayant pas validé les tests de spécificité (Augé, 2010), c'est *Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae) qui est actuellement étudiée à l'EBCL.

Tableau 2 : entomofaune étudiée dans les différents projets de recherche en LBC contre les dompte-venins (*Vincetoxicum* spp.).

Ordre	Famille	Nom latin	Photos	Dommages	Spécificité	Potentiel d'acclimatation	Principales références
Lepidoptera	Noctuidae	<i>Abrostola asclepiadis</i>		Herbivorie foliaire	En cours de tests à l'EBCL	Très bon selon CLIMEX	Weed Poidatz, 2011 Sforza Augé, 2010
		<i>Abrostola clarissa</i>		Herbivorie foliaire	En cours de test à St Petersburg. Lâcher prévu d'ici deux ans	NC	Dolgovskaya, 2011
		<i>Hypena opulenta</i>		Herbivorie foliaire	En cours de tests par l'équipe du CABI	Ne correspond pas à l'aire d'invasion selon CLIMEX	Weed Poidatz, 2011
Coleoptera	Chrysomelidae	<i>Eumolpus asclepiadeus</i>		Herbivorie foliaire et racinaire	Insuffisante, attaque <i>Asclepias</i> spp.	Non étudié	Augé, 2010 Weed,
		<i>Chrysolina aurichalcea asclepiadis</i>		Herbivorie foliaire et racinaire	Insuffisante, attaque <i>Asclepias</i> spp. entre autre.	Non étudié	Weed & Casagrande, 2011
Diptera	Tephritidae	<i>Euphranta connexa</i>		Granivore		Non étudié	Solbreck, 2000

- *Abrostola asclepiadis* : *taxinomie, habitat, biologie*

Le Tableau 3 présente la taxinomie d'*Abrostola asclepiadis*.

Tableau 3 : taxinomie et nom vernaculaire de l'agent de biocontrôle potentiel, *Abrostola asclepiadis* (source : site internet Fauna Europaea).

Ordre	Famille	Sous-famille	Genre	Espèce	Nom commun
Lepidoptera	Noctuidae	Plusiinae	<i>Abrostola</i>	<i>Abrostola asclepiadis</i> (Denis & Schiffermüller)	Plusie de l'Asclepiade

Il est intéressant de noter que de nombreuses espèces de la sous-famille des Plusiinae sont des papillons migrants. *Abrostola asclepiadis* peut elle aussi parcourir de grandes distances au stade adulte (Foräre, 1995). C'est une caractéristique intéressante pour le rôle d'un agent de biocontrôle. Par ailleurs, cette famille regroupe également plusieurs espèces **oligophages** et causant d'importants dommages aux cultures : citons la noctuelle de l'artichaut (*Chrysodeixis chalcites*, Lep. Noctuidae), ravageur des artichauts, tomates et concombres. Ces deux caractéristiques de la famille des Noctuidae (capacité de migration et caractère oligophage voire ravageur) renforcent la nécessité de tests de spécificité poussés sur *A. asclepiadis* avant d'envisager son introduction en Amérique du Nord.

La noctuelle *A. asclepiadis* est présente dans toute l'Europe, de l'Espagne au Caucase, sauf en Grande Bretagne. Son aire de répartition se superpose à celle de sa plante hôte, *Vincetoxicum hirundinaria*. On la rencontre principalement dans les régions montagneuses, jusqu'à 2000m d'altitude (source : site internet Lepi'net). Tout comme le dompte-venin officinal, on la retrouve sur les milieux secs calcaires et/ou sablonneux : prairies et lisières de forêt, voire alpages rocailloux (Foräre, 1995 ; Leimu & Lehtilä, 2006). L'étude conduite en 2011 à l'EBCL a révélé, à l'aide du logiciel CLIMEX, qu'*Abrostola asclepiadis* présente un bon potentiel d'adaptation dans la zone nord-américaine envahie par les dompte-venins (Poidatz, 2011).

Papillon peu connu, l'étude de sa biologie est relativement récente :

Adulte

Les adultes volent de fin mai à mi-septembre, et l'on peut observer une à deux générations par saison selon les régions d'Europe (Foräre, 1995 ; Weed & al., 2010a). Récemment, trois générations ont été constatées en laboratoire (Poidatz, 2011). Les adultes sont capables de parcourir plusieurs dizaines de kilomètres pour se reproduire (Foräre, 1995). La dispersion est efficace et l'on n'observe pas d'effet distance sur les populations entre les patchs isolés de *V. hirundinaria* (Foräre & Solbreck, 1997).

Ponte

Les œufs sont déposés en grappes de un à dix par feuille, sur la face inférieure principalement, et les femelles pondent préférentiellement dans les zones ombragées (Foräre, 1995 ; Foräre & Engqvist, 1996). On peut les récolter de début juin à début juillet en France.

Chenille

Dans son milieu naturel, la chenille se développe en 5 à 6 semaines en comptant le stade chrysalide (Foräre, 1995 ; Leimu & al., 2005). En laboratoire, les stades larvaires s'étalent sur une moyenne de dix-huit jours (Poidatz, 2011). La durée des stades larvaires ainsi que la surface foliaire consommée pour le développement dépendraient de l'hôte, de la température (Foräre, 1995) et de la photopériode. Pour le moment, quatre **stades larvaires** ont été mis en évidence (Poidatz, 2011). Cependant, Foräre (1995) témoigne de l'existence de cinq stades larvaires, comme c'est le cas chez les autres papillons de la sous-famille des Plusiinae, notamment *A. clarissa* (Dolgovskaya & al., 2011).

Concernant son régime alimentaire, la larve défoliatrice d'*A. asclepiadis* est citée comme monophage sur *Vincetoxicum* spp. (Augé, 2010; Foräre, 1995; Leimu & Lehtilä, 2006 ; Poidatz, 2011 ; Weed & al., 2010a). D'un point de vue évolutif, cette exclusivité peut présenter plusieurs avantages : favoriser l'orientation des adultes pour la reproduction, conférer une certaine toxicité aux larves, abriter les larves dans un refuge pauvre en arthropodes phytophages et donc en prédateurs généralistes.

1.4 Problématique

La problématique à résoudre s'inscrit à la suite de l'étude de 2011 (Poidatz, 2011) :

La noctuelle *Abrostola asclepiadis* peut-elle être un agent de biocontrôle contre les dompte-venins invasifs en Amérique du Nord ?

On décompose cette problématique en deux objectifs principaux :

- Etudier sa biologie : combien de stades larvaires présente *Abrostola asclepiadis* ? Comment les distinguer ? Quelle est la durée de son développement larvaire ? Quelle est l'influence de la photopériode sur l'entrée en diapause ? Comment optimiser l'élevage en laboratoire ?
- Etudier sa spécificité : *Abrostola asclepiadis* est-elle strictement spécifique des dompte-venins ? Une série de tests de non-choix et tests de choix lui sera soumise.

La suite du mémoire présente l'ensemble des expérimentations et observations réalisées, divisées en deux grandes parties : on étudie en premier lieu la biologie et l'écologie de l'insecte, aussi bien par des relevés de terrain qu'au travers d'expérimentations réalisées en laboratoire ; on étudie ensuite la spécificité de la larve d'*Abrostola asclepiadis*. Chacune de ces deux parties comprend un matériel, une méthode, des résultats et une discussion. La quatrième partie s'ouvre sur une discussion globale permettant de prendre du recul sur l'ensemble du stage, et aborde les perspectives du programme de lutte auquel ce mémoire contribue.

2 BIOLOGIE ET ECOLOGIE D'ABROSTOLA ASCLEPIADIS

2.1 Questions de recherche, objectifs

Quelles sont les habitudes de ponte des femelles dans leur milieu naturel ? Comment suivre le développement de la chenille et reconnaître les différents stades larvaires ? La photopériode influence-t-elle le développement et l'entrée en diapause des larves ? Ces trois questions majeures cadrent les expérimentations présentées dans cette partie : des relevés de terrain et deux tests en laboratoire sont menés.

2.2 Relevés et observations de terrain

2.2.1 Matériel et méthodes

Trois sorties terrains d'une journée ont été nécessaires à la récoltes d'œufs d'*Abrostola asclepiadis* (Figure 13) : le 4 juin, le 14 juin et le 3 juillet 2012. Deux sites sont principalement prospectés : la vallée d'Agnielles dans les Hautes-Alpes (05), et les environs de Glandage, dans la Drôme (26). L'Annexe V présente la localisation de ces deux sites. L'altitude y est comprise entre 850m et 950m.

La prospection s'effectue sur les bords de chemin et de route, talus rocailloux calcaires, le plus souvent ombragés. La récolte nécessite l'observation méthodique des faces inférieures des feuilles de *Vincetoxicum hirundinaria*.

Sur le terrain, les feuilles de ponte sont conservées dans des tubes cartonnés aérés de 8x22cm. Au laboratoire, les feuilles de ponte sont placées sur du papier Wattman régulièrement pulvérisé d'eau, en boîte de Pétri, dans une pièce du laboratoire (T 25°C, J/N 16/8, HR 50%).

Certaines observations sont effectuées directement sur le terrain (position de la feuille de ponte sur la tige, zones de forte concentration de ponte, etc.). Le nombre d'œufs par feuille ainsi que le nombre d'œufs parasités sont relevés dès le retour au laboratoire. Les observations et photographies réalisées à la loupe binoculaire nécessitent une loupe de type Zeiss Stemi 2000-C, ainsi que l'appareil photographique Nikon Coolpix 4500, que l'on visse sur l'oculaire vertical.

Les données de parasitisme obtenues sont traitées à l'aide d'un test de χ^2 réalisé sur le logiciel R. Ce test statistique nous permettra de valider (p -value < 0,05) ou invalider (p -value \geq 0,05) l'hypothèse scientifique H1 selon laquelle les taux de parasitisme relevés sont liés au facteur « date de récolte ».



Figure 13 : œufs d'*Abrostola asclepiadis* sur la face inférieure d'une feuille de *Vincetoxicum hirundinaria*.

2.2.2 Résultats et observations

• Bilan des trois récoltes

Le Tableau 4 présente le bilan des trois récoltes. C'est le 04/06 que l'on obtient le plus de chenilles, et le plus grand nombre d'œufs par feuille. La récolte du 14/06, à priori fructueuse, présente le plus fort taux de parasitisme et de non-éclosion (mort dans l'œuf).

Tableau 4 : bilan des trois récoltes d'œufs d'*Abrostola asclepiadis*. NR=non relevé.

Date	04/06	14/06	03/07
Récoltés	108	140	22
Éclos	77	70	21
% Parasités	21%	41%	5%
%Non éclos	7%	9%	0%
Moy/feuille	4	NR	1,7
Max/feuille	11	7	5

• Habitudes de ponte

Les pontes précoces semblent se distinguer des pontes tardives, en termes de nombre moyen d'œufs par feuille et de nombre maximum d'œufs sur une même feuille (Tableau 4). En effet, le 04/06, nous avons relevé trois feuilles à plus de huit œufs par feuilles, et jusqu'à onze œufs sur une même feuille, contre un maximum de sept œufs par feuille le 14/06. Ces résultats indiquent que les femelles pondent plus d'œufs par feuille lors des premières pontes, puis les dispersent davantage. Par ailleurs, une tige n'accueille qu'une seule ponte, sauf exception (une tige a présenté deux pontes lors de la récolte du 14/06).

Bien que non quantifiées, les observations suivantes méritent également d'être relevées :

- la hauteur des feuilles de ponte sur la tige semble dépendre davantage de la maturité de la feuille que de sa position : en début de saison, les œufs sont déposés sur les feuilles basales, puis sur les feuilles du milieu de la tige en fin de saison (récolte du 03/07).
- les zones ombragées semblent privilégiées par les femelles d'*Abrostola asclepiadis*.
- mis à part au jeune stade L1, en conditions naturelles, les larves semblent se cacher la journée : seules 1 larve de stade L4 et 1 larve de stade L2 ont été récoltées, contre 22 jeunes L1, toutes récoltes confondues.

• Parasitisme

Le parasitisme n'est pas directement visible : d'aspect d'abord normal, l'œuf devient grisâtre, jusqu'à noircir complètement (Figure 14). Au moins deux insectes sont à l'origine des dégâts (Poidatz, 2011) : *Trichogramma* sp. (Hymenoptera, Trichogrammatidae) (espèce non identifiée) (Figure 15) et *Telenomus laeviceps* (Hymenoptera, Scelionidae) (Figure 16), parasitoïde polyphage d'œufs de lépidoptères. Ils émergent plusieurs jours après l'éclosion des chenilles non parasitées.

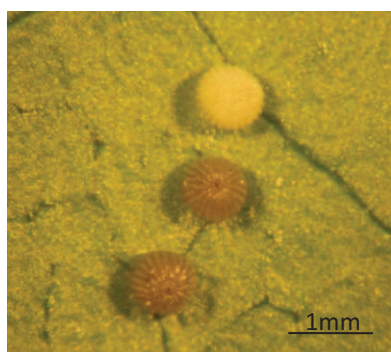


Figure 14 : deux œufs d'*Abrostola asclepiadis* parasités (noirs) à côté d'un œuf sain (blanc).



Figure 15 : parasitoïde *Trichogramma* sp. après émergence.



Figure 16 : parasitoïde *Telenomus laeviceps* après émergence.

Le taux de parasitisme est plutôt faible lors de la première récolte (21%), puis atteint 41% lors de la deuxième récolte (Tableau 4), et diminue de nouveau en troisième récolte (5%). Malgré le faible échantillonnage en troisième récolte, un Khi^2 permet d'obtenir une p-value de $6,641.10^{-5}$ (Figure 17). Ce résultat confirme l'hypothèse H1 selon laquelle le taux de parasitisme dépend de la date de récolte. Pour savoir si une récolte se distingue des deux autres, on applique le test du Khi^2 aux échantillons confrontés deux à deux. On obtient un tableau des p-values (Tableau 5). Ces résultats prouvent que la récolte du 14/06 (récolte 2) se distingue des deux autres récoltes par son fort taux de parasitisme. On peut donc affirmer qu'un pic de parasitisme a lieu en milieu de vol, correspondant à la deuxième moitié du mois de juin dans la Drôme.

```
> .Table # Counts
      récolte1 récolte2 récolte3
sains      85      82      21
parasités  23      58      1

> .Test <- chisq.test(.Table, correct=FALSE)

> .Test

      Pearson's Chi-squared test

data:  .Table
X-squared = 19.2392, df = 2, p-value = 6.641e-05
```

Figure 17 : résultat du test de Khi^2 réalisé sur R pour les trois récoltes.

