

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE SCIENCE ET ENVIRONNEMENTS
Ecologie évolutive, fonctionnelle et des communautés

Par Juliette POIDATZ

**De la biologie des reproducteurs au comportement
d'approvisionnement du nid, vers des pistes de biocontrôle
du frelon asiatique *Vespa velutina* en France.**

Thèse CIFRE

Sous la direction de : Denis THIERY

Soutenue le 24/11/2017

Membres du jury :

M. SANDOZ Jean-Christophe, Directeur de recherche EGCE, CNRS Gif-sur-Yvette.	Rapporteur
M. LECOMTE Yves, Directeur de recherche UR 406 Abeilles et Environnement, INRA Avignon.	Rapporteur
Mme SUPPO Christelle, Directrice adjointe IRBI, CNRS Tours.	Examineur
M. LHIOREAU Mathieu, Chargé de recherche UMR 5169, CNRS Toulouse.	Examineur
M. THIERY Denis, Directeur de recherche UMR 1065 SAVE, INRA de Bordeaux.	Examineur
Mme Bénédicte Laborie, experte biodiversité & abeilles, Bayer SAS.	Invité

Titre : De la biologie des reproducteurs au comportement d’approvisionnement du nid, vers des pistes de biocontrôle du frelon asiatique *Vespa velutina* en France.

Résumé : Cette thèse CIFRE porte sur la biologie, le comportement et le biocontrôle du frelon asiatique *Vespa velutina*, un prédateur invasif d’abeilles. Depuis son introduction en France, ce frelon étend maintenant son aire de répartition en Europe, impactant à la fois l’environnement et l’apiculture. L’objectif de ces travaux sera d’enrichir le savoir sur cette espèce pour perturber le développement des colonies de *V. velutina* à différents niveaux afin d’en limiter la prolifération. Le premier axe porte sur la **biologie des reproducteurs** de *V. velutina*, afin d’empêcher la fondation de colonies en amont. Ce travail précise les données concernant la maturation sexuelle des mâles de *V. velutina*, compare certains traits liés à la fertilité des fondatrices avec celles du frelon européen, et met en évidence une plus grande précocité et fertilité de *V. velutina*. Le deuxième axe porte sur la **biologie des colonies, de la collecte à la distribution des ressources dans le nid**. A l’aide de puces électronique marquant des ouvrières (technique RFID), nous avons mesuré le rayon d’action et les limites des ouvrières *V. velutina*. En marquant de la nourriture avec des métaux lourds, nous avons pu suivre l’évolution de sa distribution dans les colonies suivant leur structure. Le troisième axe porte sur le **biocontrôle de *V. velutina*** avec des champignons entomopathogènes. Nous avons évalué l’efficacité de différents isolats et de leur mode d’application contre *V. velutina*, puis décrit un champignon naturellement parasitant *V. velutina*. Ces travaux ont permis de faire avancer les connaissances sur la biologie et la physiologie des frelons, mais également de proposer des pistes de contrôle durable de l’invasion européenne de *V. velutina*.

Mots clés : insecte invasif, hyménoptère, physiologie, biologie comportementale, RFID, biocontrôle.

Title : From the reproduction biology to the foraging behaviour, towards the biological control of *Vespa velutina* in France.

Abstract : This CIFRE thesis deals with the biology, the behavior and the biological control of an invasive predator of bees, the hornet *Vespa velutina*. Since its introduction in France, this hornet is now invading most countries in occidental Europe, dealing damages both to the environment and the beekeeping activity. In order to limit its proliferation, a good strategy could consist in disrupting its colony development at different levels, explored in this work. **The first axis deals with *V. velutina* reproductive biology**, exploring the different paths to prevent colonies creation. First we described the sexual maturation of males in *V. velutina*, and second we compared different traits linked to fertility between foundresses of *V. velutina* and the European hornet, thus highlighting *V. velutina* higher precocity and fertility potential. **The second axis explored the biology of colonies**, from resource collection to resource distribution in the nest. Using RFID technic, we assessed the action range and its boundaries in *V. velutina* workers. We also labelled food and observed its distribution in *V. velutina* colonies in function of the colony size and structure. **The third axis deals with *V. velutina* biocontrol**, using entomopathogenic fungi. We evaluated the efficiency of different isolates and different application methods on *V. velutina*, and described a wild fungus found naturally parasitizing *V. velutina*. This work brought knowledge on biology behavior and physiology of this invasive hornet, and also proposed options that could be assayed for a durable control of *V. velutina*.

Keywords: Invasive insect, hymenoptera, physiology, behaviour, tracking, biocontrol, evolution.

Unité de recherche

[UMR 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble, INRA, Bat. D2, 71 rue Edouard Bourlaux, 33883 Villenave d’Ornon Cedex, France.]

Table des matières

Table des matières	4
Table des figures	8
Remerciements	11
INTRODUCTION GENERALE.....	15
1 <i>Vespa velutina</i> var. <i>nigrithorax</i> , un prédateur invasif d'abeilles	17
1.1 <i>Vespidae</i> et invasions	17
1.2 Introduction de <i>V. velutina</i> en Europe	19
1.3 Impact de l'invasion de <i>V. velutina</i> en Europe	22
2 Biologie de <i>Vespa velutina</i>	27
2.1 Cycle de développement.....	27
2.2 Généralités sur les reproducteurs chez <i>V. velutina</i>	31
2.3 Le nid de <i>V. velutina</i>	32
2.4. Organisation sociale des colonies de <i>V. velutina</i>	33
3 Etat des lieux des moyens de lutte contre <i>Vespa velutina</i>	35
3.1 Piégeages, captures de printemps	35
3.2 Protection des ruchers fin d'été-automne	37
3.3 Lutte chimique et destruction des nids	40
4 Objectifs et structure de la thèse.....	45
4.1 Présentation des axes de la thèse	45
4.2 Formulation des hypothèses de recherche sur lesquelles repose cette thèse	46
AXE 1 ETUDE DE LA BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION CHEZ VESPA VELUTINA	50
A.1. Physiologie des mâles de <i>Vespa velutina</i>	51
A.1.1 Généralités sur les mâles d'hyménoptères.....	51
A.1.2 Organisation du tractus reproducteur mâle.....	52
A.1.3 Structure des testicules et spermatogenèse.....	53

A.1.4 Production de mâles précoces chez <i>V. velutina</i>	56
ARTICLE 1: Delayed sexual maturity of males in <i>Vespa velutina</i>	59
A.2 Physiologie des fondatrices de <i>V. velutina</i>	76
A.2.1 Organisation du tractus reproducteur femelle.....	76
A.2.1.1 Ovaires et production d'œufs.....	76
A.2.1.2 La spermathèque.....	78
Manuscrit 2: Comparison of reproductive traits of foundresses in a native and an invasive hornet in Europe	80
A.2.2 Sélection spatiale ou « Spatial sorting hypothesis ».....	96
A.2.3 Une sélection spatiale existe-t-elle chez <i>Vespa velutina</i> ?.....	97
A.3 Description du comportement de reproduction de <i>V. velutina</i>	99
A.3.1 La reproduction chez les frelons.....	99
A.3.2 Reproduction chez <i>Vespa velutina</i>	101
AXE 2 : DE LA COLLECTE A L'UTILISATION DES RESSOURCES PAR LES COLONIES DE VESPA VELUTINA	103
B.1 Nutrition de <i>Vespa velutina</i> et biologie des nids.....	104
B.1.1 Nutrition des adultes.....	104
B.1.1.1 Collecte de ressources chez les <i>Vespidae</i>	104
B.1.1.2 Polyéthisme et spécialisation.....	106
B.1.1.3 Sources de nourriture de <i>V. velutina</i>	108
B.1.1.4 Tester le degré de spécialisation des ouvrières de <i>V. velutina</i>	109
B.1.2 Nutrition de la colonie.....	111
Manuscrit 3: Studying food distribution inside <i>Vespa velutina</i> nests using heavy metal tracers	113
B.2 Rayon d'action de <i>Vespa velutina</i> autour de son nid.....	132
B.2.1 Rayon d'action et capacités de retour au nid.....	132
B.2.2 Techniques d'enregistrement et d'analyse des déplacements d'insectes.....	133
B.2.2.1 Le radar harmonique.....	133
B.2.2.2 Les caméras 3D.....	134
B.2.2.3 Emetteurs actifs.....	135

B.2.2.4 La technique du RFID (Radio-Frequency Identification).....	136
B.2.3 Application de la technique de RFID au frelon asiatique à pattes jaunes <i>V. velutina</i>	137
Manuscrit 4: Homing behaviour in an invasive honeybee predator.....	141
AXE 3 : VERS DES OPTIONS DE BIOCONTRÔLE DES COLONIES DE <i>VESPA VELUTINA</i> ?.....	163
C.1 La lutte biologique.....	164
C.1.1 La lutte microbiologique entomopathogène.....	166
C.1.2 Les mécanismes infectieux des entomopathogènes.....	167
C.2 La technique du cheval de Troie.....	169
C.3 Recherche d'agents de biocontrôle pour agir contre <i>V. velutina</i>	170
C.3.1 Présentation générale des agents de lutte étudiés.....	170
C.3.2 Méthodes d'identification de souches d'entomopathogènes.....	170
C.3.2.1 Observations morphologiques.....	170
C.3.2.2 Analyses génétiques.....	171
Manuscrit 5 (Shortnote): Description of a strain of <i>Beauveria bassiana</i> naturally parasitizing the bee predator <i>Vespa velutina</i> in France.....	173
C.4 Evaluation de l'efficacité de certains isolats d'entomopathogènes généralistes sur <i>V. velutina</i>	181
C.4.1 Biocontrôle d'adultes de <i>V. velutina</i>	181
Manuscrit 6: Indigenous strains of <i>Beauveria</i> and <i>Metharizium</i> as potential biological control agents against the invasive hornet <i>Vespa velutina</i>.....	182
C.4.2 Evaluation de l'efficacité de molécules insecticides et de champignons entomopathogènes sur les larves de <i>V. velutina</i>	198
DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE	199
1 Biologie des reproducteurs.....	203
1.1 Biologie des mâles de <i>V. velutina</i>	203
1.2 Biologie des femelles de <i>V. velutina</i>	204
1.3 Spatial sorting chez <i>V. velutina</i>	205
1.4 Biologie de la reproduction chez <i>V. velutina</i>	206
1.5 Hivernation.....	207
2 De la collecte des ressources à leur utilisation dans les colonies de <i>V. velutina</i>	209