Tableau 5 : p-values obtenues lors des tests de Khi^2 confrontant les récoltes deux à deux.

	récolte1/ récolte2	récolte2/ récolte3	récolte1/ récolte3
p-value	0.0008025	0.0008316	0.06493

2.2.3 Discussion, limites et perspectives

Pour obtenir des données véritablement fiables, il serait nécessaire de répéter plusieurs années ces relevés, aux mêmes dates et éventuellement en augmenter la fréquence, en suivant un protocole unique de notation. Certaines observations mentionnées mais non quantifiées mériteraient d'être approfondies : position des pontes (à l'échelle de la plante, du talus et de la vallée), activité des chenilles et des adultes à différents moments de la journée et/ou de la nuit, dispersion croissante des œufs. Il serait alors nécessaire de passer plus de temps sur le terrain.

Bien que moins fondamentales que l'étude de la spécificité de l'insecte, ces informations sont importantes dans le cas de la sélection définitive d'*Abrostola asclepiadis* comme agent de biocontrôle. En effet, l'étude de son comportement en milieu naturel permet d'anticiper sur son acclimatation, son efficacité et sa dispersion dans la zone de lâcher.

2.3 Etude menée au laboratoire

2.3.1 Matériel et méthodes

- *Préparation du matériel végétal*

La plante hôte d'*Abrostola asclepiadis*, *Vincetoxicum hirundinaria* (voir les illustrations en Annexe IV) est récoltée dans les Alpes, au col de Grimone (Drôme, commune de Glandage, altitude : 1318m, talus rocaillieux calcaire exposé sud-ouest) les 04/06/12 et 03/07/12. Les mottes récoltées sont divisées grossièrement puis mises en pots de 7L, placées à l'extérieur contre une façade exposée au nord pour limiter l'exposition directe au soleil.

- *Préparation du matériel animal*

Les œufs sont récoltés et entretenus comme décrit au paragraphe 2.2.1 p19.

- *Test 1 : mise en évidence des cinq stades larvaires et de leur durée*

Ce test commence par l'observation 24/24h d'un groupe de 11 œufs originaires d'une même ponte (i.e. sur la même feuille) récoltés le 04/06. On utilise une caméra du type Microsoft LifeCam HD-5000, reliée à un ordinateur Toshiba portable équipé de Windows 7 et du logiciel Microsoft LifeCam 3.5, ainsi qu'un éclairage Leica CLS 150X (Figure 18).

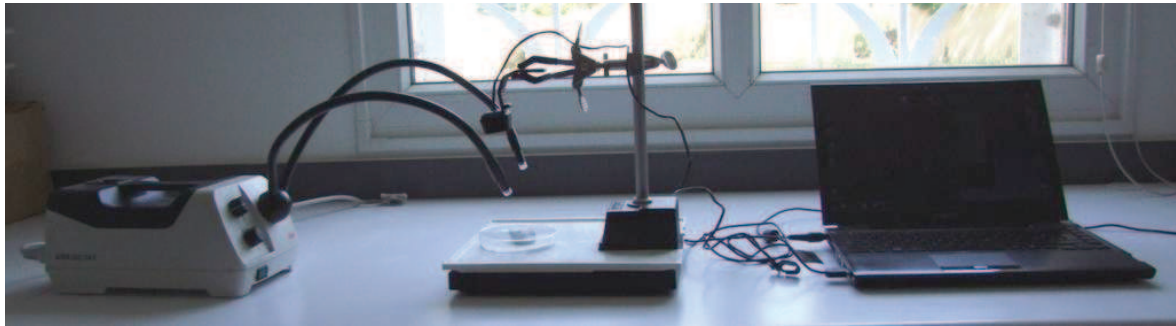


Figure 18 : matériel employé pour filmer en continu le développement larvaire.

L'expérience a lieu dans une pièce du laboratoire (T 25°C, J/N 16/8, HR 50%). Les larves L1 et L2 sont maintenues de la même manière que les œufs : dans une boîte de Pétri, sur papier Wattman régulièrement pulvérisé d'eau. Elles sont alimentées de feuilles fraîches de *Vincetoxicum hirsutum*, récoltées sur les plantes entreposées à l'extérieur. Au stade larvaire L3, elles sont réparties dans 11 boîtes de Pétri, toujours dans les mêmes conditions d'élevage. Seule une boîte est alors filmée. En fin de test, les larves de stade L5 prêtes à faire leur cocon sont placées dans une boîte aérée de 25x25x10cm, dont le fond est tapissé de terre végétale, de brindilles et de feuilles de *V. hirsutum*, pour leur permettre de réaliser leur nymphose en milieu propice (Figure 19).



Figure 19 : boîte servant à la mise en cocon et nymphose des chenilles d'*Abrostola asclepiadis*.

Les dates de changement de stade sont relevées. Suite aux mues, les capsules céphaliques sont récoltées et mesurées à l'aide d'une loupe binoculaire de type Leica MZ 7s, à objectif réticulé. La règle de l'objectif est positionnée comme présenté sur la Figure 20.

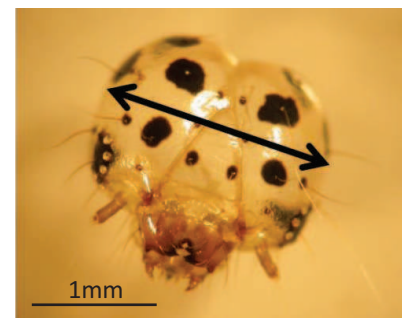


Figure 20 : capsule céphalique de larve d'*Abrostola asclepiadis* de stade larvaire L4 montrant la largeur mesurée en mm.

Pour augmenter la portée des moyennes obtenues, les mesures de capsules céphaliques et de durée de développement sont également relevées sur le plus grand nombre possible de larves élevées sur la plante hôte au cours de l'étude 2012.

Des tests statistiques de comparaison d'échantillons, de type ANOVA ou Kruskal-Wallis (selon que les données obtenues sont paramétriques ou non) sont réalisés sur le logiciel R pour valider (p -value < 0,05) ou non (p -value \geq 0,05) l'hypothèse scientifique H1 selon laquelle les conditions d'élevage ont un effet biologique sur la taille des capsules céphaliques et la durée du développement des larves d'*Abrostola asclepiadis*.

- *Test 2 : influence de la photopériode sur le développement larvaire et l'entrée en diapause*

Afin de simuler une période plus ou moins avancée dans la saison de vol, deux incubateurs de type LMS Cooled Incubator sont réglés aux paramètres suivants :

- Incubateur n°1 : T 25°C, J/N 16/8 ;
- Incubateur n°2 : T 25°C, J/N 14/10.

Les larves provenant de la récolte du 14/06 sont déposées dès l'éclosion (i.e. le 19/06) dans des tubes de plexiglas à capuchon aéré de 6x3cm, sur une feuille fraîche de *Vincetoxicum hirsutum*. On place une larve par tube, on réalise 14 répétitions. Les feuilles sont renouvelées tous les 1 à 3 jours. Le 22/06, les tubes aérés ont été remplacés par des tubes de la même dimension mais hermétiques, pour limiter le dessèchement des feuilles (HR relevée dans les incubateurs : 25%).

Les relevés ont lieu tous les 1 à 3 jours. On note la survie, la durée des stades larvaires, l'entrée en diapause hivernale et la surface foliaire consommée. Pour mesurer cette variable, la feuille est photographiée avant et après consommation, étalée entre deux plaques de plexiglas, la plaque inférieure servant d'étalon grâce à une feuille de papier millimétré collée au verso. Les photos obtenues sont traitées à l'aide du logiciel de calcul de surface GeoTool, suivant le tutoriel présenté en Annexe IX.

Des tests statistiques de comparaison d'échantillon, de type ANOVA ou Kruskal-Wallis (selon que les données obtenues sont paramétriques ou non) sont réalisés sur le logiciel R pour valider (p -value < 0,05) ou non (p -value \geq 0,05) l'hypothèse scientifique H1 selon laquelle la photopériode a un effet biologique sur ces variables.

2.3.2 Résultats et observations

- *Test 1 : mise en évidence des cinq stades larvaires et de leur durée*

Ce test prouve que la larve d'*Abrostola asclepiadis* traverse cinq stades larvaires. La largeur de la capsule céphalique suit une loi exponentielle au fil des mues (Figure 21). Le nombre de mesures réalisées pour la largeur des capsules céphaliques de chaque stade est présenté sous l'axe des abscisses de la Figure 21. Ce paramètre permet de distinguer nettement les stades larvaires, avec une faible variance comme en attestent les écarts types présentés sur la Figure 21.

Par ailleurs, au vu des faibles écarts types observés, on peut considérer que ce paramètre varie peu d'un individu à l'autre et d'un test à l'autre. On confirme ce résultat par un test statistique de Kruskal-Wallis appliqué aux capsules de stade larvaire L3 : le test montre qu'il n'y a pas d'effet significatif des conditions extérieures sur la taille des capsules céphaliques (Figure 22). En effet, la p -value de 0,2611 valide l'hypothèse H0 selon laquelle il n'y a pas d'effet « test » sur « taille des capsules ».

Les durées de développement relevées sont indiquées dans le Tableau 6. On constate qu'elles dépendent des conditions d'élevage et varient peu entre les individus provenant d'un même test. Le test statistique de Kruskal-Wallis appliqué aux données de durée totale de développement confirme l'effet « test » sur « durée de développement » (Figure 23).

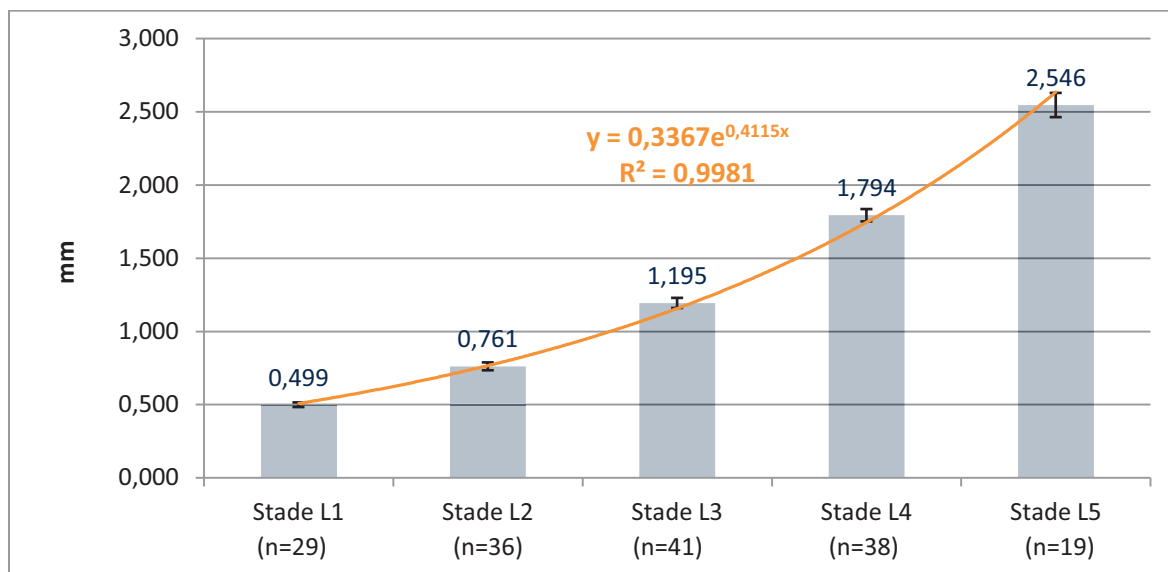


Figure 21 : moyenne des largeurs des capsules céphaliques pour les cinq stades larvaires d'*Abrostola asclepiadis*. Les écarts types sont représentés pour rendre compte de la faible variance de la variable.

```
> tapply(capsL3$CapsL3, capsL3$Test, median, na.rm=TRUE)
test1 test2 test4
  1.2   1.2   1.2

> kruskal.test(CapsL3 ~ Test, data=capsL3)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  CapsL3 by Test
Kruskal-Wallis chi-squared = 2.6857, df = 2, p-value = 0.2611
```

Figure 22 : résultat du test de Kruskal-Wallis réalisé sur R, appliqué aux capsules céphaliques de stade L3.

Tableau 6 : moyennes des durées des cinq stades larvaires pour trois tests menés en 2012. L'écart type est indiqué.

test n° (T, J/N, support, HR, n)	Durée du stade L1 (j)	Durée du stade L2 (j)	Durée du stade L3 (j)	Durée du stade L4 (j)	Durée du stade L5 (j)	Durée totale (j)
test 1 (25°C, 07/06, feuille, 50%, 11)	2,0 ±0,0	3,0 ±0,0	3,0 ±0,3	2,0 ±0,3	5,2 ±0,6	15,2
test 3 (22°C, 05/06, feuille, 50%, 5)	3,4 ±0,6	3,0 ±0,0	2,6 ±0,6	3,0 ±0,0	4,8 ±0,5	16,8
test 4 (22°C, 16/06, plante, 50%, 5)	4,0 ±0,0	1,7 ±0,6	3,3 ±0,6	3,0 ±0,0	6,0 ±1,0	18,0

```
> tapply(dév$durée.dév., dév$n..test, median, na.rm=TRUE)
test1 test4 test5
  15   17   18

> kruskal.test(durée.dév. ~ n..test, data=dév)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  durée.dév. by n..test
Kruskal-Wallis chi-squared = 13.3638, df = 2, p-value = 0.001253
```

Figure 23 : résultat du test de Kruskal-Wallis réalisé sur R, appliqué aux durées de développement.

On peut donc affirmer qu'un ou plusieurs de ces facteurs influencent la vitesse de développement larvaires : température, date d'éclosion (dont dépend directement la photopériode, aucun éclairage artificiel n'étant utilisé pour ces tests), et support d'élevage.

- *Test 2 : influence de la photopériode sur le développement larvaire et l'entrée en diapause*

Les mesures de surface foliaire consommée n'ont pu être effectuées que du 22/06 au 04/07, en raison de la dessiccation importante des feuilles dans les tubes aérés en début de test, et de l'importante mortalité en fin de test, comme le montre le Tableau 7. Pour les répétitions 1 à 5, on obtient les consommations foliaires suivantes (Figure 24).

Tableau 7 : mortalité observée au cours du test 2

	Echantillon de départ	Morts au stade L1	Morts au stade L2	Morts au stade L3	Morts au stade L4	Morts au stade L5	% total de morts
J/N 14/10	14	2	0	0	0	7	64%
J/N 16/8	14	2	0	0	0	10	86%

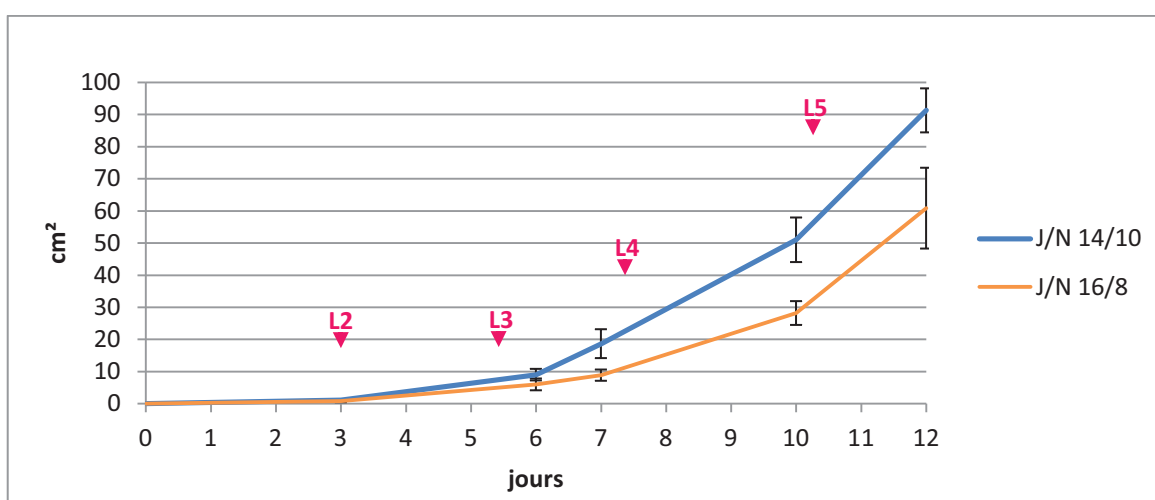


Figure 24 : moyenne des surfaces consommées cumulées du 22/06 (jour 0) au 04/07, pour les répétitions 1 à 5. Les écarts types sont représentés. Les changements de stade larvaire sont représentés.

Dans ces conditions de mortalité, l'exploitation des résultats ne permet pas de conclure quant à l'effet de la photopériode sur le développement et la consommation foliaire des larves d'*Abrostola asclepiadis*.

2.3.3 Discussion, limites et perspectives

- *Discussion et limites*

Les moyennes des largeurs de capsules céphaliques obtenues dans le test 1 permettent désormais d'identifier le stade larvaire de la chenille sans erreur possible. Pour la suite de l'étude, cela rendra plus fiables les relevés liés aux stades larvaires (durée des stades larvaires, stades larvaire atteint, etc.).

La durée de développement larvaire est un paramètre fortement influencé par les conditions extérieures (température, photopériode, alimentation, etc.). Il est donc particulièrement difficile de conclure sur une durée de développement de référence. On ne peut pas envisager de calculer les moyennes de durée de développement en regroupant des tests n'ayant pas eu lieu dans des conditions identiques.

Au cours du test 2, la mortalité est importante (Tableau 7). On considère que la mauvaise gestion de l'hygrométrie en est l'origine : en début de test, la dessiccation des feuilles ne permet pas une alimentation correcte des larves, retardant leur développement et provoquant la mort de quatre individus. En fin de test, le contraire se produit : en 24h, les tubes hermétiques saturant d'humidité, provoquant la mort de 17 larves. Ces problèmes d'hygrométrie a priori liés aux incubateurs ont empêché un relevé correct des données.

On considère tout de même que la méthode de mesure des surfaces foliaires à l'aide du logiciel GeoTool est validée sur les répétitions 1 à 5. L'erreur de manipulation, liée au traitement manuel de l'image, a été estimée par une succession de 10 mesures de la même surface. On obtient un écart type de $0,0675\text{cm}^2$. Les surfaces consommées ayant été arrondies à 10^{-1}cm^2 , l'erreur de manipulation est considérée comme négligeable.

Cependant, un inconvénient majeur limite l'utilisation de ce logiciel pour la suite de l'étude : le temps consacré au traitement manuel des photos. Un autre logiciel de mesures de surfaces semble davantage approprié pour ce type d'expérimentation. Il s'agit du logiciel gratuit ImageJ, utilisé à l'Université de Toronto par l'équipe de Sandy Smith (voir l'Annexe II). L'intérêt de ce logiciel est la rapidité d'analyse de l'image (par comparaison d'expérience, on considère que 10 images se traitent 6 à 7 fois plus vite sur ImageJ plutôt que sur GeoTool). De plus, en raison d'un traitement informatique et non manuel de l'image, il est probable que les mesures soient plus fiables avec ImageJ.

Cette méthode de mesure des surfaces foliaires consommées a cependant une limite difficile à contourner : la quantité foliaire consommée dépend de la surface mais également de l'épaisseur de la feuille utilisée. Or, ce paramètre est extrêmement difficile à contrôler et à mesurer. On pourrait envisager de mesurer le poids foliaire consommé, par une mesure ante- et post-consommation du poids de la feuille. Mais le dessèchement de la feuille serait une nouvelle source d'erreur à prendre en compte, l'évaporation provoquant une perte de poids probablement non négligeable.

- *Perspectives, tests à prévoir*

En s'appuyant sur la mesure des surfaces foliaires consommées, il serait particulièrement intéressant d'observer la surface foliaire totale nécessaire au développement larvaire d'*Abrostola asclepiadis* dans différentes conditions (photopériode, comme c'était l'objectif cette année, mais également température, plante hôte employée, etc.). Cela fournirait des indices sur l'efficacité de la larve d'*Abrostola asclepiadis* sur les espèces cibles du genre *Vincetoxicum* spp., mais également selon les conditions extérieures.

Pour ce type de test, tous les paramètres seraient contrôlés, permettant l'étude d'un seul facteur sur le développement et la surface foliaire consommée (facteur température pour un test, facteur espèce pour l'autre test). On utiliserait le logiciel de mesure des surfaces ImageJ, qui semble actuellement le moyen le plus adapté pour étudier la consommation foliaire.

3 SPECIFICITE D'ABROSTOLA ASCLEPIADIS

3.1 Questions de recherche, objectifs

La chenille d'*Abrostola asclepiadis* est-elle capable de se nourrir sur d'autres espèces que les dompte-venins ? On soumet la chenille à une situation de non-choix alimentaire, pour vérifier qu'elle n'est pas capable de se développer sur d'autres espèces végétales que celles ciblées par le programme de LBC.

3.2 Matériel et méthodes

- *Préparation du matériel végétal*

René Sforza et Lindsay R. Milbrath ont mis au point une liste d'espèces végétales, sélectionnées selon le schéma en cible (Figure 8). En 2012, 25 espèces sont envisagées pour les tests de spécificité (Tableau 8). Le genre *Asclepias*, déjà testé dans l'étude menée en 2011, est la priorité des tests de 2012. *Asclepias syriaca* est l'hôte principal du monarque.

Pour ces espèces non-cibles, la majorité des graines sont importées des USA, en provenance de jardinerie. Ainsi, c'est du matériel végétal exotique que l'on utilise. Ces graines sont accompagnées d'un certificat sanitaire (cf. Annexe X). Elles sont ensuite semées au sein du laboratoire, mélange terreau/terre végétale 50/50, dans une salle de culture dédiée au projet (T° 25°C, J/N 12/12, HR 50%), aux mois de janvier et février. Le taux de germination est inégal, il est donc nécessaire d'adapter les expérimentations à la disponibilité des végétaux.

Pour l'espèce témoin *Vincetoxicum hirundinaria*, douze tiges sont sélectionnées suite à la récolte des mottes au col de Grimone (cf. 2.2.1 p19), puis soigneusement rincées à l'eau claire (Figure 25). Elles sont ensuite ensachées pour entrer en quarantaine où elles sont réparties en pots de 7L, dans un mélange de terreau et de terre végétale (50/50). Pour des raisons sanitaires, après repotage, elles sont recouvertes d'un voile insect-proof. Ainsi, une première barrière protège l'intérieur de la serre d'une éventuelle présence de ravageurs tels que les thrips ou acariens, pas toujours éradiqués par le rinçage de la plante.



Figure 25 : pieds de *Vincetoxicum hirundinaria* après séparation de la motte et rinçage à l'eau claire.

- *Préparation du matériel animal*

Le matériel animal, i.e. les œufs d'*Abrostola asclepiadis*, est récolté et élevé dans les mêmes conditions que présentées en 2.3.1 (cf. p19).

- *Test 3 : non-choix en tube*

On utilise des tubes de plexiglas à capuchon aéré de 6x3cm (Figure 26). Les tubes sont distingués par un code espèce et un numéro de répétition.

Tableau 8 : liste des espèces végétales non-cibles envisagées par R. Sfoza et L.R. Milbrath dans les tests de spécificité d'*Abrostola asclepiadis*

Classe	Ordre	Famille	Genre espèce	Origine	Test de non-choix en tube	Test de non-choix en pot	
Magnoliopsida	Gentianales	Apocynaceae	<i>Asclepias syriaca</i>	USA	x	x	
			<i>tuberosa</i>	USA	x	x	
			<i>curassavica</i>	USA	x	x	
			<i>purpurascens</i>	USA	x	x	
			<i>physocarpa</i>				
			<i>Cynanchum laeve</i>	USA	x	x	
			<i>Funastrum cynanchoides</i>	USA	x	x	
			<i>Oxypetalum coeruleum</i>	USA	x	x	
			<i>Ceropegia woodii</i>				
			<i>Stapelia gigantea</i>				
		<i>Orbea variegata</i>					
		<i>Hoya carnosa</i>					
		<i>Periploca graeca</i>					
		<i>Nerium oleander</i>	France	x			
		<i>Pachypoduim lamerei</i>					
		<i>Apocynum cannabinum</i>	USA	x	x		
		<i>Vinca minor</i>	France	x			
		<i>Plumeria rubra</i>	USA	x			
		<i>Carissa macrocarpa</i>	France	x			
			Gentianaceae	<i>Centaurium erythraea</i>	France	x	
				<i>Gentiana andrewsii</i>			
			Rubiaceae	<i>Coffea arabica</i>			
				<i>Galium mollugo</i>	USA	x	
		<i>Rubia tinctoria</i>	France	x			
	Lamiales	Scrophulariaceae	<i>Buddleja davidii</i>	France	x		

N.B. : La liste est dans l'ordre de proximité phylogénétique décroissante vis-à-vis des espèces cibles *Vincetoxicum nigrum* et *Vincetoxicum rossicum* (Apocynaceae). Les espèces en caractère gris n'ont pas pu être testées.

On place une feuille et une chenille par tube. L'expérimentation a lieu en serre de quarantaine (T° 22°C, J/N 16/8, HR 50%), en raison de l'emploi de matériel végétal en provenance des USA. Cinq répétitions sont mises en place pour les 16 espèces testées (Tableau 8), soit 85 chenilles. Le témoin est la plante hôte : *Vincetoxicum hirundinaria*.

Dès l'éclosion, on place la chenille sur une feuille fraîche. Pour qu'elle soit toujours appétente, la feuille est renouvelée toutes les 24h à 72h selon l'espèce végétale. Les relevés sont effectués chaque jour à 09:00 dès le lancement du test : mort/vie de la chenille, stade larvaire, présence ou absence de perforation(s). Les données observées ainsi que leur date sont annotées sur le tube.



Figure 26 : deux tubes contenant une chenille d'*Abrostola asclepiadis* et une feuille d'*Asclepias curassavica*.

Le nombre de répétitions étant très faible, on s'oriente vers un test statistique non paramétrique : le test de Kruskal-Wallis. L'objectif est de valider (p -value < 0,05) ou invalider (p -value \geq 0,05) l'hypothèse scientifique H1 selon laquelle les moyennes de « durée de vie » obtenues sont liées au facteur « espèce ».

- *Test 4 : non-choix en pot*

La plante est en pot de 7L, un voile insect-proof soutenu par des arceaux d'acier empêche toute entrée/sortie d'insecte (Figure 27). L'expérimentation a lieu en quarantaine (T° 22°C, J/N 16/8, HR 50%), en raison de l'emploi de matériel végétal en provenance des USA. Cinq répétitions sont mises en place sur les 8 espèces testées (Tableau 8), soit 45 chenilles. Le témoin est la plante hôte : *Vincetoxicum hirundinaria*.

Dès l'éclosion, on dépose une chenille par plante, sur une feuille du milieu de la tige. Initialement, des relevés sont prévus tous les deux jours à partir du troisième jour. Mais la discrétion des chenilles rend impossible un suivi régulier, et on ne peut pas non plus retrouver le cadavre sur le sol. La méthode a donc été adaptée : une inspection minutieuse des plantes est effectuée à J10. Seul le témoin est suivi tous les deux jours, pour relever les changements de stade larvaire. A J10, les chenilles sont au stade L4 sur témoin, donc bien visibles.



Figure 27 : pot de 7L surmonté d'un voile insect-proof soutenu par des arceaux d'acier, en serre de quarantaine.

En l'absence de données quantitatives du type « durée de vie », le traitement statistique des données sera réalisé à l'aide d'un test d'indépendance du Khi². Ce test statistique nous permettra de valider (p -value > 0,05) ou invalider (p -value \geq 0,05) l'hypothèse scientifique H1 selon laquelle les deux variables qualitatives « espèce » et « survie » (relevée à J10) sont dépendantes.