2.1 Spécialisation alimentaire.....	209
2.3 Rayon d'action des ouvrières et détection des colonies.....	210
2.3 Distribution de la nourriture dans les colonies de <i>V. velutina</i>	211
3 Biocontrôle de <i>V. velutina</i>	213
3.1. Amélioration des formulations et choix des souches de champignon entomopathogènes.....	213
3.2. Evaluation de l'impact de champignons entomopathogènes sur des colonies entières...	214
Conclusion générale	216
ANNEXES	219
ANNEXE 1.1: Sélection spatiale chez <i>Vespa velutina</i> : Compromis entre traits dispersifs et reproductifs chez les fondatrices de <i>V. velutina</i> entre la Bretagne, l'Italie et le Bordelais.....	221
ANNEXE 1.2: Sélection spatiale chez <i>V. velutina</i> : Projet EUROFRELOON : Evaluation d'une potentielle sélection spatiale chez <i>Vespa velutina</i> en Europe.....	231
ANNEXE 1.3. Describing the mating behavior of <i>Vespa Velutina</i> , in laboratory conditions.....	234
ANNEXE 2.1 : Evaluation de la spécialisation pour la collecte d'un type de nourriture chez les ouvrières de <i>Vespa velutina</i>	247
ANNEXE 3.1 : Evaluation de l'efficacité de molécules insecticides et de champignons entomopathogènes sur les larves de <i>Vespa velutina</i>	255
ANNEXE 4 : Congrès et formations.....	260
REFERENCES	263

Table des figures

--- Introduction générale ---

Figure 1	20
Figure 2	21
Figure 3	23
Figure 4	28
Figure 5	31
Figure 6	33
Figure 7	36
Figure 8	37
Figure 9	42

--- Axe 1 ---

Figure 10	52
Figure 11	53
Figure 12	54
Figure 13	55
Figure 14	56
Figure 15	75
Figure 16	75
Figure 17	77
Figure 18	98

--- Axe 2 ---

Figure 19	109
Figure 20	134
Figure 21	135
Figure 22	136
Figure 23	138

Figure 24	139
-----------------	-----

--- Axe 3 ---

Figure 25	166
-----------------	-----

Figure 26	168
-----------------	-----

Figure 27	171
-----------------	-----

--- Discussion générale ---

Figure 28	210
-----------------	-----

Figure 29	211
-----------------	-----

Figure 30	215
-----------------	-----

--- Annexes Axe 1---

Figure 31	224
-----------------	-----

Figure 32	225
-----------------	-----

Figure 33	228
-----------------	-----

Figure 34	232
-----------------	-----

Figure 35	233
-----------------	-----

Figure 36	236
-----------------	-----

Figure 37	237
-----------------	-----

Figure 38	240
-----------------	-----

Figure 39	242
-----------------	-----

Figure 40	243
-----------------	-----

Figure 41	244
-----------------	-----

--- Annexes Axe 2 ---

Figure 42	249
-----------------	-----

Figure 43	251
-----------------	-----

--- Annexes Axe 3 ---

Figure 44	256
Figure 45	257
Figure 46	257
Figure 47	258

Remerciements

Cela fait maintenant 5 ans que j'évolue dans l'UMR Save, et je tiens donc tout d'abord à remercier mon directeur de thèse, Dr. *Denis Thiéry*, pour m'avoir offert l'opportunité d'effectuer cette thèse avec une grande autonomie. Merci de penser qu'une thèse est un des moments clés dans la vie d'un scientifique, et se doit d'être une expérience épanouissante. Merci de m'avoir encouragé à créer des collaborations en France et à l'étranger, *via* de nombreux séjours, accueils et congrès scientifiques. Bref, merci pour cette liberté et cette confiance que tu m'as accordé tout au long de mon séjour ici.

Je souhaite également remercier Dr. *Jean-Christophe Sandoz* et Dr. *Yves Le Conte* d'avoir accepté de juger ce travail de thèse, ainsi que Dr. *Christelle Suppo* et Dr. *Mathieu Lihoreau* pour leur participation en tant que membres du jury. Merci également à *Bénédicte Laborie* de Bayer pour m'avoir soutenue et beaucoup appris en gestion de projet et d'équipe.

Mon aventure avec le frelon a démarré avant cette thèse, et je tiens à remercier la « Dream team frelon » pour m'avoir permis de m'y embarquer. Tout d'abord *Olivier*: nos imitations de Golum et Gandalf, les aventures lors de récupération de nids, le ventre de tu sais-qui, les cafés-apiculteurs, tous resteront dans ma mémoire. *Karine*, avec qui j'ai eu la chance de pouvoir continuer de travailler durant ma thèse, pour m'avoir tant appris grâce à ses connaissances très étendues et son humour. Un grand merci également à *Christophe*, qui a su faire germer et cultiver en moi cet aspect « recherche » à partir de ma passion pour l'entomologie, et avec qui j'ai eu grand plaisir à travailler durant cette thèse. Merci également à *Antoine*, dont le passage dans notre labo pendant sa thèse a contribué à mon envie de me lancer dans la mienne, et merci à « ma » super M2 *Salomé*, future reporter scientifique.

Merci à mes co-thésardes et amies *Lucile* et *Aurélia* pour leur soutien dans la joie et dans les coups durs lors de cette thèse. Entre la boîte magique et la chanson du vendredi soir, l'ambiance était parfaite! Merci également aux Post-docs qui ont partagé cette aventure, *Fanny* (et Tilt!), *Ramsès*, *David* et *Yann*. Merci à *Jojo* pour ses délires et sa musique, merci à la chorale *Arthur* et *Delphine* (ma super bad partner) ainsi qu'à *Benjamin* pour leur humour et l'ambiance qu'ils ont su créer au fil du

Remerciements

temps en labo entomo. Merci à ma mauvaise herbe argentine *Rodrigo* pour sa passion et ses connaissances partagées sans mesures. Merci à mon compagnon, *Samuel*, de m'avoir épaulée et soutenue au jour le jour, et supportée malgré le stress ressenti. Merci d'avoir toujours accepté avec compréhension mes horaires et mes soirées chargées. Merci à ma famille d'avoir soutenu une thésarde de plus, avec ces hauts et ces bas, et ce rythme de vie si particulier. Merci à ma grande sœur *Dorothée* et ses précieux conseils pour la rédaction de la thèse. Merci à *Avril* pour avoir relu et corrigé l'anglais de plusieurs manuscrits avec rigueur et grande efficacité !

Merci à l'ensemble des membres temporaires ou permanents de l'UMR SAVE avec lesquels j'ai eu le plaisir de travailler ou simplement d'échanger à travers mes missions (CDD's) et ma thèse: *Gilou* et *Isa* (entre belotte et pathologie végétale), *Pascale* (merci pour ton enthousiasme communicatif), *Jérôme*, *Domi* (merci pour ta pédagogie et ton énergie), *Jean* (Merci d'être venu m'apporter du matériel sur le terrain pour une manip à 19h30), *Jess*, *Carlos* (mon padawan de bad), *Awatef*, *Amira*, *Rana* (merci les filles pour votre bonne humeur et les pâtisseries tunisiennes régulièrement partagées en salle café !), *Chloé* et *Anthony* (toujours avec le sourire), *Jonathan*, *Fred* et *Adrien* (Merci pour votre humour et votre accessibilité), *Sonia* et *Marie-Christine* (merci de vous être rendues disponibles même dans des moments compliqués), *Sly*, *Marie-Momo* (te souviens-tu de la chasse aux frelons dans les bananiers de ton jardin ?), *Lionel Dr.* , *Lionel De.* (bon courage pour ta thèse), *Pierre*, *Laurent*, *Jean-Marc* (merci particulier pour un sac égaré tu sais où). Merci à *Christian* notre menuisier aux mains d'or de m'avoir permis de réaliser certains systèmes expérimentaux avec gentillesse et grand professionnalisme. Et enfin un merci particulier à celle sans qui je n'aurais probablement jamais mis les pieds à l'UMR SAVE à l'origine, *Daciana*, ma tutrice lors de mes études à BSA. Merci également à la « Team bad » (*Angé*, la coupe bad INRA 2017 restera dans les annales !) et au club dessin (*Suzann* et *Esmé*) où j'ai eu la chance de passer du temps.

I also want to thank the whole « Firenze team » that I met in Italia, *Ale*, *Rita* and *Fede*, but also the beekeepers I worked with during the field work for queens collection, especially *Anna*, *Fabrizio* and *Nuccio*.

Remerciements

Merci à mes amis de l'agro d'avoir agrémente cette étape de ma vie de leurs passages et de moments forts ensemble, et merci à *René* pour ton soutien sans faille et tes conseils.

INTRODUCTION GENERALE



INTRODUCTION GENERALE

L'objectif de ces travaux de recherche est **d'approfondir notre compréhension des colonies de *Vespa velutina*, allant de leur initiation (Axe 1) jusqu'à leur fonctionnement global (Axe 2), avec comme but final le développement de stratégies de lutte axées sur la perturbation de la colonie adaptées et durables (Axe 3)**. La biologie et l'écologie de *V. velutina* ont été synthétisées dans les travaux de [Monceau et al. 2014a](#), et nous allons dans cette introduction mettre l'accent sur certains aspects d'intérêts pour la compréhension des différents axes traités dans cette thèse. Cette introduction traitera tout d'abord de l'invasion de *V. velutina* en Europe, puis de sa biologie, des moyens de luttés actuels, pour finir sur les hypothèses de recherches et objectifs de cette thèse. Cette thèse sur articles est divisée en trois axes articulés autour du contexte bibliographique et des résultats associés aux articles scientifiques qui les illustrent. Chaque axe contiendra des annexes regroupant les expériences préliminaires et complémentaires non publiées dans les articles.