3.3 Résultats et observations

- Test 3 : non-choix en tube

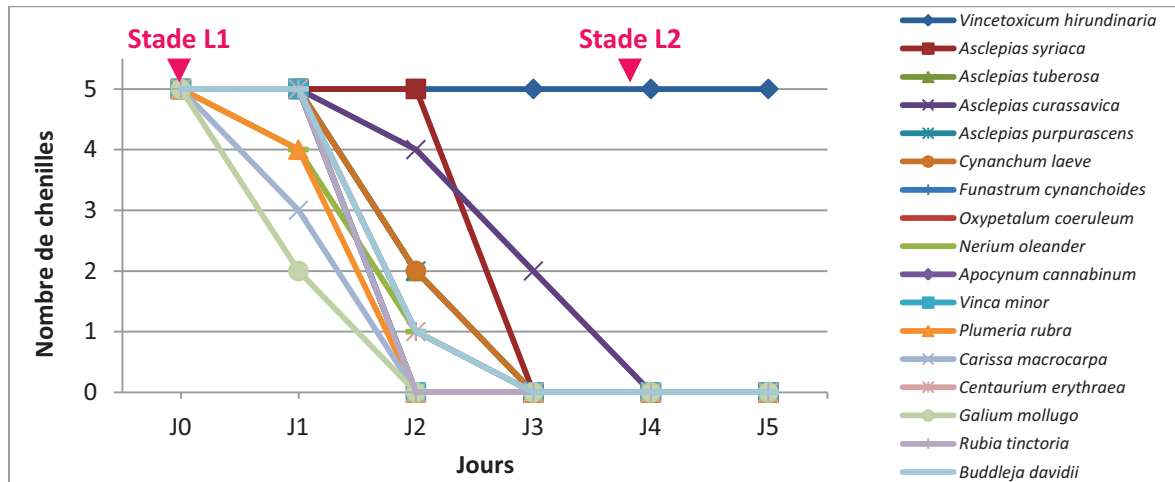


Figure 28 : évolution du nombre de chenilles au cours du temps (jours) jusqu'au jour 5, pour les 17 espèces végétales non cibles et le témoin *Vincetoxicum hirundinaria*.

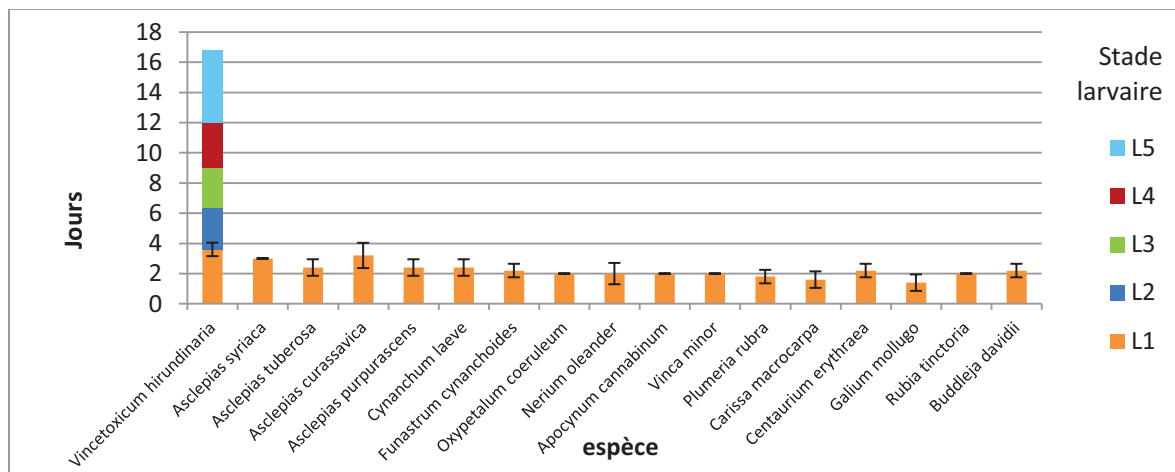


Figure 29 : durée de vie moyenne (5 répétitions) et stades larvaires atteints. Les écarts types de la durée du stade larvaire L1 sont représentés.

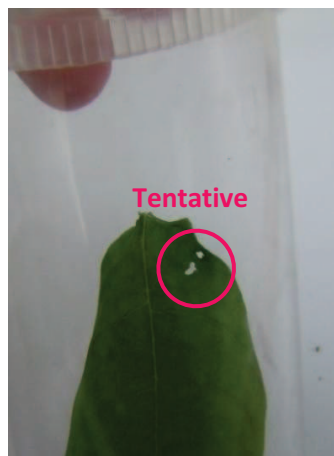


Figure 30 : feuille d'*Asclepias syriaca* attaquée. Perforations d'1mm².

```
> tapply(NCt$Jours, NCt$Group, median, na.rm=TRUE)
Ac Aca Ap As At Bd Ce Cl Cm Fc Gm No Oc Pr Rt Vh Vm
 3  2  2  3  2  2  2  2  2  2  1  2  2  2  2 17  2

> kruskal.test(Jours ~ Group, data=NCt)

Kruskal-Wallis rank sum test

data:  Jours by Group
Kruskal-Wallis chi-squared = 52.4755, df = 16, p-value = 9.177e-06
```

Figure 31 : résultat du test de Kruskal-Wallis réalisé à l'aide du logiciel R.

Sur les autres espèces que le témoin, aucune larve ne survit plus de quatre jours (Figure 28), et aucune ne dépasse le stade L1. Chez le témoin, les cinq larves atteignent la nymphose (Figure 29), tandis qu'aucune ne dépasse le stade L1 sur les espèces non-cibles.

Cependant, dans deux tubes d'*Asclepias syriaca*, on observe une tentative de prise de nourriture, se traduisant par deux perforations d'environ 1mm² sur chaque feuille (Figure 30). Mais ces prises de nourriture n'ont pas permis à la chenille de survivre plus de trois jours (Figure 28 et Figure 29). Notons que ces espèces sont taxinomiquement les plus proches de la cible, mais aussi les plus sensibles : le genre *Asclepias* regroupe les hôtes du monarque, en particulier *Asclepias syriaca*.

Le test de Kruskal-Wallis réalisé à l'aide du logiciel R prouve l'effet biologique significatif de la variable « espèce » sur « durée de vie » avec une p-value de $9,177.10^{-6}$ (Figure 31). Cela confirme l'hypothèse scientifique H1 selon laquelle l'espèce influe sur la durée de vie. Ce test statistique, complété par la Figure 29, permet de conclure que la durée de vie sur témoin se distingue significativement des durées de vie sur les espèces non-cibles.

- *Test 4 : non-choix en pot*

Aucune chenille n'accomplit son développement sur une autre espèce que l'hôte (Tableau 9). Deux espèces ont subi une tentative de prise de nourriture: *Asclepias syriaca* (une répétition concernée) et *A. purpurascens* (deux répétitions concernées). Les perforations mesurent 1 à 2 mm² et sont caractéristiques (Figure 32) : situées entre les nervures, bordure franche cicatrisée (cicatrisation due à l'observation tardive à J10). L'expérience se termine à J18 (formation des cocons sur témoin).

Tableau 9 : résultats du test de non-choix en pot.

Espèce végétale	Tentative	Survie J10	Survie J18
<i>Vincetoxicum hirundinaria</i>	-	5	5
<i>Asclepias syriaca</i>	Oui (x1)	0	-
<i>Asclepias curassavica</i>	Non	0	-
<i>Asclepias purpurascens</i>	Oui (x2)	0	-
<i>Asclepias tuberosa</i>	Non	0	-
<i>Cynanchum laeve</i>	Non	0	-
<i>Oxypetalum coeruleum</i>	Non	0	-
<i>Apocynum cannabinum</i>	Non	0	-

Le test statistique d'indépendance du χ^2 appliqué à ces résultats (Figure 33) confirme la dépendance entre la variable « survie » des cinq chenilles et la variable « espèce », la p-value étant de $1,259.10^{-6}$.

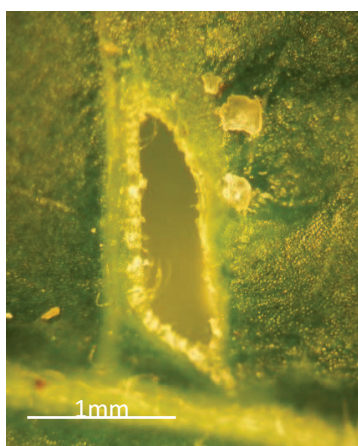


Figure 32 : perforation foliaire sur *Asclepias syriaca*, observée à la loupe binoculaire.

```
> .Table # Counts
      Vh As At Ac Ap Cl Ox Apo
Vie   5  0  0  0  0  0  0  0
Mort  0  5  5  5  5  5  5  5

> .Test <- chisq.test(.Table, correct=FALSE)

> .Test

      Pearson's Chi-squared test

data:  .Table
X-squared = 40, df = 7, p-value = 1.259e-06
```

Figure 33 : résultat du test du χ^2 réalisé sur R pour le test de non-choix en pot (test 4).

3.4 Discussion, limites et perspectives

- *Discussion et limites*

Les résultats de ces deux tests de spécificité confirment le statut d'agent potentiel de biocontrôle de la noctuelle *Abrostola asclepiadis*. Les conditions sont optimales : aucune mortalité sur les répétitions témoins, aucune survie sur les plantes non-cibles. Les résultats des tests statistiques prouvent la portée de ces résultats.

L'expérimentation de non-choix en tube (test 3) valide l'intérêt des tubes aérés, comparé à l'usage de boîtes de Pétri comme support matériel. En effet, lors de l'étude menée en 2011, la survie sur témoin en boîte de Pétri est de 60% (Poidatz, 2011), contre 100% cette année en tube aéré.

Par contre, on déplore pour ce test l'absence de témoins négatifs (larve déposée dans un tube vide). Cela aurait permis de savoir si la durée de vie sans support végétal est comparable ou non à la durée de vie sur les espèces non-cibles.

L'intérêt du test de non-choix en pot (test 4), réalisé à la suite du test de non-choix en tube, et de multiplier les répétitions tout en se rapprochant des conditions naturelles par le fait que l'insecte est en contact avec la plante entière. Cependant, il aurait été intéressant de pouvoir relever les durées de vie des larves. L'usage de manchons tubulaires fermés aux extrémités, comprenant une portion de tige de deux à trois feuilles, aurait probablement permis un suivi régulier des larves.

Par ailleurs, davantage de matériel animal et végétal aurait permis de réaliser le test de non-choix en pot sur l'ensemble des espèces non-cibles de la liste, pour être exhaustif et ainsi augmenter la portée de ce test.

On considère que ces tests permettent de conclure sur l'incapacité des larves d'*Abrostola asclepiadis* à se développer sur d'autres espèces que celles du genre *Vincetoxicum*. En revanche, ils n'apportent aucune information quant au comportement de ce lépidoptère en situation de choix, pourtant plus proche des conditions naturelles que rencontrera l'insecte en cas d'introduction en Amérique du Nord.

- *Perspectives, tests à prévoir*

Des tests de choix sont donc prévus pour poursuivre l'étude de la spécificité d'*Abrostola asclepiadis*. L'absence de deuxième génération au laboratoire n'a pas permis de les réaliser cette année, bien que le matériel ait été préparé. Voici le protocole envisagé, en quelques lignes :

Test de Choix

Un test de choix, pour étudier le comportement de la chenille en situation de choix alimentaire. Les plantes en pot de 7L sont placées par 9 dans des cages de 120x120x80cm. Une planche à 9 trous permet de rehausser le sol de la cage au niveau des rebords des pots pour faciliter les mouvements des chenilles entre les plantes. Le placement des 9 pots est aléatoire (tirage sans remise). Les espèces à tester sont choisies selon les résultats des tests de non-choix en tube et en pot : la cage n°1 contient 3 *Vincetoxicum nigrum*, 3 *Vincetoxicum rossicum*, 3 *Asclepias syriaca* (attaquée en test de non-choix en tube et test de non-choix en pot). La cage n°2 contient 3 *Vincetoxicum nigrum*, 3 *Vincetoxicum rossicum*, 3 *Asclepias curassavica* (présentant la plus forte moyenne de durée de vie des chenilles en test de non-choix

en tube). La cage n°3 contient 3 *Vincetoxicum nigrum*, 3 *Vincetoxicum rossicum*, 3 *Asclepias purpurascens* (attaquée lors du test de non-choix en pot).

Une chenille de stade L1 est placée sur chaque plante, le jour de son éclosion. La survie, le stade larvaire et la position des chenilles sont relevés tous les deux jours.

Un test d'oviposition, pour observer les préférences de ponte des femelles d'*Abrostola asclepiadis*, et le développement des larves sur les espèces de ponte. On utilise trois exemplaires des cinq espèces ayant présenté la plus forte moyenne de durée de vie au test de non-choix en tube (i.e. les quatre espèces d'*Asclepias* et *Cynanchum laeve*), ainsi que trois exemplaires de *Vincetoxicum nigrum* et *V. rossicum*. Les 21 plantes sont réparties aléatoirement (tirage sans remise) dans une jardinière Ø90cm, en extérieur, protégée par un voile insect-proof.

Cinq couples d'adultes d'*Abrostola asclepiadis* sont lâchés. La position et le nombre d'œufs sont relevés. Les œufs sont laissés en place, et on observe l'évolution des populations larvaires et végétales.

Si elles sont réalisées en 2013, ces expérimentations permettront d'observer le développement larvaire en conditions plus proches des conditions naturelles (multiplicité des espèces végétales disponibles, plantes entières, mouvements et déplacements possibles, conditions extérieures pour le test d'oviposition).

4 CONCLUSION, PERSPECTIVES

L'étude menée en 2012 corrobore et complète les données de biologie et de spécificité d'*Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae) récoltées lors des études précédentes. On peut désormais établir un bilan des compétences de ce papillon en tant qu'agent potentiel de biocontrôle.

- *Principal critère : la spécificité*

La spécificité alimentaire de la larve d'*Abrostola asclepiadis* est validée pour les tests effectués au laboratoire, puisque aucune des 16 espèces non cibles testées n'a permis à la larve de dépasser le premier stade larvaire. Ce résultat confirme et complète les études précédentes (Poidatz, 2011 ; Augé, 2010), lors desquelles la larve d'*A. asclepiadis*, confrontée à 6 espèces non cibles, a montré un comportement monophage sur *Vincetoxicum* spp..

Cependant, l'étude de ce critère nécessite de plus amples investigations. En premier lieu, il est nécessaire d'approfondir l'étude des préférences d'oviposition des femelles. Ce type de test, réalisé en 2011, montrait des résultats encourageants (nette préférence d'oviposition sur les dompte-venins) (Poidatz, 2011). Prévu en 2012 mais non réalisé, il est néanmoins important de réitérer l'expérience pour valider la spécificité de l'insecte. En effet, des pontes répétées sur d'autres espèces que la cible peuvent favoriser une dérive de l'agent de biocontrôle, car les larves sont alors soumises à un régime forcé.

Par ailleurs, il est de plus en plus admis que les résultats de spécificité en laboratoire ne sont pas toujours validés dans le milieu d'introduction. Rappelons comme exemple le cas de *Rhinocyllus conicus*, agent de biocontrôle lâché en 1968 contre les chardons invasifs en Amérique du Nord, qui ont dérivé rapidement sur des chardons endémiques et désormais menacés. Adaptation évolutive des populations lâchées ? Arnet et Louda (2002) montrent qu'il n'en est rien : ces mêmes populations, en laboratoire, confirment à nouveau les résultats obtenus avant lâcher. Comment prédire la dérive alimentaire de *R. conicus* et des autres agents de biocontrôle ? Il est nécessaire d'aller plus loin dans l'étude du comportement de l'insecte candidat : les expériences de spécificité menées en laboratoire doivent être validées par des expériences menées dans les conditions naturelles, en plein champ.

Dans ce but, on pourrait envisager de reproduire en extérieur une population végétale nord américaine contenant les deux espèces invasives (*Vincetoxicum nigrum* et *V. rossicum*), ainsi que les espèces d'*Asclepias* les plus sensibles (par exemple, *A. syriaca*, *A. purpurascens*, *A. curassavica*, *A. tuberosa*) réparties par patches, sur une surface totale d'au moins 5m², que l'on confronterait sur plusieurs années à des générations successives d'*Abrostola asclepiadis*. La limite majeure à ce type de test est le climat, qui doit permettre la réalisation du cycle complet de l'agent potentiel étudié. Dans l'idéal, ce test serait réalisé dans l'aire d'invasion. Ainsi, l'observation de la population végétale et de celle de l'insecte (qui nécessiterait éventuellement quelques purges pour simuler une prédation et maintenir la population sous un seuil réaliste) apporterait des informations de spécificité, mais également d'efficacité et d'adaptabilité de l'agent potentiel de biocontrôle étudié. Ce type d'expérimentation en conditions semi-naturelles est de plus en plus souvent envisagé par les chercheurs en lutte biologique comme complément aux tests de spécificité en laboratoire (Van Klinken, 2000).

- *Adaptabilité*

La principale étude concernant ce critère a été réalisée l'année dernière à l'EBCL, à l'aide du logiciel CLIMEX. Les résultats de confrontation de climats (climat de la zone de lâcher, climat de la

zone d'origine de l'insecte) ont montré des résultats encourageants (Poidatz, 2011). Cependant, ces données informatiques doivent être complétées.

Cette année, les tests menés n'ont pas permis de récolter d'informations sur ce sujet. Si le test d'oviposition prévu avait été réalisé, il aurait apporté des indications supplémentaires sur l'adaptabilité de l'agent. En effet, une préférence de ponte marquée pour les espèces cibles en situation de choix présentant des plantes nord-américaines indiquerait que les femelles, lâchées dans l'aire d'invasion, seraient aptes à disperser leur progéniture sur les espèces permettant leur développement. Ce qui constitue un signe d'adaptabilité. Au contraire, si la femelle ne présentait pas de préférence de ponte, cela compromettrait l'établissement et l'adaptation de l'agent.

Cependant, en l'absence d'une étude comportementale en plein champ dans l'aire d'invasion, il est difficile de valider définitivement ce critère. Les facteurs qui entrent en jeu sont trop nombreux : climat annuel permettant ou non la réalisation d'un cycle complet (de l'œuf à l'adulte), présence de prédateurs généralistes, tous les facteurs biotiques et abiotiques formant l'écosystème dans lequel on relâche l'agent peuvent affecter son adaptation. Dans la plupart des cas de lâcher d'un agent de biocontrôle, les observations permettant d'étudier son adaptation sont effectuées après les premiers lâchers, par un suivi annuel permettant de décrire l'évolution et la dispersion de la population introduite depuis le point de lâcher.

- *Efficacité*

L'étude de la surface foliaire consommée lors du développement des larves dans l'expérience à l'incubateur démontre l'importance des dégâts que peut causer cet insecte. Par ailleurs, l'expérience de non-choix en pot (test 4) montre qu'une seule larve vient à bout d'un pied de *Vincetoxicum hirundinaria* en une vingtaine de jours, sans que la plante n'ait le temps de produire de graines. Cependant, ces plantes ont un système racinaire très vigoureux qui leur confère une résistance leur permettant de refaire des feuilles rapidement après une défoliation totale. Cette observation personnelle est corroborée par les travaux de Doubleday & al. (2011).

- *Biologie du développement*

En plus de compléter l'étude de ces trois critères fondamentaux, les expérimentations menées cette année ont permis d'acquérir des données de biologie concernant le développement d'*Abrostola asclepiadis*. Ainsi, les cinq stades larvaires ont été décrits, en particulier grâce à la mesure des capsules céphaliques, permettant une identification fiable de chaque stade larvaire. Leur durée a également pu être mesurée en laboratoire, démontrant l'influence des facteurs extérieurs sur ce paramètre. Ces informations sont importantes pour la poursuite de l'étude et l'élevage éventuel de cet insecte.

- *Bilan et perspectives*

Le bilan de l'étude 2012 est encourageant pour le programme de lutte biologique contre les plantes du genre *Vincetoxicum* spp..

***Abrostola asclepiadis* reste en lice pour le statut d'agent de biocontrôle contre les dompte-venins.**

Cependant, l'absence de deuxième génération a court-circuité l'étude, et quatre tests initialement prévus et préparés ont été annulés, faute de matériel animal. Ils seront à l'étude en 2013. Actuellement, *Abrostola clarissa* (étudiée par l'équipe de l'Institut Zoologique de St Petersburg) est le premier agent de biocontrôle sur la liste des futurs lâchers.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Augé, M. (2010).** Spécificité et bio-écologie de *Chrysochus asclepiadeus* (Col., Chrysomelidae) et *Abrostola asclepiadis* (Lep., Noctuidae), agents potentiels pour la lutte biologique contre les *Vincetoxicum* spp. (Apocynaceae) invasifs en Amérique du Nord. Mémoire M2, IME –SET Marseille, 56p.
- Blanchard, M.L., J.N. Barney, K.M. Averill, C.L. Mohler, A. DiTommaso (2010).** Does polyembryony confer a competitive advantage to the invasive perennial vine *Vincetoxicum rossicum* (Apocynaceae)? *American Journal of Botany* 97(2):251-260.
- Briese, D.T. (2000).** Classical Biological Control. In *Australian weed management system 2000*. B.M. Sindel. 161-186
- Delabays, N., G. Mermillod (2002).** Phénomènes d'allélopathie: premières observations au champ. *Revue suisse d'agriculture* 34(5):231-237.
- Dolgovskaya M., M. Volkovitsh, S. Reznik, V. Zaitzev, R. Sforza, L.R. Milbrath, J. Biazzo (2011).** *Abrostola clarissa* (Lepidoptera, Noctuidae), a new potential biocontrol agent for invasive swallow-worts, *Vincetoxicum rossicum* and *V. Nigrum*. USDA-ARS.
- Doubleday L.A.D., N. Cappuccino (2011).** Simulated herbivory reduces seed production in *Vincetoxicum rossicum*. *Botanic* 89:235-242.
- Ernst, C. M, N. Cappuccino (2005).** The effect of an invasive alien vine, *Vincetoxicum rossicum* (Asclepiadaceae), on arthropod populations in Ontario old fields. *Biological Invasion* 7:417-425
- Förare, J. (1995).** The biology of the noctuid moth *Abrostola asclepiadis* Schiff. (Lepidoptera, Noctuidae) in Sweden. *Entomologisk Tidskrift* 116:179-186.
- Förare, J., L. Engqvist (1996).** Suboptimal patch and plant choice by ovipositing monophagous moth - an insurance against bad weather? *Oikos* 77:301-308.
- Förare, J., C. Solbreck (1997).** Population structure of a monophagous moth in a patchy landscape. *Ecological Entomology* 22(3):256-263.
- Gallet, C., F. Pellissier (2002).** Interactions allélopathiques en milieu forestier. *Revue Forestière Française* 54(6):567-576.
- Goudard, A. (2007).** Fonctionnement des écosystèmes et invasions biologiques : importance de la biodiversité et des interactions interspécifiques. Thèse, Université Pierre et Marie Curie, Paris, 216p.
- Hopper, K.R. (2001).** Research needs concerning non-target impacts of biological control introductions, p39-56. In *Evaluating Indirect Ecological Effects of Biological Control*. E. Wajnberg, J. K. Scott, P. C. Quimby. CAB International, 261p.
- Lawlor, F. M. and D. J. Raynal (2002).** Response of swallow-wort to herbicides. *Weed Science* 50:179-185.
- Leimu, R., M. Riipi, D. Stærk (2005).** Food preference and performance of the larvae of a specialist herbivore: variation among and within host-plant populations. *Acta Oecologica* 28(3):325 - 330.
- Leimu, R., K. Lehtilä (2006).** Effects of two types of herbivores on the population dynamics of a perennial herb. *Basic and Applied Ecology* 7(3):224-235.
- Lonsdale, W.M., D.T. Briese, J.M. Cullen (2001).** Risk Analysis and Weed Biological Control, p185-210. In *Evaluating Indirect Ecological Effects of Biological Control*. E.

Wajnberg, J. K. Scott, P. C. Quimby. CABI Publishing, 261p.

Louda, S.M., D. Kendall, J. Connor, D.

Simberloff (1997). Ecological effects of an insect introduced for biological control of weeds. *Science* 277:1088-1090.

Milbrath, L.R. (2010). Phytophagous Arthropods of Invasive Swallow-Wort Vines (*Vincetoxicum* spp.) in New York. *Environmental Entomology* 39(1):68-78.

Mooney, H.A., R.J. Hobbs (2000). Invasive species in a changing world. Island Press, 461p.

Müller, S. (2004). Plantes invasives en France: état des connaissances et propositions d'actions. In *Collection Patrimoines Naturels n°62*. MNHN, 174p.

Muola, A., P. Mutikainen, L. Laukkanen, M. Lilley, R. Leimu (2010). Genetic variation in herbivore resistance and tolerance: the role of plant life-history stage and type of damage. *Journal of Evolutionary Biology* 23:2185-2196.

Parker, I.M., D. Simberloff, W.M. Lonsdale, K. Goodell, M. Wonham, P.M. Kareiva, M.H. Williamson, B. Von Holle, P.B. Moyle, J.E. Byers, L. Goldwasser, L. (1999). Impact : toward a framework for understanding the ecological effects of invaders. *Biological Invasions* 1:3-19.

Pimentel, D., L. Lach, R. Zuniga, D. Morrison (2000). Environmental and economic costs of non-indigenous species in the United States. *BioScience* 50(1):53-65.

Pimentel, D., R. Zuniga, D. Morrison (2005). Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecological Economics* 52:273-288.

Poidatz, J. (2011). La noctuelle *Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae) pourrait-elle être

un agent de biocontrôle contre les domptes venins invasifs (Apocynaceae) en Amérique du Nord? Mémoire M2, ENITAB, Bordeaux. 45p.

Sforza, R. (2009a). Utilisation d'Organismes Phytophages, 125-145. In *La lutte biologique - Application aux arthropodes ravageurs et aux adventices*. B. Pintureau. Eds Ellipse, 189p.

Sforza, R. (2009b). Survey in Eurasia for collection of germplasm, natural enemies, and selection of agents for the biological control of swallow worts (*Vincetoxicum* spp.) in North America, 38p.

Sheeley, S.E., D.J. Raynal (1996). The distribution and status of species of *Vincetoxicum* in eastern North America. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 123(2):148-156.

Simberloff, D. and P. Stiling (1996). How risky is biological control? *Ecology* 77(7):1965-1974.

Smith, L., M. Cristofaro, E. de Lillo, R. Monfreda, A. Paolini (2006). Growth and reproductive potential of the invasive exotic vine *Vincetoxicum rossicum* in northern New York State. *Canada Journal of Botany* 83:1771-1780.

Solbreck, C. (2000). Ecology and biology of *Euphranta connexa* (Fabr.) (Diptera: Tephritidae) - a seed predator on *Vincetoxicum hirundinaria* Med. (Asclepiadaceae). *Entomologisk Tidskrift* 121(1):23-30.

St Denis, M., N. Cappuccino (2004). Reproductive biology of *Vincetoxicum rossicum* (Kleo.) Barb. (Asclepiadaceae), an invasive alien in Ontario. *Journal of Torrey Botanical Society* 13:8-15.

Strong, D.R. (1997). Fear no weevil ? *Science* 277(5329):1058-1059.

Suty, L. (2010). La lutte biologique, vers de nouveaux équilibres écologiques. Quae éditions, Educagri éditions, 323p.

Tewksbury, L., R. Casagrande, A. Gassmann (2002). Swallow-Worts, 209-216. In *Biological Control of invasive Plants in the Eastern United States*. R.G. Van Driesche, S. Lyon, B. Blossey, M. Hoddle, R. Reardon. USDA Forest Service, 209-216.

Thorpe, A.S., G.T. Thelen, A. Diaconu, R.M. Callaway (2009). Root exudate is allelopathic in invaded community but not in native community : field evidence for the novel weapons hypothesis. *Journal of Ecology* 97:641-645.

Van Klinken, R.D. (2000). Host specificity testing: why do we do it and how can we do it better. In *Proceedings of session: host-specificity testing of exotic arthropod biological control agents-the biological basis for improvement in safety*. R.G. Van Driesche, T.A. Heard, A. McClay, R. Reardon. USDA Forest Service, 54-68.

Waage, J.K. (2001). Indirect Ecological Effects in Biological Control : the Challenge and the Opportunity, 99-126. In *Evaluating Indirect Ecological Effects of Biological Control*. E. Wajnberg, J. K. Scott, P. C. Quimby. CABI Publishing, 261p.

Weed, A.S. (2010). Biology and ecology of European natural enemies of swallow-worts (*Vincetoxicum*) and the potential for biological control. Thèse, University of Rhode Island.

Weed, A.S., R. Casagrande (2011). Evaluation of host range and larval feeding impact of *Chrysolina aurichalcea asclepiadis* (Villa): considerations for biological control of *Vincetoxicum* in North America. *Environmental entomology* 40(6):1427-1436.