Introduction générale

- *Vespa velutina*, un prédateur invasif d'abeilles
 - Biologie de *V. velutina*
- Etat des lieux des moyens de lutte contre *V. velutina*
 - Objectifs et structure de la thèse

AXE 1 : Biologie de la reproduction chez *V. velutina*

Physiologie des mâles

- Généralités sur les mâles
- Organisation du tractus reproducteur
- Structure des testicules et spermatogenèse
- Production de mâles précoces

Article 1 : Delayed sexual maturity in males of *Vespa velutina*. *Publié dans Insect Science*

Physiologie des fondatrices

- Généralités sur les fondatrices
- Organisation du tractus reproducteur
- Comparaisons interspécifiques

Article 2 : Compared reproductive traits of foundresses in a native and an invasive hornet in Europe. *Soumis à Journal of Insect Physiology*

- Spatial sorting chez *V. velutina* ?

Annexe 1.1 compromis entre traits dispersifs et reproductifs chez les fondatrices de *V. velutina* entre la Bretagne, l'Italie et le Bordelais

Annexe 1.2 Projet EUOFRELON : évaluation d'une potentielle sélection spatiale chez *V. velutina* en Europe

La reproduction chez *V. velutina*

- La reproduction chez les hyménoptères
- Etude de la reproduction chez *V. velutina*

Annexe 1.3 La reproduction chez *V. velutina*

AXE 2 : De la collecte à l'utilisation des ressources par les colonies de *Vespa velutina*

Nutrition de *V. velutina* et biologie des nids

- Nutrition des imagos
- Tester le degré de spécialisation des ouvrières de *V.*

Annexe 2.1 Evaluation de la spécialisation pour la collecte d'un type de nourriture chez les ouvrières de *Vespa velutina*.

- Nutrition de la colonie

Article 3 : Studying the food distribution in *Vespa velutina* nests using heavy metals. *In prep.*

Rayon d'action de *Vespa velutina* autour de son nid

- Rayon d'action et capacité de retour au nid
- Techniques d'enregistrement et d'analyse des déplacements d'insectes
- Application de la technique du RFID à *V. velutina*

Article 4 : Homing behaviour in an invasive honeybee predator. *Soumis à Journal of Pest Science*

AXE 3 : Vers un biocontrôle des colonies de *Vespa velutina* ?

Lutte biologique
La technique du Cheval de Troie

Biocontrôle d'adultes de *V. velutina* par des entomopathogènes

Article 5 : *Beauveria* and *Metarhizium* isolates as potential biological control agents against the invasive hornet *Vespa velutina*. *Soumis à Journal of Invertebrate Pathology.*

Description d'une souche de *B. bassiana* naturellement parasite de *V. velutina* en France.

Shortnote: Description of a strain of *Beauveria b.* naturally parasitizing the bee predator *Vespa velutina* in France. *In prep*

Annexe 3.1 Evaluation de l'efficacité de molécules insecticides et de champignons entomopathogènes sur les larves de *V. velutina*

1 *Vespa velutina* var. *nigrithorax*, un prédateur invasif d'abeilles

1.1 *Vespidae* et invasions

Le monde observe, depuis un siècle, une augmentation très importante de la fréquence des invasions biologiques, entraînant un nombre croissant de déséquilibres écologiques, sanitaires, et par conséquent agronomiques (Vitousek *et al.* 1997, Mooney & Cleland 2001, Van der Velde *et al.* 2006). Une espèce est considérée comme invasive, quand une fois introduite dans son nouvel écosystème, elle est sujette à une explosion démographique et une forte dispersion (Williamson 1996, Mack *et al.* 2000, Allendorf & Lundquist 2003). Mais pour d'autres spécialistes, une espèce ne rentre dans cette catégorie que si elle inflige des dégâts au sein des écosystèmes, impactant l'économie ou la santé humaine (UICN, 2009). Une invasion biologique est caractérisée par plusieurs étapes : premièrement, **l'introduction**, lorsqu'un ou plusieurs individus d'une espèce sont transportés hors de leur aire d'origine, le plus souvent par l'Homme (volontairement ou involontairement). Deuxièmement, **l'établissement** : l'espèce va alors devoir être capable de s'établir, *i.e.* de se développer de manière à créer une population viable sur le long terme. Une fois l'espèce établie, elle rentrera dans la dernière phase, après un temps de **latence** plus ou moins long suivant les espèces et les environnements, **la propagation**. Les populations pullulent alors, se dispersent et colonisent de nouveaux territoires. Le coût des invasions biologiques est loin d'être négligeable, que cela soit d'un point de vue environnemental mais également financier (Vitousek *et al.* 1997, Chapin *et al.* 2000, Simberloff *et al.* 2013). Par exemple, une étude de Bradshaw *et al.* (2016) estime un cout total de 70.0 milliards de dollars par an pour les seuls insectes invasifs dans le monde. Ce phénomène serait favorisé par de nombreux facteurs environnementaux, comme entre autre le réchauffement climatique, l'augmentation de la densité de population humaine et l'intensification des échanges commerciaux et touristiques internationaux avec la mondialisation (Garnas *et al.* 2016, Courchamp *et al.* 2017). L'étude des organismes invasifs est donc un challenge scientifique de premier ordre (Simberloff *et al.* 2013).

Les hyménoptères sociaux font partie des envahisseurs biologiques les plus fréquents. Leur sociabilité leur procure en effet de nombreux atouts pour potentiellement réussir à envahir de nouveaux territoires (Moller 1996, Holway *et al.* 1998, 1999): une forte adaptabilité, une grande force d'exploration, une mutualisation des ressources efficace, une répartition des tâches parfois poussée à l'extrême avec des cas de polymorphismes suivant les rôles (par exemple chez certaines fourmis), une hygiène et des stratégies de désinfection de la colonie optimisées (immunité sociale) (Cremer *et al.* 2007), une fertilité très élevée et enfin une production de très nombreux reproducteurs souvent capables de dispersion (Pamilo 1991, Chapman & Bourke 2001). Le succès de l'établissement de tels insectes dans de nouveaux environnements dépend donc essentiellement de la capacité d'une fondatrice à survivre lors de son transport dans une nouvelle région, à s'acclimater afin de réussir à trouver les éléments nécessaires à l'initiation de sa colonie (matériaux de construction, nourriture, eau), et de finir son cycle biologique, *i.e.* produire de nouveaux reproducteurs fertiles (Moller 1996).

Les *Vespidae* sont la plupart du temps des prédateurs généralistes, capables de faire varier leur bol alimentaire suivant l'abondance de certaines espèces de proies, le cycle des saisons et d'une année sur l'autre (Spradbery 1973, Harris 1991). De ce fait, ils possèdent une plasticité élevée leur permettant une adaptation facile à un nouvel environnement (Richter 2000) (pour plus de détails sur l'alimentation de *V. velutina*, voir l'axe 2). Les *Vespidae* collectent à la fois des ressources carbonées (nectar, miellat) et protéiques (insectes, cadavres) (Spradbery 1973, Richter 2000) ; ils entrent donc en compétition directe et indirecte avec de nombreuses espèces de vertébrés (oiseaux en particulier) et d'arthropodes (Beggs & Wilson 1991, Moller *et al.* 1990, Toft & Rees 1998, Beggs & Rees 1999, Beggs 2001). Les insectes sociaux invasifs peuvent ainsi être une menace pour leur environnement d'accueil, en causant des changements dans sa composition (Howarth 1985, Wojcik 1994, Moller 1996, Beggs 2001), mais également en créant des effets 'boules de neige', *i.e.* des cascades d'impacts, sur de nombreux processus écologiques (Beggs 2001). Par exemple en Nouvelle Zélande, les invasions des forêts par *Vespula germanica* et *V. vulgaris* ont entraîné des effets néfastes sur la biodiversité directement (prédation de nombreux arthropodes), mais surtout indirectement : leur consommation de miellat dans des quantités très importantes (Moller & Tilley 1989) ont évincé de ces

milieux les consommateurs natifs de miellat (oiseaux, insectes) qui se sont alors trouvés en compétition pour cette ressource. Des conséquences indirectes insoupçonnées en ont découlé : la modification de la répartition des ressources nutritives a induit une perturbation du cycle de l'Azote, provoquant une modification de la composition du sol, des communautés microbiennes et par la suite de la végétation native elle-même (Beggs 2001).

La famille des *Vespidae* regroupe de nombreux cas d'invasions biologiques (Cervo *et al.* 2000, Beggs *et al.* 2011): *Vespa orientalis* (Linnaeus 1771) en Amérique du sud (Dvorak 2006), les guêpes *Vespula* (yellowjacket wasps) en Amérique du nord (Jacobson *et al.* 1978), au Mexique (Eck 1993), et au Honduras (Hunt *et al.* 2001). La Nouvelle Zélande a été envahie à la fois par *V. germanica*, *V. vulgaris* et *Polistes chinensis antennalis* (Harris 1979, Harris 1991, Clapperton *et al.* 1996, Beggs 2001). Le frelon européen *V. crabro* est également un bon exemple de *Vespidae* invasif: il présente une aire de répartition naturelle très étendue, allant de l'ouest de l'Europe tempérée jusqu'à l'Est de l'Asie (Carpenter & Kojima 1997), et a été introduit volontairement à l'Est de l'Amérique du nord au milieu du 19^{ème} siècle, et s'y est maintenant bien établi (Shaw & Weidhaus 1956). *V. crabro* aurait également été introduit aux alentours de 2005 au Guatemala, mais il ne semblerait pas s'y être établi (Landolt *et al.* 2010).

1.2 Introduction de *V. velutina* en Europe

Vespa velutina (Lepelletier 1836) (Figure 1) est un insecte de l'ordre des Hyménoptères et de la famille de *Vespidae*, qui comprend au moins 12 sous-espèces en Asie (Villemant *et al.* 2011). La sous-espèce *V. velutina* var. *nigrithorax* (Du Buisson 1905) est considérée originaire de régions tempérées d'Asie du Sud-Est, entre le Cachemire, le Bhoutan et la Chine. Mesurant 17 à 32mm de long, le corps de cet insecte est brun-noir, avec des fins liserés jaunes sur les segments abdominaux, et le 4^{ème} segment entièrement jaune-orangé. Ses pattes ont les extrémités jaunes, d'où son nom commun de « frelon asiatique à pattes jaunes ». La tête et les antennes sont noires, et sa face est orangée (Figure 1).



Figure 1 : Ouvrière (A, photo K. Monceau) et mâle (B, photo N. Hénon) de *Vespa velutina* var. *nigrithorax*. Le mâle venant d'émerger, ses soies sont encore argentées : elles noirciront en 48h.