Weston, L.A., J.N. Barney, A. Di Tommaso (2005). A review of the biology, ecology and potential management of three important invasive perennials in New York State : Japanese knotweed (*Polygonum cuspidatum*), mugwort (*Artemisia vulgaris*) and pale swallow wort (*Vincetoxicum rossicum*). *Plant and soil*, 277:53-79.

REFERENCES WEBOGRAPHIQUES

Fauna Europaea (04/2012),
http://www.faunaeur.org/full_results.php?id=449520

Geoportail (07/2012),
<http://www.geoportail.gouv.fr/accueil>

GISD, Global Invasive Species Database (27/03/2012),
<http://www.issg.org/database/species/search.asp?sts=sss&st=sss&fr=1&x=28&y=7&sn=aedes+albopictus&rn=&hci=-1&ei=-1&lang=EN>

L'épi'net, les Carnets du Lépidoptère Français (04/2012),
<http://www.lepinet.fr/especes/nation/lep/?e=p&id=45750>

Tela Botanica (05/2012),
<http://www.tela-botanica.org/eflore/BDNFF/4.02/nn/72002>

<http://www.tela-botanica.org/eflore/BDNFF/4.02/nn/71988>

USDA Plant Database (10/04/2012),
<http://plants.usda.gov/java/nameSearch?keywordquery=vincetoxicum+rossicum&mode=sciname&submit.x=0&submit.y=0>

<http://plants.usda.gov/java/nameSearch?keywordquery=vincetoxicum+nigrum&mode=sciname&submit.x=0&submit.y=0>

ANNEXES

ANNEXE I

Etablissement d'accueil

L'EBCL (European Biological Control Laboratory) est l'un des quatre laboratoires outre-mer de l'USDA-ARS (United States Department of Agriculture – Agricultural Research Service) (Figure 1). Ces laboratoires à vocation internationale permettent aux chercheurs d'étudier des organismes invasifs aux USA ainsi que leurs bio-agresseurs sur leur continent d'origine. L'EBCL étend son champ d'action de l'Eurasie à l'Afrique. Une vingtaine de programmes de lutte biologique y sont actuellement menés, visant à sélectionner des agents de biocontrôle.

L'organisation actuelle de l'EBCL est le fruit de la fusion en 1991 de deux laboratoires : l'EPL (European Parasite Laboratory) et le BCWL (Biological Control of Weeds Laboratory). L'EBCL est désormais basé sur le Campus International de Baillarguet à Montferrier sur Lez (34). Il est associé à **Agropolis international**. Cette situation lui permet de travailler en partenariat avec de nombreux instituts de recherche français (INRA, CIRAD, CNRS, etc.) ou internationaux (CSIRO).

Le laboratoire est constitué d'un bâtiment de 1800m² (Figure 2) entouré de 20 000m² de terrain, dont la moitié permet des expérimentations en extérieur. Il dispose également de deux quarantaines **NS3** : une extérieure de 149m², comprenant un laboratoire et une serre, et une intérieure de 25m². Construites en partenariat avec le Ministère de l'Agriculture français, elles permettent de protéger l'environnement local de toute invasion par les organismes non indigènes étudiés à l'EBCL.

L'établissement regroupe plusieurs équipes multidisciplinaires, associant leurs compétences dans les domaines de l'entomologie, l'écologie, la botanique, la pathologie végétale, la microbiologie et la génétique moléculaire. L'EBCL compte une vingtaine d'employés, dont cinq chercheurs, et accueille chaque année de nombreux stagiaires.

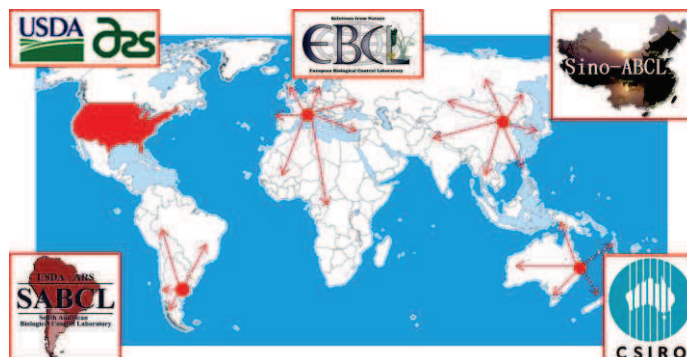


Figure 1 : champ d'action des quatre laboratoires outre-mer de l'USDA-ARS



Figure 2 : façade du bâtiment principal de l'EBCL

ANNEXE II

Programmes de recherche en LBC contre *Vincetoxicum* spp.

Le projet de lutte contre les dompte-venins invasifs en Amérique du Nord est mené à l'EBCL par René Sforza (chercheur en entomologie) et Marie-Claude Bon (chercheur en biologie moléculaire). Il s'insère dans un programme intitulé « Biological Control of Swallow-wort and Other Invasive Weeds of the Northeastern United States » (Lutte Biologique contre les Dompte-venins et Autres Plantes Invasives du Nord Est des Etats Unis), coordonné par Lindsay R. Milbrath, chercheur entomologiste travaillant pour l'ARS, Ithaca, NY, USA. Ce programme s'insère dans un plan global mené par l'ARS : « ARS National Program Action Plan 304 Crop Protection and Quarantine » (Plan d'Action Programme National ARS 304 Protection des Cultures et Quarantaine). D'autres équipes participent au projet (Figure), en particulier : Margarita Dolgovskaya et Mark Volkovitsh, (Institut Zoologique de St Petersburg, Russie), qui étudient la noctuelle *Abrostola clarissa* (Lep. Noctuidae) ; Sandy Smith (Université de Toronto, ON, Canada), qui étudie essentiellement les dompte-venins sur l'aire d'invasion, ainsi que des prédateurs potentiels locaux.

En concurrence des équipes coordonnées par Lindsay R. Milbrath, le CABI (Delémont, Suisse) travaille également sur un projet de LBC contre les dompte-venins. Ainsi, Harriet L. Hinz et André Gassman sont soutenus aux USA par Richard A. Casagrande et Aaron S. Weed (University of Rhode Island, USA). Après avoir étudié la même chrysomèle (*Eumolpus asclepiadeus*, Col. Chrysomelidae), ils étudient la noctuelle *Hypena opulenta* (Lep. Noctuidae).

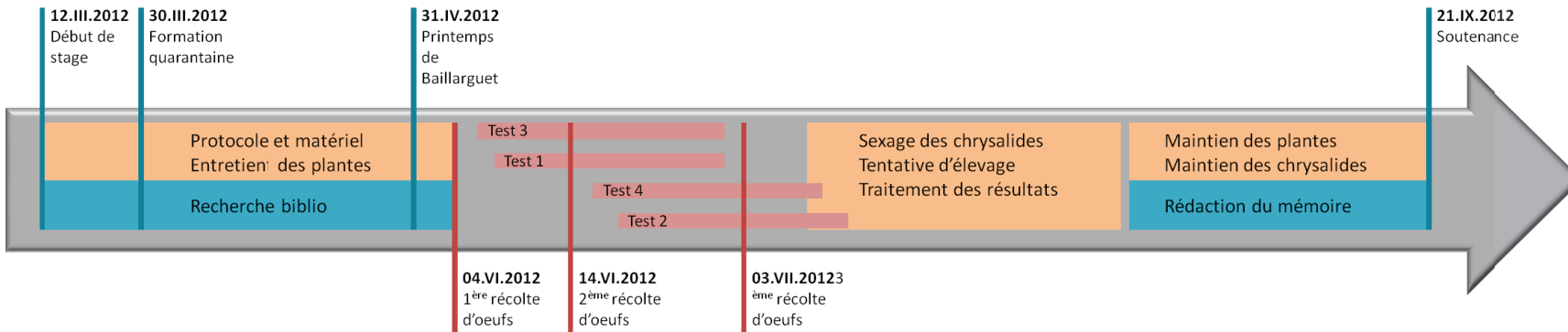


Figure 1 : Equipes de recherche travaillant en LBC contre les dompte-venins.

A l'EBCL, le projet a commencé en 2007 par la phase I décomposée en trois volets : i) étude des dompte-venins sur leur aire d'origine, ii) recherche d'ennemis naturels sur leur aire d'origine, iii) recherche des plantes non-cibles présentant un risque potentiel de dérive, qui serviront aux tests de spécificité en laboratoire. La phase II comprend les tests de spécificité en laboratoire et en champ des ennemis sélectionnés, l'étude de leur biologie et de leur impact sur les dompte-venins.

Tableau récapitulatif des tests et chronologie du stage.

Code Intitulé	Tests réalisés en 2012				Tests prévus en 2012 et non réalisés			
	Biologie		Spécificité		Spécificité		Biologie	
	Test 1 Caméra	Test 2 Stade larvaire selon la photopériode	Test 3 Non-choix en tube	Test 4 Non-choix en pot	Test 5 Stade larvaire selon l'hôte	Test 6 Stade larvaire selon la température	Test 7 Choix	Test 8 Oviposition
Question(s) de recherche	Comment distinguer les différents stades larvaires d' <i>Abrostola</i> <i>asclepiadis</i> ?	La photopériode a- t-elle une influence sur la durée de développement et l'entrée en diapause de la larve d' <i>Abrostola</i> <i>asclepiadis</i> ?	La larve d' <i>Abrostola</i> <i>asclepiadis</i> peut- elle se développer sur les feuilles d'un autre genre que <i>Vincetoxicum</i> ?	La larve d' <i>Abrostola</i> <i>asclepiadis</i> peut- elle se développer sur une plante d'un autre genre que <i>Vincetoxicum</i> ?	L'hôte a-t-il une influence sur la durée de développement et l'entrée en diapause de la larve d' <i>Abrostola</i> <i>asclepiadis</i> ?	La températue a-t- elle une influence sur la durée de développement et l'entrée en diapause de la larve d' <i>Abrostola</i> <i>asclepiadis</i> ?	Comment se comporte la larve d' <i>Abrostola</i> <i>asclepiadis</i> placée en condition de choix alimentaire?	Sur quelles espèces végétales la femelle d' <i>Abrostola</i> <i>asclepiadis</i> préfère- t-elle pondre en situation de choix?
Données relevées	Stade, capsule céphalique	Stade, entrée en diapause, surface consommée	Stade, survie, tentative(s)	Stade, survie, tentative(s) (à J10)				
Répétitions	11	14	5	5				
Matériel	Boite de Pétri + Caméra	Tube + Incubateur	Tube	Pot				
Lieu	Laboratoire	Laboratoire	Quarantaine	Quarantaine				



ANNEXE IV

Illustrations de *Vincetoxicum nigrum*, *V. rossicum* et *V. hirundinaria*

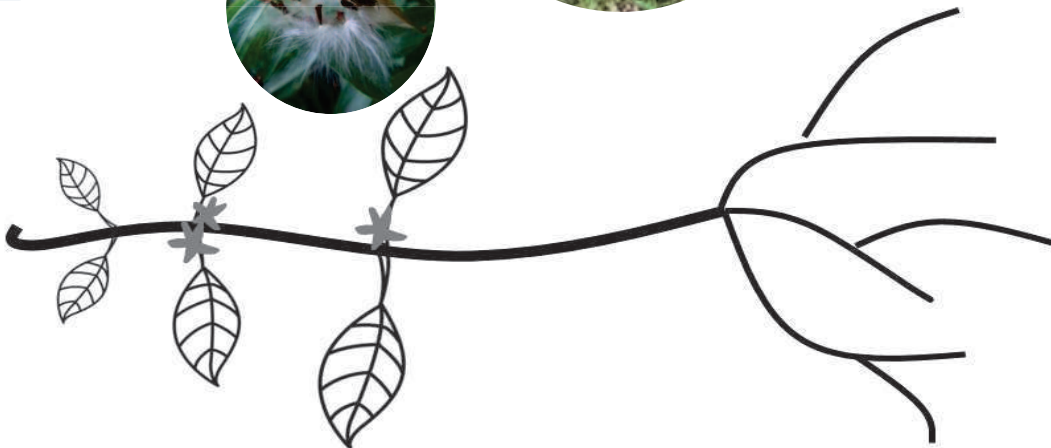
V. nigrum



V. rossicum



V. hirundinaria



ANNEXE V

Localisation des deux sites de récolte d'œufs d'*Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae)



Figure 1 : localisation des deux zones de prospection, entre Valence et Gap, à environ 50km au sud de Grenoble.