Le premier nid de *V. velutina* var. *nigrithorax* en Europe a été découvert en 2004, dans le Lot et Garonne près de Villeneuve lès Agen (France) (Rortais *et al.* 2010). Des études génétiques grâce à des marqueurs moléculaires microsatellites ont permis de mettre en évidence qu'un seul événement d'introduction était le plus probable, celui d'une reine fécondée par 5 mâles (Arca *et al.* 2015). Cette reine présentait un fort taux d'analogies génétiques avec des individus de l'Est de la Chine (Arca 2012a,b, Arca *et al.* 2015). De nombreux leviers de connaissance autour de la biologie des reproducteurs seront étudiés dans l'Axe 1 de ces travaux.

Depuis son introduction, *Vespa velutina* est invasif dans plusieurs pays d'Europe (Figure 2) : en France (Rortais *et al.* 2010, Monceau *et al.* 2014a), en Belgique (Rome *et al.* 2013), en Italie (Demichelis *et al.* 2013, Porporato *et al.* 2014), en Espagne (López *et al.* 2011), au Portugal (Grosso-Silva & Maia 2012), et en Allemagne (Witt 2015). A l'Automne 2016 il a été observé en Angleterre (Keeling *et al.* 2017) et en Ecosse au printemps 2017 (P. Kennedy, pers. Com). Son aire de répartition évolue également en Asie puisqu'il est maintenant invasif en Corée (Choi *et al.* 2012), ainsi qu'au Japon (Ueno 2015).

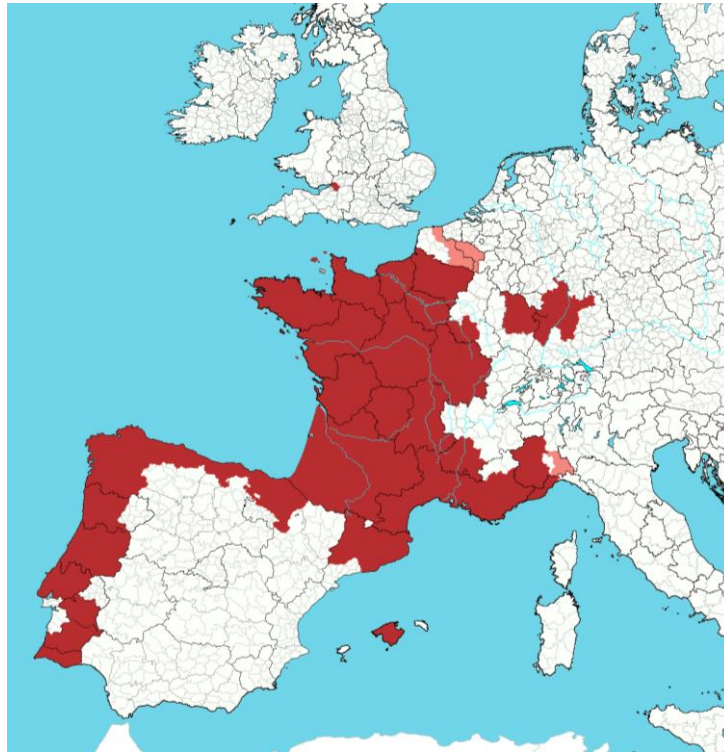


Figure 2 : Aire de répartition de *V. velutina* en Europe (Source Kick Off European meeting *Vespa velutina* Coloss 2016, LIFE VESPA)

Les nids de *V. velutina* sont fixes, et la dispersion de cette espèce repose donc sur les capacités de dispersion des fondatrices : elles peuvent se déplacer soit à l'Automne lorsque qu'elles quittent leur nid pour trouver un site d'hivernation, soit au printemps pour trouver un site de nidification propice au développement de leur colonie ([plus de détails sur la biologie des colonies en 2 et Axe 2](#)). Des modélisations spatiales ont été effectuées quant à la dispersion de *V. velutina* en Europe, et il semblerait que (1) *V. velutina* envahisse des zones climatiquement proches de celles de son aire de répartition initiale ([Villemant et al. 2011](#), [Barbet-Massin et al. 2013](#)) ; (2) sa distribution dépende en grande partie de la présence d'axes routiers ([Goldarazena et al. 2015](#)), ce qui impliquerait des possibilités de transport passif par des véhicules, ou la facilitation de migration des fondatrices le long de ces « landmarks » directionnels (hypothèse également formulée dans [Monceau et al. 2014a](#)). Une part mineure de dispersion serait également liée à la présence du réseau d'eau douce ([Bessa et al. 2016](#)); (3) A une échelle plus locale, des études récentes de [Monceau & Thiéry 2017](#) ont montré une agrégation des colonies près de sites riches en sources de nourriture et d'eau continue dans le temps (villes, déchetteries, campings, étals de marchés, etc), ressources qui sont, outre les fibres végétales

utilisées pour la construction du nid, les seuls besoins d'une fondatrice au printemps.¹ Dans l'Axe 1, nous discuterons de capacités de dispersion des fondatrices en Europe, en explorant la possibilité d'une évolution morphologique de ces dernières, suivant l'hypothèse évolutive du **Spatial sorting**².

1.3 Impact de l'invasion de *V. velutina* en Europe

Les frelons sont des prédateurs généralistes d'arthropodes, connus pour être parfois des prédateurs d'autres espèces d'insectes sociaux, plusieurs espèces s'attaquant à des guêpes et des abeilles, prélevant adultes, larves, pupes et réserves glucidiques (miel) de leur nids (Matsuura & Yamane 1990).

1.3.1 Impact de *V. velutina* sur les abeilles domestiques

Vespa velutina favorise la chasse de l'abeille domestique européenne *Apis mellifera* si cette dernière est présente dans son environnement (Tan *et al.* 2007, 2010). Agiles, les ouvrières de *V. velutina* prélèvent des abeilles butineuses devant les ruches (Figure 3.A), souvent à plusieurs (Abrol 1994, Monceau *et al.* 2013b, c). La pression exercée par les ouvrières de *V. velutina* sur les ruchers augmentera de plus en plus tout au long de l'été, pour en automne atteindre un pic de prédation (en général de fin juillet à fin septembre) (Monceau *et al.* 2013b). Les frelons vont ensuite tenter de rentrer dans les ruches, alors affaiblies, pour tenter de piller les stocks de miel (Figure 3.B). Les ruches vigoureuses avec de fortes populations d'abeilles sont toutefois des ressources dangereuses à exploiter pour les frelons, du fait qu'elles se défendent. Leur prédation n'aura alors lieu que lorsque les

¹ Les fondatrices n'ont jusque maintenant jamais été observées attaquant les abeilles devant les ruches, (chasse trop risquée) les ruches n'ont donc aucune raison de structurer spatialement la distribution des nids.

² Spatial sorting : hypothèse évolutive qui postule qu'une population d'organismes en extension accumule certains traits associés à la dispersion et à l'exploration sur les marges de son aire de répartition.

populations de frelons sont suffisamment résilientes pour compenser les pertes collatérales, en fin d'été (Monceau *et al.* 2013b).

Vespa velutina ne pose que rarement problème dans son aire d'origine, *i.e.* l'Est de la Chine, car premièrement elle y cohabite avec 22 autres espèces de frelons, dont une espèce entre autres prédatrice de frelons, *Vespa mandarinia*, et deuxièmement car *Apis cerana*, l'abeille asiatique, a développé des comportements de défense efficaces contre *V. velutina* (Tan *et al.* 2012). Cependant, l'abeille européenne *Apis mellifera*, introduite volontairement en Asie au siècle dernier pour ses meilleurs rendements et son meilleur caractère, est très touchée par ce prédateur (Matsuura 1988). Que cela soit en Europe ou en Asie, *A. mellifera* n'arrive pas à développer de comportement de défense efficace face à ce prédateur (Matsuura 1988, Arca *et al.* 2014). Il est vrai que nos abeilles domestiques ont été sélectionnées depuis des centaines d'années pour leur douceur et leur productivité, mais peu sur leur résistance (Oldroyd 2007).



Figure 3 : A. Ouvrière de *V. velutina* en vol stationnaire devant une ruche en début de saison, les abeilles européennes stressées forment un tapis sur la planche d'envol de celle-ci (Photo, K. Monceau). B. Ouvrières de *V. velutina* en chasse devant une ruche et agrégées en grand nombre sur la planche d'envol de celle-ci, presque vide en fin de saison (Photo, F. Meignaud).

Le prélèvement intensif d'abeilles par les chasseuses de *V. velutina* est un stress important pour les colonies d'abeilles (Tan *et al.* 2007, Monceau *et al.* 2013b), qui limitent alors le butinage pour tenter de protéger leurs ruches (comportement de tapis, Figure 3.A). Ce stress dans la période critique de préparation de l'hibernation implique une baisse des réserves de la colonie d'abeilles. Cette situation peut provoquer la mort de la colonie affaiblie pendant l'hiver, son attaque par des parasites secondaires (par exemple par la fausse teigne *Galleria mellonella*) ou son essaimage tardif (Matsuura

1988, Monceau *et al.* 2014a). Si l'attaque de *V. velutina* atteint un stade de pillage, *i.e.* quand les frelons réussissent à percer les défenses de la ruche et pénétrer dans son enceinte, la colonie d'abeille est alors condamnée (Figure 3.B). Lors de l'ouverture de la ruche, on remarquera alors la cire « mâchée » par les frelons pour y collecter du miel. Les abeilles sont soumises actuellement à de nombreuses pressions, que cela soit par la baisse de qualité et de quantité des ressources alimentaires, la destruction des habitats, la pollution, les résidus de produits phytopharmaceutiques, les maladies émergentes (virus, noséma) transmis par des parasites (ex : *Varroa destructor*), des pratiques apicoles parfois trop intensives (déplacement, récolte) (Brown & Paxton 2009, Cameron *et al.* 2011, Bommarco *et al.* 2012, Goulson *et al.* 2015) ; la menace que représente la présence de *V. velutina* dans ce contexte est donc loin d'être négligeable, et devient critique lorsqu'elle se rajoute à ces nombreux facteurs de dépérissement des colonies .