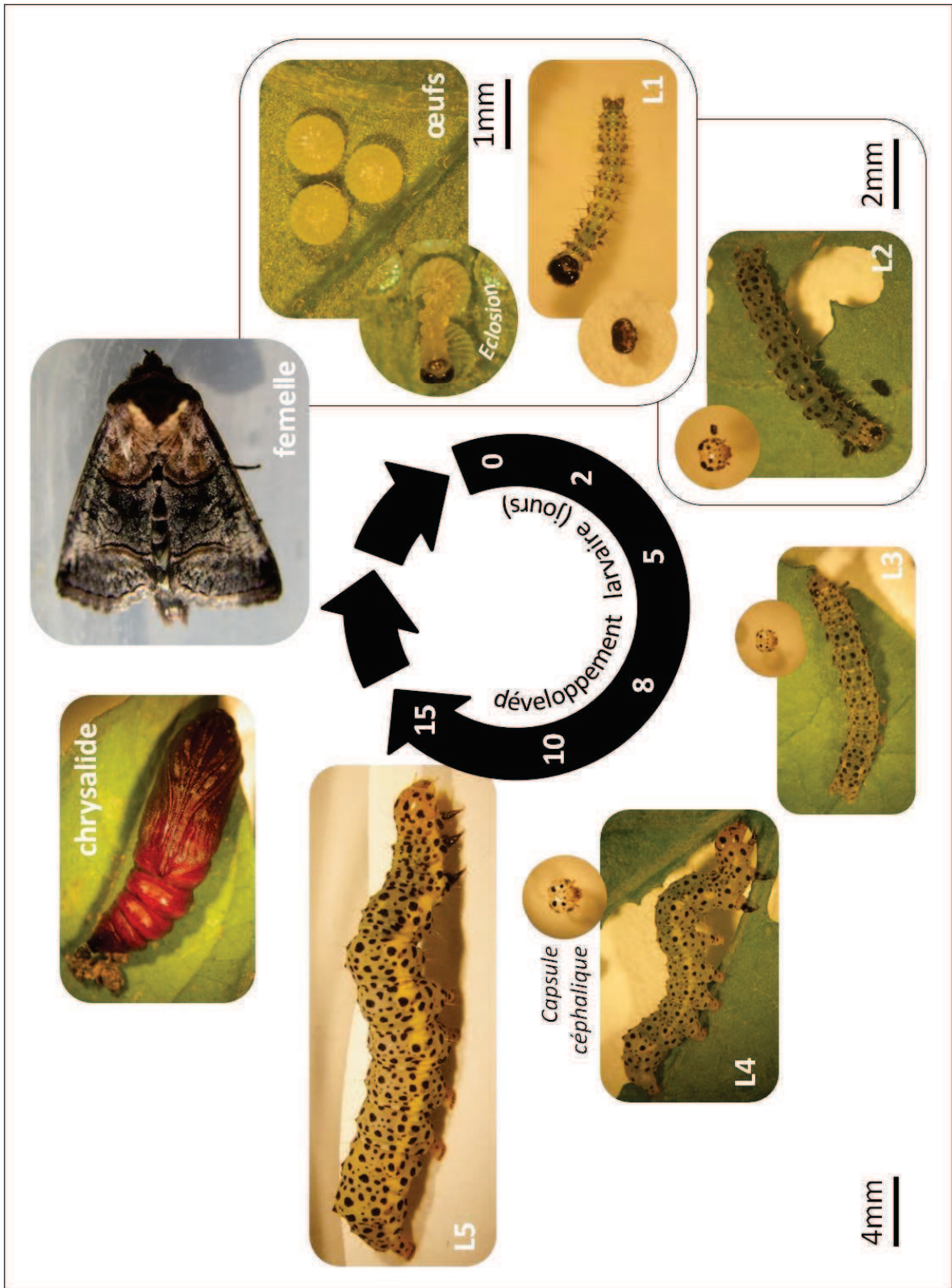
Figure 2 : vue du chemin de récolte, montrant la géologie calcaire de la vallée.



Figure 3 : détail de la principale zone de prospection : Glandage.
Le point rouge fléché indique le lieu et le sens de prise de la photo (Figure 2).
(Source : site internet Geoportail)

ANNEXE VI

Cycle de développement d'*Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae) en laboratoire



ANNEXE VII

Détail de l'éclosion d'une chenille d'*Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae)

Photos prises à l'aide d'une loupe binoculaire Zeiss Stemi 2000-C et d'un appareil photo Nikon Coolpix 4500.

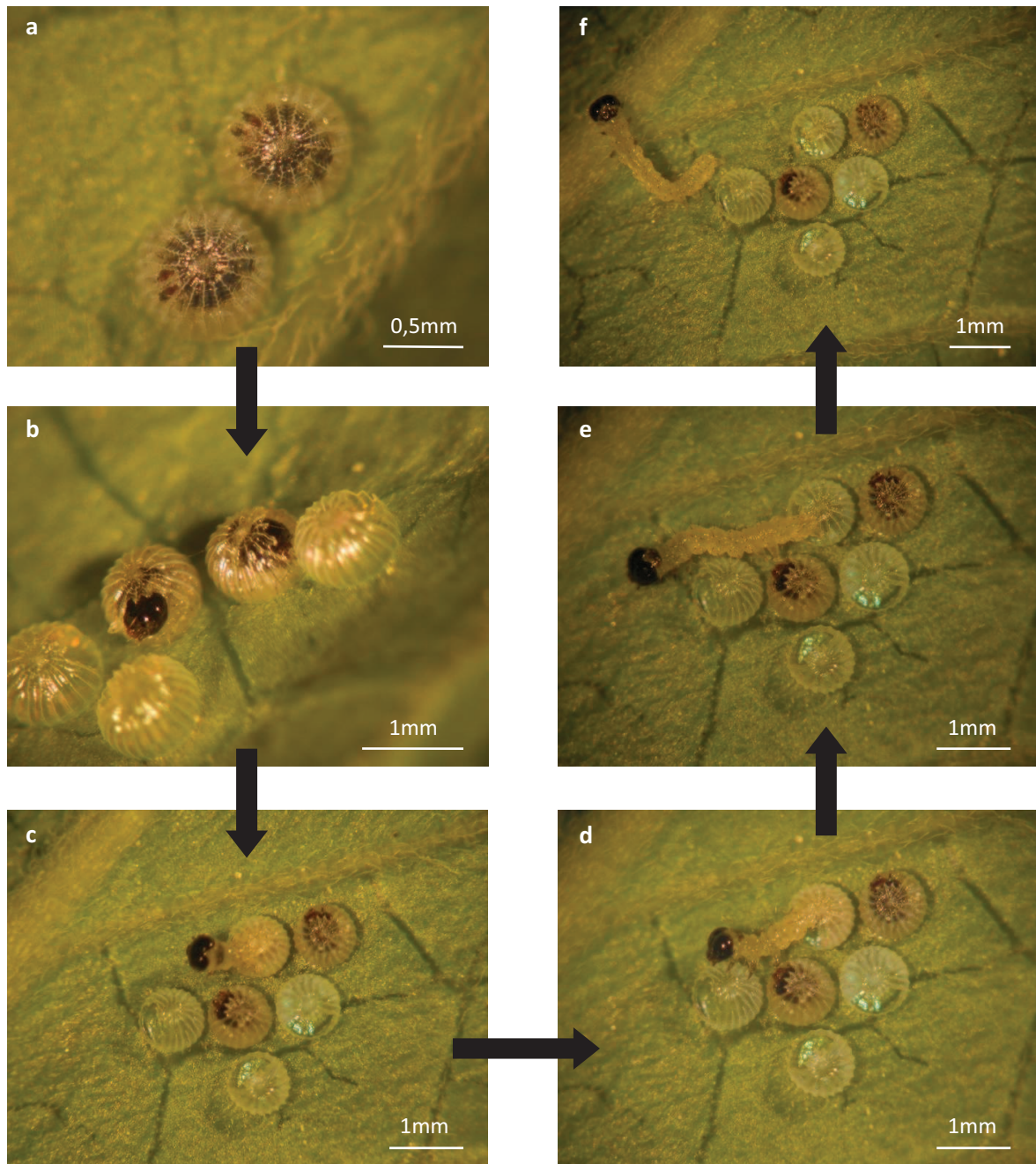


Figure 1 : six photos pour décrire l'éclosion.

Juste avant l'éclosion, les capsules céphaliques noires sont visibles (a). L'éclosion commence lorsque la larve d'*Abrostola asclepiadis* mange son chorion (b). Lorsque la perforation est suffisante, elle sort la tête de son chorion (c), puis elle s'en extirpe entièrement (d) (e). Elle quitte le lieu de ponte (f).

ANNEXE VIII

Détail de la mue L4-L5 d'une chenille d'*Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae)

Images prises à l'aide d'une caméra Microsoft LifeCam HD-5000.

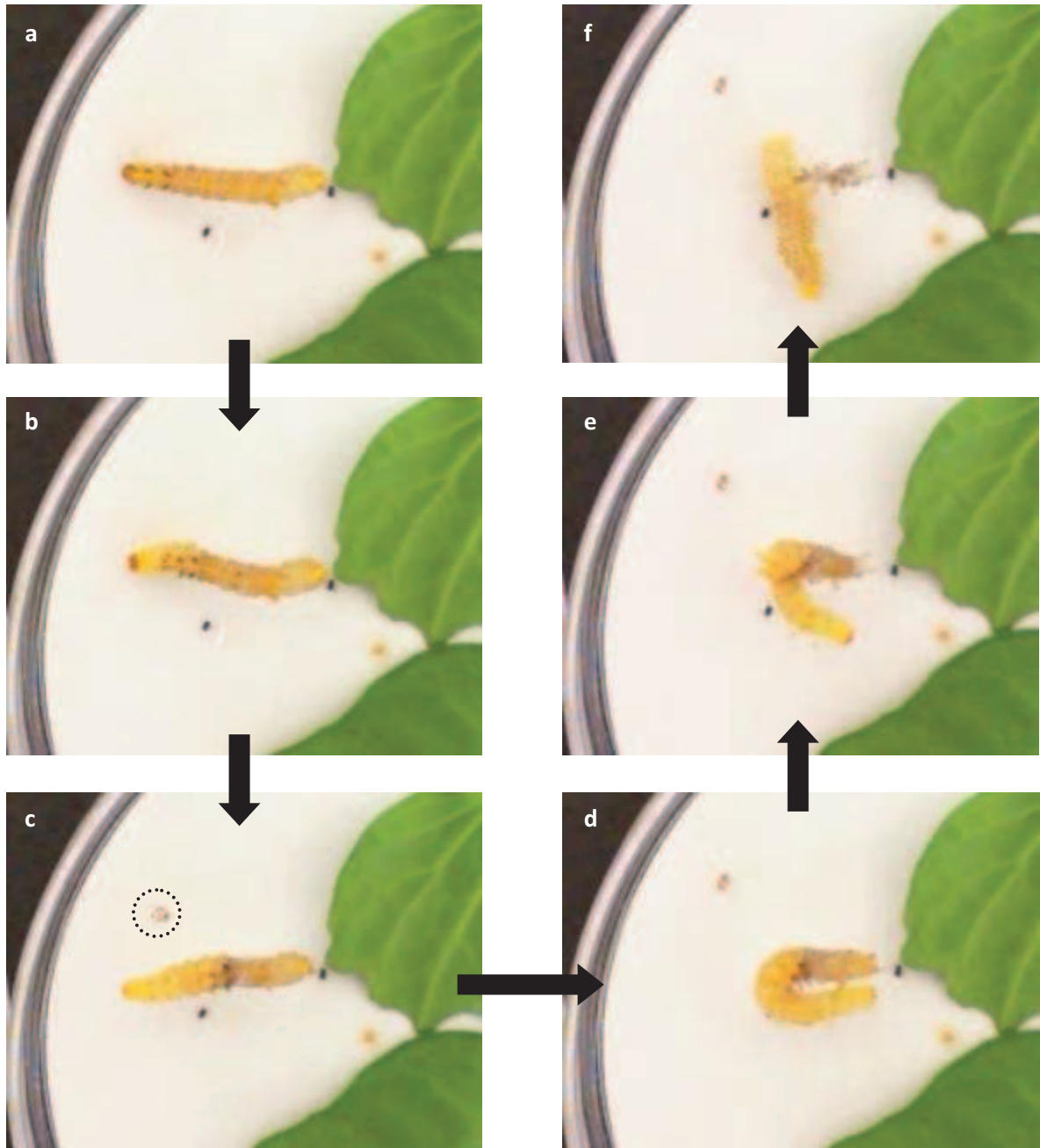


Figure 1 : découpage en six étapes de la mue d'une larve d'*Abrostola asclepiadis*.

La mue est précédée d'une phase de prostration de plusieurs heures qui s'achève par des contractions de ses métamères (a), puis elle extirpe ses pattes de son ancienne enveloppe (b). Sa capsule céphalique tombe (c), elle se contorsionne et cherche des appuis (d), ses pseudopodes sont progressivement libérés (e), la mue reste collée à la paroi (f).

ANNEXE IX

Explication du logiciel GeoTool

Une version d'évaluation du logiciel GeoTool nous a été fournie gratuitement par le constructeur Alexandre Duvallet pour la durée du stage. Ce logiciel permet de mesurer des longueurs et des surfaces à partir de photos au format JPEG.

La feuille à mesurer est étalée entre deux plaques de plexiglas, du papier millimétré collé au verso de la plaque inférieure sert de mesure de référence. La date de la photo, la modalité de photopériode et le numéro du tube sont annotés.

Après chargement du logiciel, on importe l'image ('Fichier', 'Importer'). Puis on paramètre le logiciel ('Paramétrage', réglage de l'unité de mesure et de la taille de police). Il faut ensuite calibrer l'image ('Calibrage', 'Activer la saisie du calibrage', sélection d'une longueur puis de nouveau 'Calibrage', 'Entrée de la valeur réelle'). Ensuite, la mesure peut commencer ('Mesure', 'Démarrer la mesure'). Une succession de point permet de saisir la surface à mesurer. On clique de nouveau sur l'onglet 'Mesure', 'Arrêt de la saisie', et les mesures s'affichent (Figure 1). On peut les exporter sous Excel ('Fichier', 'Exporter au format Excel') (Figure 2).

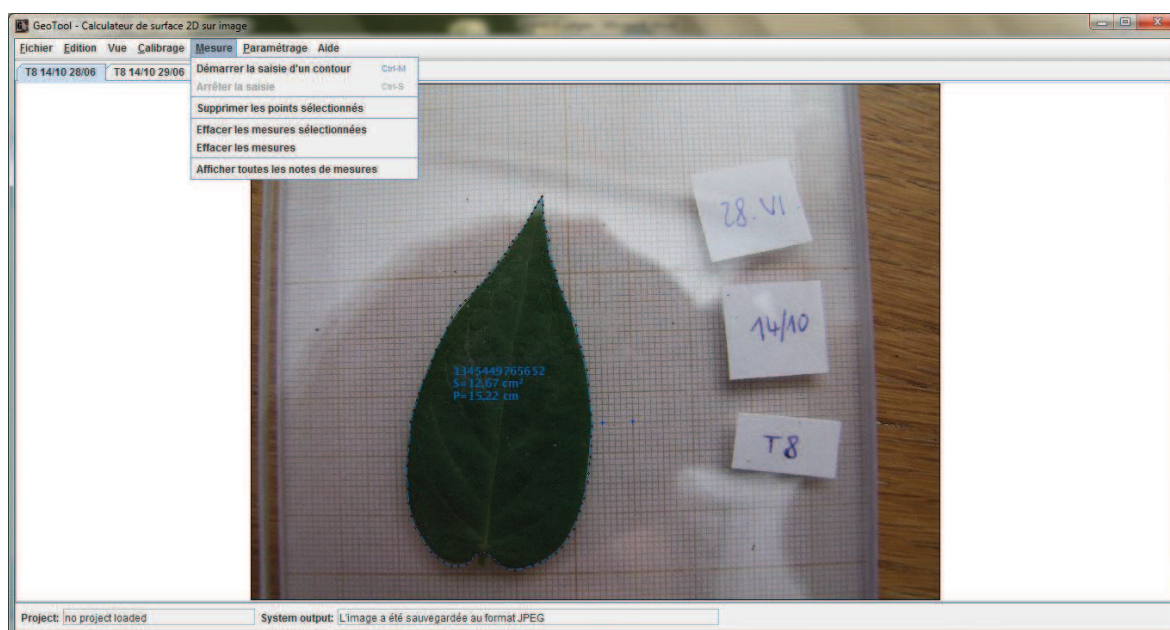


Figure 1 : impression d'écran de la page de travail du logiciel Calgeo, après mesure de la surface de la feuille photographiée.