Le réel impact de *V. velutina* sur les ruchers n'est toutefois pas encore clairement mesuré. Il est en effet compliqué d'évaluer l'impact individuel de chaque facteur impliqué dans la survie des colonies d'abeille (Goulson *et al.* 2015). De plus, les ruchers les plus impactés ne sont pas les ruchers professionnels, souvent nomades ou faciles à déplacer suivant les variations environnementales, mais bien les petits ruchers sédentaires des apiculteurs amateurs, moins facilement contrôlables. Les travaux de thèse d'A. Fournier (*in prep.*) portant sur l'évaluation de l'impact de cette invasion sur les ruchers par le biais de modèles sociaux économiques, devraient apporter des éléments de réponses sur ce sujet. De plus, l'application smartphone ANIMALIA, projet de science participative lancé en 2015 en partenariat avec l'Université de Florence, aura pour objectif de chiffrer et de mesurer la prédation des frelons asiatiques par un maximum d'apiculteurs, professionnels et amateurs ([plus d'informations sur ce sujet en discussion](#)).

1.3.2 Impact de *V. velutina* sur l'environnement

Premièrement, les **prédateurs** sont des espèces dites « clé de voûte » en écologie³ (Mills *et al.* 1993), ce qui implique que leur ajout ou leur suppression d'un écosystème entraîne de nombreux déséquilibres sur les communautés liées à cette prédation, directement ou indirectement (Paine 1966). *V. velutina* est un prédateur généraliste : il s'attaque à différentes espèces d'abeilles sauvages ainsi que des bourdons (Monceau & Thiéry, *per. Obs.*), mais également à de nombreux autres arthropodes (diptères, lépidoptères en majorité, et autres hyménoptères, Beggs *et al.* 2011). L'impact de *V. velutina* sur l'entomo-biodiversité est donc évident (Snyder and Evans, 2006), même si très peu mesuré, et il a été jusque-là sous-estimé. Certains cas de prédation sur des oisillons au printemps ont également été recensés (Ligue pour la Protection des Oiseaux, *pers. Com.*), un comportement similaire a été observé en Nouvelle Zélande par les espèces de guêpes invasives *Vespula germanica* & *V. vulgaris* (Moller 1990). La pullulation de *V. velutina* en Europe est une menace de grande importance pour les pollinisateurs, et donc pour la biodiversité européenne en général.

Deuxièmement, l'introduction de *V. velutina* pourrait avoir un effet de **compétition** avec d'autres espèces situées dans une niche écologique proche. En Europe ne se trouve qu'une seule autre espèce de frelon, le frelon Européen *V. crabro* (Archer 1994). Ce frelon est considéré par beaucoup comme étant un auxiliaire de culture, menacé et donc protégé dans certains pays d'Europe, comme en Allemagne (Erlandson 1988). Les colonies de *V. crabro* sont plus petites que celles de *V. velutina*, environ 1000 individus produits contre 6000 à 15 000 respectivement (Nadolski 2012, Villemant *et al.* 2011, Rome *et al.* 2011). *V. velutina* est également invasif en Corée (Kim *et al.* 2006), où il a progressivement remplacé toutes les autres espèces de frelons (9 autres espèces) en zones urbaines (Choi *et al.* 2012). La compétition entre *V. crabro* et *V. velutina* en Europe a été évaluée comme étant non négligeable entre autre dans des zones de transition entre milieu rural et urbain, où les deux espèces se retrouvent (Monceau *et al.* 2015a). *V. crabro* positionne ses nids dans des sites fermés, et *V.*

³ Espèce clé de voûte : Espèce dont la disparition compromettrait la structure et le fonctionnement d'un écosystème. Elle est caractérisée par la qualité, le nombre et l'importance des liens entretenus avec cet écosystème.

velutina dans des endroits à la fois ouverts et fermés. Les fondatrices de *V. velutina* sont plus performantes pour différents comportements liés à l'initiation des colonies, comme l'exploration, l'intrépidité et l'agressivité (Monceau *et al.* 2015b). Dans l'Axe 1, nous allons donc comparer certains traits reproductifs entre les fondatrices de ces deux espèces, afin d'évaluer la part de ces paramètres dans cette compétition interspécifique.

Aucun cas d'hybridation avec *V. crabro* n'a été signalé suite à l'invasion de *V. velutina*, mais même s'il est très peu probable, ce risque pourrait exister suite à l'évolution potentielle de cet insecte invasif dans son aire d'introduction (Bermond 2014). De plus, *V. velutina* aurait pu être vecteur de parasites et de maladies d'Asie, qui auraient pu avoir de graves conséquences sur les vespides de son aire d'introduction. A l'inverse, *V. velutina* semble profiter d'un temps de répit dans « la course à l'adaptation »⁴ avec les parasites et les maladies Européenne, ce qui pourrait expliquer en partie sa pullulation actuelle (Torchin *et al.* 2003). Dans l'Axe 3 nous explorons cet aspect avec la recherche d'agents de biocontrôle entomopathogènes natifs.

⁴ **Hypothèse de la reine rouge** : les espèces sont en perpétuelle évolution pour leur survie, suite aux évolutions des communautés d'espèces avec lesquelles elles coévoluent (van Valen 1973)

2 Biologie de *Vespa velutina*

2.1 Cycle de développement

Les frelons sont des insectes eusociaux⁵ qui peuvent avoir des cycles de développement allant de 4 mois (*V. tropica* par exemple) à 8 mois (*V. simillima* par exemple) : *V. velutina* se trouve dans la dernière catégorie, son cycle allant de Mars à Novembre en Europe (Figure 4.A). Bien que le potentiel invasif des *Vespidae* et des frelons soit connu depuis longtemps (Spradbery 1973), on peut être surpris par la disproportion entre les capacités invasives de *V. velutina* et le peu de connaissances actuelles sur la biologie et l'écologie de cette espèce.

2.1.1 Pré-émergence, période solitaire

Après une courte période d'alimentation, (sève, nectar, miellat), de durée inconnue chez *V. velutina*, la future fondatrice va partir plus ou moins loin de son site d'hibernation suivant les espèces, pour chercher un site où installer son nid (cette distance est encore inconnue chez, *V. velutina*, mais chez certaines espèces, on observe même une migration des reines sur plusieurs dizaines de km). La période de recherche de site de nidification se fait de fin Avril à début juin suivant les espèces de frelons (Matsuura & Yamane 1990), et *V. velutina* semblerait être plutôt précoce (Figure 4.A). Les ovaires de la future reine effectuent leur maturation durant cette période, pour lui permettre de pondre ses œufs une fois son site de nidification trouvé (chez *V. mandarinia* : Makino 2016). Nous avons approfondi cette question en comparant l'évolution de la maturation ovarienne des reines de *V. velutina* à celle de *V. crabro* durant cette période dans l'Axe 1.

⁵ Eusocialité = coopération entre les adultes pour prendre soin des jeunes, division du travail selon le statut reproducteur dans la colonie (différentiation entre reproducteurs (reines) et individus plus ou moins stériles (ouvrières)), coexistence de 2 générations d'adultes ou plus au travail de la colonie (Wilson 1971, Oster & Wilson 1978).

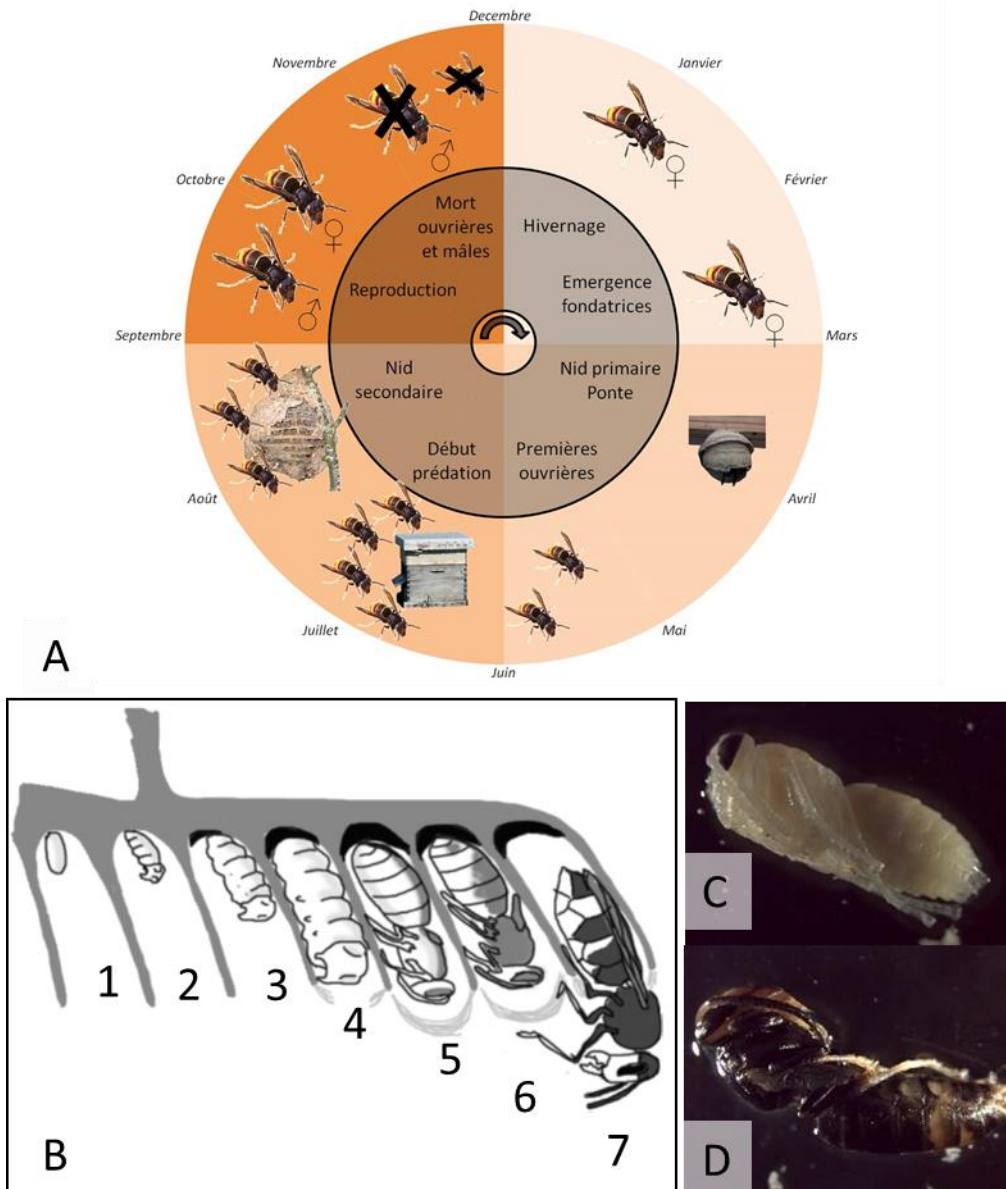


Figure 4 : A : cycle de développement de *Vespa velutina*. (Source : INRA, K. Monceau, D. Thiéry). B : Les différents stades de développement du frelon (environ 4-5 semaines de l'œuf à l'adulte): œuf (1), larves (2-3-4), nymphes (5-6) et imago (7) (Dessins, J. Poidatz). C : puppe blanche et D : puppe mélanisée (Photo, J. Poidatz).

La future reine de frelon fonde seule une colonie (haplométrie), construisant un nid primaire dans lequel elle pond ses œufs et élève ses premières larves d'ouvrières. Lors de l'initiation de la colonie, la reine se charge de toutes les activités : ponte, construction et défense du nid, collecte de ressources à la fois pour bâtir son nid, pour nourrir ses larves et se nourrir elle-même. Les larves de frelons se maintiennent dans les galettes du nid grâce à des bourrelets différenciés sur leur corps (pour plus de

détails sur la morphologie des larves de *Vespidae*, voir [Yamane 1976](#)). Une fois leur taille maximum atteinte, environ 3 semaines après la ponte à 28°C ([J. Poidatz, pers obs.](#)), ces larves tissent un couvercle de soie au-dessus de leur tête pour ensuite commencer leur métamorphose ([Figure 4.B](#)). Les nymphes sont tout d'abord de couleur crème comme les larves, puis les pattes se différencient, les bourgeons alaires se développent et la cuticule se colore ([Figure 4.C, D](#)). Enfin, l'imago⁶ grignote le couvercle de sa cellule et émerge, parfois aidé par d'autres ouvrières. La métamorphose dure généralement deux semaines chez les frelons ([Martin 1991](#)), et nos observations préliminaires à 30°C en laboratoire ont confirmé ce chiffre chez *V. velutina* ([J. Poidatz pers obs.](#)).

2.1.2 Période coopérative

Cette période s'étend de l'émergence des premières ouvrières, jusqu'à la cessation complète d'activités extra-nidales de la reine (environ 3 mois). En effet, le rôle de cette dernière va évoluer avec la croissance de la colonie. Chez les cinq espèces de frelons étudiés par [Matsuura & Yamane 1990](#) (*V. Crabro*, *V. mandarinia*, *V. simillima*, *V. tropica* & *V. analis*), le degré de division du travail entre reines et ouvrières, une fois celles-ci émergées, varie avec la taille de leurs colonies. Plus la colonie est peuplée, plus la reine laissera vite la main aux ouvrières pour la collecte de ressource, pour ne se consacrer essentiellement qu'à la ponte (20 à 40 jours après émergence des ouvrières). On ne connaît pour le moment pas ces informations concernant *V. velutina*. Pendant cette période de croissance lente de la colonie, la reine peut pondre à nouveau dans les mêmes cellules une voir deux fois. L'organisation du couvain chez les frelons se fait en cercles concentriques de même stades, liés à la dynamique de développement des individus, et à celle de ponte de la reine ([Makino & Yamane 1997](#), [Martin 1991](#)). Parfois, dans le cas de manque de place, de nourriture ou d'eau, la colonie pourra déménager dans un nid secondaire, localisé dans un site plus propice à son développement ([Matsuura 1991](#)).

⁶ Imago = adulte chez les insectes

2.1.3 Période polyéthique de développement

Cette période de développement est caractérisée par une forte augmentation du nombre d'ouvrières et de la taille de la colonie, ainsi qu'une totale séparation des activités entre la reine (ponte) et les ouvrières (collecte de ressource, entretien de la colonie). Suite au fort agrandissement du nid, la reine ne fait plus que pondre, et ne participe plus aux activités extra-nidales. Elle n'a plus le temps de remplir les anciennes cellules, et se concentre alors à pondre dans les nouveaux étages (ex [Martin 1992](#) sur *Vespa affinis*). Dans ce dernier tiers du cycle de la colonie, des cellules plus larges sont en théorie construites, pour y élever des mâles et des nouvelles reines. Chez *V. velutina*, les reines, mâles et ouvrières sont de tailles très similaires en fin d'Automne ([Perrard et al. 2012](#)), et la taille des cellules n'a pour l'instant pas encore été mise en relation avec la caste.

2.1.4 Période reproductive

Durant cette période finale, la fondatrice meurt, les individus sexués émergent, se font nourrir par les ouvrières et consomment des exsudats larvaires, puis quittent le nid pour se reproduire. Les conditions et caractéristiques de ce comportement reproductif chez *V. velutina* sont encore inconnues, et nous allons tenter d'enrichir ce domaine de connaissance dans l'**Axe 1.3**. Le reste de la colonie périclète ensuite rapidement (de septembre à novembre). Ne recevant plus la nourriture des ouvrières, trop occupées à nourrir les reproducteurs, et voyant leurs sécrétions salivaires exploitées par ces derniers, les dernières larves sont prostrées et meurent peu à peu ([Spradbery 1978](#), [Matsuura 1991](#)). Les modalités de distribution de nourriture au sein des colonies suivant leur structure sociale sont des éléments primordiaux pour la compréhension de la biologie des colonies, et restent peu connues chez les frelons de manière générale : ce sera l'objet d'une importante partie de l'**Axe 2** de ces travaux de thèse.

Seules les jeunes reines hibernent, souvent dans des souches de bois mort, dans le sol ou autre refuge, jusqu'au printemps suivant. Le reste des individus de la colonie périclètera en cette période, plus ou moins rapidement suivant le climat et l'abondance de ressources disponibles pour leur survie.

2.2 Généralités sur les reproducteurs chez *V. velutina*

Les femelles de *V. velutina* se distinguent assez facilement des mâles grâce à un dimorphisme chez cette espèce au niveau (1) de l'abdomen : extrémité de l'abdomen pointu et brun, pourvu d'un dard chez les femelles (Figure 5.C), plus carré et agrémenté de deux petites tâches jaunes sur la face ventrale du dernier tergite chez le mâle (Figure 5.B), (2) des antennes : plus longues d'un segment chez les mâles (Edwards 1980) (Figure 5.A), (3) des ailes : plus étroites chez les mâles et avec une nervation proche entre mâles et ouvrières, distincte de celle des reines (Perrard 2012). Les mâles de frelons en général n'ont été que peu étudiés dans la littérature. Leur fertilité et leur maturation sexuelle sont des domaines de connaissance que nous nous attacherons à traiter dans l'Axe 1 et dans l'Article 1.

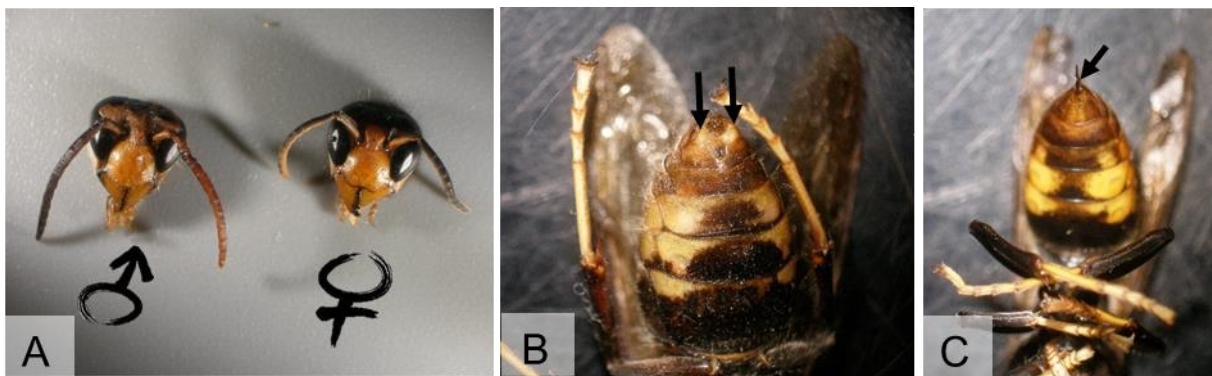


Figure 5 : Dimorphisme sexuel chez *Vespa velutina*. A : têtes de mâle (gauche) et d'ouvrière (droite) de *V. velutina*. B : vue ventrale de l'abdomen d'un mâle de *V. velutina*. Les flèches indiquent l'emplacement des deux petites tâches caractéristiques chez ce sexe. C : vue ventrale de l'abdomen d'une ouvrière de *V. velutina*. L'abdomen est pointu et ici le dard est visible (flèche). (Photos J. Poidatz).

Les critères de poids et de taille ne sont pas suffisamment fiables pour distinguer ouvrières et reine, à cause du polymorphisme inter individuel parfois important. La taille moyenne des individus augmente tout au long de l'année (Perrard *et al.* 2012). A l'automne, seules des différences au niveau des proportions de certaines longueurs de nervures alaires permettent alors de distinguer les gynes (nouvelles reines) des ouvrières (Perrard 2012). Le poids avant hibernation ne peut être qu'un facteur

indicatif pour discriminer gynes⁷ et ouvrières en comparaison avec les autres individus de la même colonie, avec un petit recouvrement (Rome *et al.* 2015). Reines et ouvrières possèdent des ovaires avec un nombre similaire d'ovarioles, ainsi qu'une spermathèque (voir Axe 1 pour plus de détails). La présence d'œufs dans les ovaires en fin d'automne n'est pas non plus un critère de caste : les reines mères sont pour la plupart mortes à ce moment, permettant à certaines ouvrières de leur colonie de développer leurs ovaires (Spradbery 1973), et de pondre des œufs non fécondés (haploïdes), qui pourront donner naissance à des mâles (Foster & Ratnieks 2000).

Cependant, on peut différencier les futures reines des ouvrières par leur masse adipeuse abdominale. En effet, une forte quantité de corps gras dans l'abdomen à l'automne est caractéristique d'une femelle potentiellement reproductrice et prête pour l'hibernation.