Measure Name	Surface	Unit	Perimeter	Unit
1345449765652	12,67	cm ²	15,22	cm

Figure 2 : forme des résultats exportés sous Excel.

ANNEXE X

1. Certificat phytosanitaire

FORM APPROVED
OMB NO. 0579-0052

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE ANIMAL AND PLANT HEALTH INSPECTION SERVICE PLANT PROTECTION AND QUARANTINE PHYTOSANITARY CERTIFICATE		FOR OFFICIAL USE ONLY PLACE OF ISSUE Avoca, New York NO. F-F-36101-02323134-7-N DATE INSPECTED March 28, 2012	
TO: THE PLANT PROTECTION ORGANIZATION(S) OF France			
CERTIFICATION			
This is to certify that the plants, plant product or other regulated articles described herein have been inspected and/or tested according to appropriate official procedures and are considered to be free from the quarantine pests, specified by the importing contracting party and to conform with the current phytosanitary requirements of the importing contracting party including those for regulated non-quarantine pests.			
DISINFESTATION AND/OR DISINFECTION TREATMENT			
1. DATE	2. TREATMENT		
3. CHEMICAL (active ingredient)	4. DURATION AND TEMPERATURE		
5. CONCENTRATION	6. ADDITIONAL INFORMATION		
DESCRIPTION OF THE CONSIGNMENT			
7. NAME AND ADDRESS OF THE EXPORTER Lindsey R. Milbrath Robert W. Holley Center for Agriculture and Health 538 Tower Road Ithaca, New York 14853-2901		8. DECLARED NAME AND ADDRESS OF THE CONSIGNEE Rene' SPORZA European Biological Control Laboratory - USDA-ARS Campus International Montferrier-Baillarguet St Gelly du Fesc 34988 France	
9. NAME OF PRODUCE AND QUANTITY DECLARED (1) 50 Individual Swallow-wort (root crowns) (2) 50 Individual Swallow-wort (root crowns)		10. BOTANICAL NAME OF PLANTS (1) Vincetoxicum nigrum (2) Vincetoxicum rossicum	
11. NUMBER AND DESCRIPTION OF PACKAGES (1-2) 1 cardboard box with 2 plastic bags (1.7 pounds total net weight)		12. DISTINGUISHING MARKS (1-2) None	
13. PLACE OF ORIGIN (1-2) New York, USA		14. DECLARED MEANS OF CONVEYANCE Air Mail	
		15. DECLARED POINT OF ENTRY France	
WARNING: Any alteration, forgery, or unauthorized use of this phytosanitary certificate is subject to civil penalties of up to \$250,000 (7 U.S.C. Section 7734(b)) or punishable by a fine of not more than \$10,000, or imprisonment of not more than 5 years, or both (18 U.S.C. Section 1001).			
ADDITIONAL DECLARATION			
"The place of production is free from <i>Clavibacter michiganensis</i> ssp. <i>Sepdonicus</i> and <i>Globodera rostochiensis</i> ." " <i>Globodera pallida</i> and <i>Synchytrium endobioticum</i> are not known to occur in the United States."			
Page 1 of 1			
16. DATE ISSUED March 28, 2012	17. NAME OF AUTHORIZED OFFICER (Type or Print) Michael L. Aita		18. SIGNATURE OF AUTHORIZED OFFICER 
No liability shall attach to the United States Department of Agriculture or to any officer or representative of the Department with respect to this certificate.			


ANNEXE X

2. Déclaration d'intention d'importer des organismes vivants et autres produits à titre scientifique

SERVICE DÉPARTEMENTAL DE L'Organisation Nationale de la Protection des Végétaux
Maison de l'Agriculture - Place Antoine Chaptal - CS 70039 34 060 Montpellier Cedex 02
Tél : 04.67.10.19.50 - Fax : 04.67.03.10.21

DECLARATION D'INTENTION D'IMPORTER DES ORGANISMES VIVANTS ET AUTRES PRODUITS
A TITRE SCIENTIFIQUE

(Autres que ceux visés par les Articles R. 251-26 à R. 251-41 du Titre V du Code Rural et l'Arrêté du 10/06/98)

N° SRAL : A2LR012	Demande à adresser pour Enregistrement : Direction Régionale de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt Service Régional de l'Alimentation Maison de l'Agriculture Place Antoine Chaptal CS 70039 34 060 Montpellier Cedex 02
DEMANDEUR : PROGRAMME DE RECHERCHE : Description des organismes à importer But de l'étude Personnel impliqué (noms et fonctions)	European Biological Control Laboratory - USDA-ARS Campus International de Baillarguet CS 90013 Montferrier sur Lez 34988 St Gely du Fesc Cedex Tel. 04 99 62 30 42 (30 00) Fax. 04 99 62 30 49 Email dcoujnot@ars-ebcl.org Végétaux et auxiliaires (insectes et acariens) de <i>Vincetoxicum</i> spp. & <i>Cynanchum</i> sp. et <i>Asclepias</i> sp. (Asclepiadaceae) Expérimentation dans le cadre d'un programme de lutte biologique R. SFORZA, O. SIMONOT, M-C BON, M. JEANNEAU, F. GUERMACHE
RISQUES POTENTIELS : Risques directs. Autres organismes véhiculés	Matériel destiné à des travaux scientifiques dans le domaine phytosanitaire
IMPORTATIONS : Espèces prévues (noms latins et français) Aspect (matériel) Quantité Emballage Origine (pays) Moyen de transport Poste frontière de l'introduction Calendrier d'introduction	<i>Vincetoxicum</i> spp., <i>Cynanchum</i> sp., <i>Asclepias</i> sp. (Asclepiadaceae) Auxiliaires (insectes et acariens) De 10 à 3000 graines par échantillon et/ou 10 à 100 plantes et/ou partie de plante (les rhizomes seront nettoyés avant importation) et/ou 10-500 insectes et/ou acariens Boîtes et/ou tubes hermétiques Tous pays Avion et voiture Paris - Montpellier - Le Perthus - Marseille - Menton Ventimille 1^{er} janvier au 31 décembre 2012
PRECAUTIONS EN FRANCE : Local prévu, Adresse Niveau de sécurité Agrément obtenu, par ailleurs, pour l'importation d'organismes nuisibles Nature du matériel d'élevage ou de culture	Quarantaine EBCL Campus International de Baillarguet, Montferrier-sur-Lez, France NS3 Arrêté préfectoral n°090473 du 22 juillet 2009 Cages et tubes
DETAILS DES EXPERIMENTATIONS : Lieu Méthode de confinement	Tous les organismes en provenance de l'étranger seront traités dans la quarantaine du Laboratoire EBCL. Les auxiliaires peuvent être envoyés vivants par fret aérien dans une quarantaine aux USA.
FIN D'EXPERIMENTATION : Date. Destruction de matériel Méthode de destruction	Parties de végétaux non destinés à la plantation En fin d'expérimentation tous les végétaux en provenance de l'étranger subiront un passage obligé à l'autoclave.
Date Signature et cachet du demandeur	Le Directeur de l'Etablissement s'engage à respecter les mesures de sécurité spécifiées dans cette déclaration. 15 décembre 2011  EUROPEAN BIOLOGICAL CONTROL LABORATORY CAMPUS INTERNATIONAL DE BAILLARGUET CS90013 MONTFERRIER SUR LEZ 34988 ST GELY DU FESC CEDEX FRANCE

ANNEXE X

3. Enregistrement d'intention d'importer des organismes vivants nuisibles à titre scientifique



Direction Régionale de l'Alimentation,
Agriculture et Forêt
Languedoc-Roussillon

Service Régional de l'Alimentation

E.B.C.L
Campus International de Baillarguet
CS90013 Montpellier sur Lez
34988 St Gely du Fesc cedex

A l'attention de M. COUTINOT

NRéf. : ML/GG

VRéf. :

Objet : Importation scientifique

Dossier

suivi par : Pierre EHRET - Guilhem GISBERT

Montpellier, le 3 janvier 2012

ENREGISTREMENT D'INTENTION D'IMPORTER DES ORGANISMES NUISIBLES VIVANTS A TITRE SCIENTIFIQUE

N° 12 LR 012

Est enregistrée la déclaration d'importation en France ci-jointe, pour travaux scientifiques, concernant les organismes nuisibles vivants suivants :

- Organismes nuisibles (insectes et acariens) de *Vincetoxicum* spp. et *Cynanchum* sp. et *Asclepias* sp. (Asclepiadaceae), et végétaux servant de support à ces organismes,
- originaire tous pays,
- faite par le Directeur de l'E.B.C.L et sous sa responsabilité.

Ce matériel n'est pas soumis aux dispositions fixées par les articles R. 251-26 à R. 251-41 du Titre V du Code Rural.

Les végétaux éventuellement introduits comme support de ces organismes nuisibles vivants, doivent être en conformité avec la législation phytosanitaire européenne (Certificat phytosanitaire modèle international lorsqu'il est nécessaire).

L'importation est envisagée pour une période allant jusqu'à fin décembre 2012.

Il est rappelé au Directeur de l'établissement que la mise en œuvre de mesures de sécurité appropriées quant au niveau de risque présenté par le matériel importé, est de sa responsabilité.

Le Service Régional de l'Alimentation se réserve la possibilité d'exercer son droit de contrôle des activités conduites au laboratoire sur le matériel déclaré.

P. J : 1 déclaration

LE CHEF DU SERVICE RÉGIONAL
DE L'ALIMENTATION

Michel LAROUSSIER



Maison de l'Agriculture Place Antoine Chaptal - C.S. 70039 - 34080 MONTPELLIER CEDEX 02

Télép. : 04.67.10.19.50 - Téléc. : 04.67.10.19.46



Diplôme : Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences Agronomiques, Agroalimentaires, Horticoles et du Paysage

Spécialité : Horticulture

Spécialisation / Option : GDV

Enseignant référent : Josiane Le Corff

Auteur(s) : Marie-Eve Bayle

Date de naissance : 01/02/1989

Nb de pages : 39

Annexe(s) : 10

Année de soutenance : 2012

Organisme d'accueil : EBCL USDA-ARS

Adresse : Campus International de Baillarguet
CS 90013 Montferrier sur Lez
34988 St Gély du Fesc CEDEX France

Maître de stage : René Sforza

Titre français : Spécificité et biologie d'*Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae), agent de biocontrôle potentiel contre les dompte-venins (Apocynaceae, *Vincetoxicum* spp.)

Titre anglais : Specificity and biology of *Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae), potential biocontrol agent on swallow-worts (Apocynaceae, *Vinctoxicum* spp.)

Résumé (1572 caractères) :

Contexte : les dompte-venins (*Vincetoxicum* spp.) sont invasifs en Amérique du Nord, et causent des dégâts écologiques et économiques de plus en plus importants. Pour le moment, aucun moyen de juguler l'invasion n'existe : les souches colonisatrices sont très robustes et peu sensibles aux méthodes de lutte chimique et mécanique. Un programme de lutte biologique a donc été engagé par l'USDA-ARS en 2007. Plusieurs agents de biocontrôle potentiels ont été recensés et sont progressivement testés à l'EBCL. C'est actuellement la noctuelle *Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae) qui est à l'étude.

Objectif : procéder à des tests de spécificité sur un large spectre d'espèces non-cibles, tout en élaborant en parallèle des expérimentations dédiées à l'observation de la biologie et du comportement de l'insecte.

Résultats clés : il existe cinq stades larvaires dont la durée totale dépend des conditions extérieures (15 à 18 jours en moyenne). La taille de la capsule céphalique est un critère fiable pour distinguer les stades larvaires (stade L1 : 0,50±0,02mm ; L2 : 0,76±0,03mm ; L3 : 1,20±0,03mm ; L4 : 1,79±0,04mm ; L5 : 2,55±0,08mm). Les tests de non-choix alimentaire montrent qu'aucune larve n'accomplit son développement sur une autre espèce que *Vincetoxicum hirundinaria* (son hôte). Elles vivent en moyenne 16,8j sur l'hôte contre 2,2j sur les espèces non-cibles.

Conclusions et perspectives : *Abrostola asclepiadis* valide son statut d'agent potentiel de biocontrôle. Des tests non réalisés faute de matériel animal sont prévus pour compléter cette étude en 2013.

Abstract (1393 caractères) :

Background: Swallow-worts (*Vincetoxicum* spp.) are invasive in North America, and cause increasing environmental and economical damages. At this point, no way to limit the invasion process does exist: the colonizing stock is very strong and little sensitive to chemical and mechanical control. A biological control program has started at the USDA-ARS in 2007. Several potential biocontrol agents have been listed and are progressively tested in EBCL. *Abrostola asclepiadis* (Lep. Noctuidae) is currently studied.

Aim: Carry out specificity tests on a wide non-target species range, while working out experimentations dedicated to biological and behavioral observations of the insect.

Main results: There are five larva instars which duration depends on external conditions (15 to 18 days on average on the lead tests). Head capsule width is a reliable criterion to distinguish larva instars (stage L1 : 0,50±0,02mm ; L2 : 0,76±0,03mm ; L3 : 1,20±0,03mm ; L4 : 1,79±0,04mm ; L5 : 2,55±0,08mm). No-choice tests showed that no larva achieved its development on another species than *Vincetoxicum hirundinaria* (host plant). They live on average 16,8 days on host plant (*V. hirundinaria*) against 2,2 days on non-target species.

Conclusions and prospects: *Abrostola asclepiadis* keeps its biocontrol agent status. Unimplemented tests for lack of animal material are planned to complete this study in 2013.

Mots clés : lutte biologique classique ; *Vincetoxicum* spp. ; *Abrostola asclepiadis* (Noctuidae).

Key words : classical biological control ; *Vincetoxicum* spp. ; *Abrostola asclepiadis* (Noctuidae).