2.3 Le nid de *V. velutina*

Comme chez la plupart des frelons, les nids de *V. velutina* sont constitués de pâte de bois mâchée (Nakamura & Sonthichai 2004). La fondatrice construit son nid primaire en commençant par le pédicelle de fixation, puis une douzaine de cellules sur une première galette (que l'on retrouvera donc en haut du nid mature), qu'elle entoure ensuite d'une enveloppe extérieure sphérique (Figure 6.A,B). Avec l'émergence des ouvrières, le nid sera agrandi et renforcé. Le nid de *V. velutina* est fermé, avec seulement une entrée étroite située d'abord sous le nid puis rapidement sur le côté du nid, contrairement à celui de *V. crabro* dont l'entrée est très large et se situe sous le nid tout au long de son cycle. Un nid mature en fin de cycle contient en moyenne 8 galettes de diamètres croissant vers le bas du nid, ce qui lui donne une forme d'œuf (Figure 6.C). Les galettes sont orientées horizontalement, quel que soit le support du nid (Figure 4.B). Des couches successives d'écailles de papier protectrices sont déposées les unes au-dessus des autres au sommet du nid (capuchon) ce qui améliore l'isolation du nid, son étanchéité et sa solidité en particulier pour son accroissement pondéral (Figure 6.C).

⁷ Gyne : femelle reproductrice encore vierge

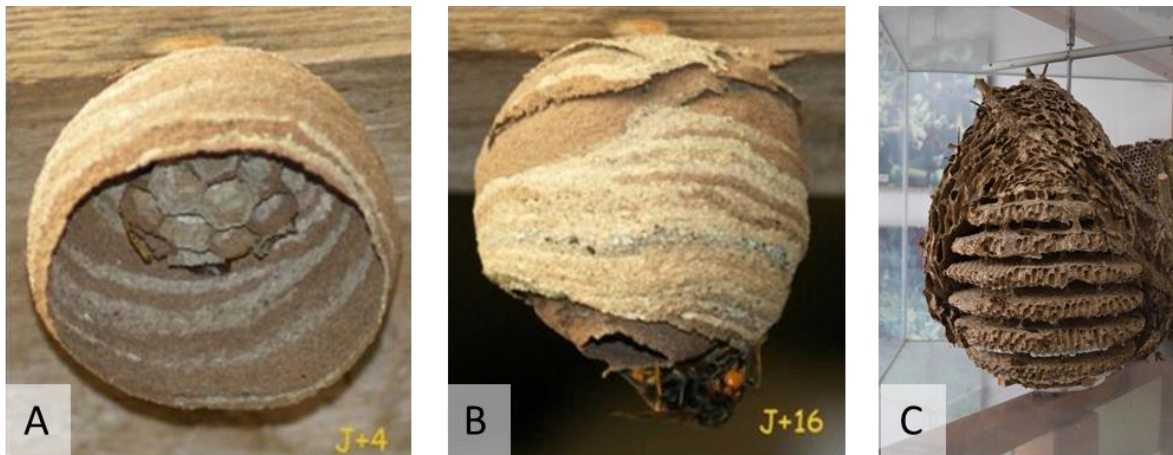


Figure 6 : Nids de *Vespa velutina*. A, B : nid primaire de 4 et 16 jours respectivement (source Fredon-bretagne.com), C : nid mature (récolté en hiver 2014) dont l'enveloppe extérieure a été retirée sur la moitié. La partie interne comprenant les galettes qui portent le couvain est donc visible (Photo J. Poidatz).

Les nids de *V. velutina* sont généralement construits dans des sites ouverts, contrairement à ceux de *V. crabro*, plus cryptiques. On les trouve souvent dans les feuillages des arbres ou des buissons, sous des hangars ou des avant-toits (Monceau *et al.* 2014a). Dans moins de 15% des cas ils peuvent s'installer dans des cavités au sol (Rome *et al.* 2011). Discrets, les nids de *V. velutina* sont rarement découverts avant d'avoir atteint une taille déjà imposante. Matsuura *et al.* 1990 ont rapporté que les colonies matures de *V. velutina* sont constituées de 1500 à 4500 cellules. Chaque cellule pourra être réutilisée une (partie haute du nid) à quatre fois (partie basse du nid) suivant la période et sa situation dans le nid (cf 2.1 de cette introduction).

2.4. Organisation sociale des colonies de *V. velutina*

Chez les frelons, les colonies sont monogynes (*i.e.* fondées par une seule reine), et n'essaient pas (Matsura *et al.* 1990). La durée de la vie des ouvrières dépend de l'espèce et de l'individu (~30.8 jrs chez *V. simillina*, 32.4 jrs chez *V. crabro*, 40.1 jrs chez *V. mandarinia* (Matsuura & Yamane 1990)). Elles exécutent diverses activités à la fois dans et hors de leur nid dès 2-3 jours après leur émergence. Aucune relation entre l'âge de l'ouvrière et son travail n'a pu être mis en évidence chez les 5 espèces de frelon étudiées par Yamane & Makino 1977 (*V. Crabro*, *V. mandarinia*, *V. simillima* *V.*

tropica & *V. analis*), ni chez *V. orientalis* (Ishay *et al.* 1968), puisqu'elles continuent à collecter du matériel de construction, de l'eau et de la nourriture tout au long de leur vie. Chez *V. velutina*, les ouvrières ne sont pas encore capables de voler juste après leur émergence, mais elles effectueront en moyenne leurs premiers vols entre 24 et 48h plus tard à 23°C (J. Poidatz pers. obs.). Chez *V. velutina*, le rayon d'action des ouvrières autour de leur colonie et leur degré de spécialisation pour la récolte de certaines ressources, ainsi que manière dont elles distribuent la nourriture qu'elles collectent dans leur colonie sont encore inconnus, et nous nous attacherons à décrire et comprendre ces comportements dans l'Axe 2.

Chez *V. velutina*, la **défense du nid** est assurée par les ouvrières les plus anciennes (Monceau *et al.* 2013a). Ces gardiennes, positionnées à l'entrée du nid, vérifient l'appartenance à la colonie et l'état sanitaire des individus rentrants (Matsuura 1991). Lors d'une agression, quelques gardiennes vont d'abord venir « tester » l'ennemi en le cognant, puis si ce dernier reste ou s'approche, un comportement de défense collectif pourra être observé : les ouvrières de frelons présentes à l'intérieur du nid vont sortir en masse, recouvrir le nid et faire vibrer leurs ailes, produisant ainsi un bruit impressionnant (O. Bonnard, J. Poidatz pers. obs.). Si la menace n'est toujours pas éliminée, l'ensemble des ouvrières disponibles, en alerte, va alors attaquer l'agresseur. Les ouvrières de frelons sont munies d'un dard lisse rétractile pouvant infliger de nombreuses piqûres, et chez *V. velutina* elles sont également capables de projeter sur leurs ennemis par l'abdomen une substance irritante (H. Guisnel & J. Poidatz pers. Obs.). Même s'ils n'ont pas de dard, certains cas de défense du nid *in natura* par des mâles ont été observés chez une autre sous espèce de *V. velutina*, *pruthii*, au Pakistan (Perveen & Shah 2013) (pour plus de détails sur les mâles, voir l'Axe 1).

3 Etat des lieux des moyens de lutte contre *Vespa velutina*

En Europe, quelques cas naturels de prédatons ponctuelles de *V. velutina* par des oiseaux insectivores ont été recensés, ainsi que certains cas de parasitismes : un endoparasite *Conops vesicularis* (Conopidae) (Darrouzet *et al.* 2014), et un nématode *Pheromermis vesparum* (Villemant *et al.* 2015). *Vespa velutina* est également soumis ponctuellement à des infections par des virus : IAPV, *i.e.* Israeli Acute Paralysis Virus (Manley *et al.* 2015) et DWV, *i.e.* Deformed Wings Virus (A. Dalmon *in prep.*) Aucune application en lutte biologique n'a cependant pu être envisagée avec ces organismes, soit à cause de leur faible efficacité, soit à cause des spectres d'hôtes larges de ces parasites et de grande capacités dispersives ou de transfert, et donc des forts risques sur des insectes non-cibles, ou enfin à cause d'une inadaptation technique ou pratique à un potentiel usage en tant qu'agent de lutte biologique (processus de fabrication complexe, coût, technicité *etc.*). Dans l'Axe 3, nous explorerons le potentiel du développement de biocontrôle sur *V. velutina* par des champignons entomopathogènes, puisque qu'en plus d'isolats trouvés dans le sol, nous avons découvert une fondatrice de *V. velutina* naturellement parasitée par un champignon entomopathogène⁸.

Après l'observation des premières attaques de *V. velutina* sur les ruches françaises, de nombreux moyens ont été mis en œuvre pour tenter de réduire l'impact de ce prédateur invasif, et nous allons dans cet état des lieux faire le bilan des techniques utilisées pour le contrôle de ce frelon jusqu'à présent.

3.1 Piégeages, captures de printemps

Comme développé en introduction, *V. velutina* a un cycle de développement annuel. Au printemps, les fondatrices sortent d'hibernation pour chercher un site adapté à l'initiation d'une colonie. Une des techniques les plus classiquement utilisées dans le but de diminuer le nombre de

⁸ Echantillon collecté en Bretagne par Denis Jaffré pour une de nos études.

colonies est alors le piégeage de ces futures reines à l'aide de pièges attractifs, ou des systèmes de capture (Figure 7).



Figure 7 : A : Piège alimentaire à nasse avec des trous d'entrée et de sortie calibrés pour éviter autant que possible de piéger d'autres arthropodes que le frelon asiatique (développement par J. Blot, ADAAQ), B : piège Vétopharma (solution attractive, source wwwq.veto-pharma.fr), C : bac de capture préventif (AAAFa, source : fiche technique BCP, 8/03/2017).

De nombreux pièges existent actuellement, tous inspirés du même principe, à savoir un principe de nasse ou un système de destruction (noyade ou électrocution) qui empêche l'individu capturé de ressortir. Même si ce piégeage de printemps semble être une méthode satisfaisante car limitant potentiellement l'inoculum de départ en fondatrices dans un lieu donné, il a malheureusement été montré qu'une très faible proportion de reines était capturée par ces moyens à l'échelle globale, et que cela n'affectait pas les populations ni la dynamique d'invasion, dans l'état actuel de son avancée en France (Beggs *et al.* 2011, Monceau *et al.* 2012). Une étude à grande échelle pour évaluer l'efficacité de cette stratégie de piégeage a tout de même été lancée en 2017 par l'ITSAP et le MNHN dans le Sud-Est de la France. Les bacs de capture n'ont quant à eux pas encore été testés scientifiquement. Nous manquons encore d'éléments pour évaluer l'intérêt de la capture de males pour empêcher leur accouplement avec des femelles, ainsi que pour évaluer la variabilité de fertilité des fondatrices au printemps : ce sont des leviers de recherche qui seront traités dans l'Axe 1 de ces travaux de thèse.

3.2 Protection des ruchers fin d'été-automne

Afin de protéger les ruches de manière plus directe de juillet à octobre, diverses techniques peuvent être mises en place, résumées dans le tableau ci-contre (Tableau 1). Leurs principes reposent soit sur le piégeage ou sur le fait de tuer des ouvrières de *V. velutina*, soit sur l'installation de barrières physiques (Figure 8A et D) entre ces chasseuses et leurs proies (Figure 8B et C).



Figure 8 : Exemple de systèmes de protection des ruchers anti-frelons. A. Harpes électriques (Photo culturevie.info.org), B. Filets (Photo Bizbizeco.org), C. Grilles (ecodouble.farmserv.org), D. Piège-tiroir à placer sous la ruche (Photo vita-europe.com).

Tableau 1 : Liste des différentes techniques de protection des ruchers contre les attaques de *V. velutina* actuellement utilisées.

Méthode	Lieu d'application	Principe	Inconvénients
Filet avec des mailles de 5mm	Autour du rucher	Isole les ruches des frelons, diminuant ainsi le stress des colonies d'abeilles.	Ce système déplace le problème : les frelons apprennent à attendre les abeilles sur leurs routes de vol préférentielles. Méthode non adaptable à de gros ruchers
Piège alimentaire	Près des ruches	Capture des frelons grâce à l'attractivité de l'appât utilisé pour diminuer la pression directe sur les ruchers.	Une étude de l'ITSAP datant de 2015 (D. Decante pers. Com. 2015) montre qu'avec les pièges actuels, on n'observe pas de différences sur la prédation des ruchers quels que soient les pièges utilisés (les pièges attireraient même apparemment plus de frelons sur les ruchers « protégés » que sur les témoins)
Tiroirs - pièges	Sous les ruches	Les frelons cherchant à rentrer dans les ruches se retrouvent coincés par un système de grilles et de nasse dans ce tiroir placé sous la ruche. Ce système est pratique à utiliser et à entretenir.	L'efficacité de ce système reste à prouver. La présence des frelons piégés sous leur colonie stresse potentiellement les ruches, en perpétuelle alerte. Ce système est coûteux à l'échelle d'un rucher
Harpes électriques	Entre les ruches	Electrocute les frelons au passage lors de leurs tours autour des ruches.	L'efficacité de ce système reste à prouver, et les dégâts collatéraux sur les abeilles et d'autres insectes doivent être évalués. La maintenance est complexe et couteuse à l'échelle d'un rucher (énergie, danger). Méthode non adaptable à de gros ruchers.
Grilles électriques	A l'entrée des ruches	Empêche le pillage des ruches par les frelons.	Déplace le problème, les frelons attendent juste un peu plus loin de la ruche. L'efficacité de ce système reste à prouver, et les dégâts collatéraux sur les abeilles et d'autres insectes doivent être évalués.

Certains apiculteurs dégagent leurs ruches des frelons à l'aide de raquettes (électrifiées ou non). Malheureusement ces méthodes ne peuvent s'appliquer qu'à des nombres réduits de ruches et leur efficacité n'a jamais réellement été mesurée et confrontée à d'autres méthodes. Les pièges alimentaires protéiques peuvent attirer plus ou moins d'ouvrières suivant le climat (Harris *et al.* 1991), et leur entretien est coûteux.

La synthèse publiée par Beggs *et al.* (2011) atteste de l'inefficacité de ces méthodes de capture/chasse des ouvrières, testées sur de nombreuses autres espèces de *Vespidae* invasives. Cette inefficacité s'expliquerait par le peu d'impact sur la colonie en entier du retrait d'une proportion somme toute réduite de fourrageuses, la colonie pouvant compenser ces pertes (O'Donnell & Jeanne 1992, O'Donnell 1999, Beggs *et al.* 2011) pour plus de détails sur ce mécanisme et comment cet aspect a commencé à être étudié chez *V. velutina*, voir l'**Axe 2 de ces travaux**. Agir au niveau des collectrices, en tout cas dans ces proportions, ne semble pas être la solution à développer : il faudrait au contraire réussir à perturber la colonie dans son ensemble, comme proposé par Beggs *et al.* 2011 et Monceau *et al.* 2014a.

3.3 Lutte chimique et destruction des nids

Depuis le classement de *V. velutina* en espèce nuisible de 2ème catégorie (arrêté du 26 décembre 2012), la déclaration de la présence de nids est obligatoire et la destruction des nids doit être organisée par l'autorité régionale (préfet). La destruction des nids de *V. velutina* est une méthode de contrôle efficace : la colonie étant détruite dans son ensemble, les quelques ouvrières potentiellement survivantes n'ont plus de larves à nourrir, ce qui entraîne une réelle diminution de la pression sur les ruches précédemment attaquées par les ouvrières de cette colonie.

De nombreux insecticides sont utilisés contre *V. velutina*, avec des méthodes d'application dépendantes du nombre d'individus à détruire. A l'heure actuelle, les techniques de lutte autorisées à l'aide d'insecticides sont : (1) les bombes insecticides à grande portée (principalement à base de

pyréthrinoides : Trans-phénothrine, D Tetramethrine...), conseillées pour le traitement d'individus isolés ou de jeunes nids, (2) les poudres d'insecticides (principalement carbamates) et le dioxyde de soufre, utilisés avec une perche par les professionnels pour la destruction de nids déjà matures (Figure 9), avec obligation de décrocher et éliminer les nids pour limiter au maximum l'impact environnemental de ces traitements. Le traitement au SO₂ intoxique les individus et congèle le couvain grâce à la réaction exothermique dégagée. Contrairement aux autres insecticides, celle-ci a l'avantage de ne pas laisser de résidus toxiques dans l'environnement, mais son usage reste très irritant et aussi relativement toxique pour les destructeurs de nids (H. Cuizel, destructeur de nids, pers. com.). Toutefois, son interdiction par les réglementations européennes et française est attendue.

Actuellement la société Française 'DroneVolt' travaille à la mise au point d'un drone (adapté de leur modèle pour pulvérisation de peinture en conditions extrême) et utilisable en destruction de nid. De même, des pistolets à nid de frelon (frelon.com & DIPTER) proposent de tirer sur les nids avec des pistolets type « paintball » avec des capsules contenant de l'insecticide (1015VG DIPTER). Toutefois leur usage ne se montrera efficace à large échelle que lorsqu'on saura localiser efficacement et en grande quantité les nids. Il faudra ensuite et malgré tout les décrocher par la suite pour éviter une potentielle pollution de l'environnement par ces produits toxiques.



Figure 9 : Photos de destruction de nids de *Vespa velutina*. L'utilisation d'une nacelle (A, photo J. Poidatz) est courante pour ce genre d'opérations. Le traitement est injecté dans le nid depuis la nacelle ou le sol à l'aide d'une perche creuse télescopique (B, Photo A. Bloquet).

Les principales difficultés de la destruction directe des nids résident dans la **détection et dans l'accès aux nids** de frelons pour les détruire. En effet, bien souvent les nids des *V. velutina* sont très discrets et peu accessibles à cause de leur localisation (en haut des arbres, dans des buissons, dans des cavités, sous le sol (Monceau *et al.* 2014a)), parfois dans des zones naturelles, ou avec du relief. La détection des nids se fait actuellement à l'œil nu, par des associations d'apiculteurs ou de chasseurs, des responsables communaux, mais également par des particuliers. Malheureusement les nids sont principalement détectés en fin d'automne avec la chute des feuilles qui les camouflaient, de ce fait les reines et mâles qu'ils contenaient sont pour la plupart déjà libérés (jusqu'à 300 reproductrices par nid (Rome *et al.* 2015)). La répartition des nids de *V. velutina*, logiquement liée à leur impact potentiel, est également complexe à établir. D'une part à cause des nombreuses bases de données déjà existantes, ouvertes ou non, non croisées (INPN, AGIIR, données d'associations, de communes, d'entreprises, BDD de chaque pays), à la méconnaissance de cet insecte par le grand public (confusions fréquentes), mais aussi à cause d'un effet d'habituation des personnes dans des zones envahies depuis plusieurs

années, qui ne les signalent plus. Des projets sont en cours pour utiliser des drones embarquant une caméra thermique ou encore un sonar, afin d'augmenter les chances de détection (Coloss Turin 2016).

Le coût de la destruction des nids est également problématique : il est estimé en moyenne à 110€ par nid, bien que certaines entreprises spécialisées le facturent à plus de 300€ (Monceau *et al.* 2014a). De telles opérations nécessitent en effet à la fois de l'organisation, de la communication, du matériel, et du temps pour préparer, repérer et opérer. A cela s'ajoute le danger lors de l'opération (opération nocturne favorisée, manipulation de produits toxiques, risques de piqûres, de chutes etc...) (Figure 9).

Certains apiculteurs testent des applications d'insecticides non autorisés (fipronil, imidaclopride...) sur des ouvrières de *V. velutina* qu'ils relâchent une fois traitées en vue d'intoxiquer des nids. Cette technique, bien qu'attrayante, soulève la vraie question du devenir de ces insecticides dans la nature (les nids non localisés ne pouvant pas être éliminés après traitement) et de leur impact sur l'environnement avec un usage pour lequel ils n'ont pas été évalués auprès de l'ANSES⁹. En effet, de plus en plus d'études mettent en évidence des effets néfastes des insecticides, des applications directes ou chroniques de certaines de ces molécules ayant des impacts sur de nombreux organismes plus ou moins complexes, dans tous les compartiments environnementaux (Galiulin *et al.* 2002, Angulo Lucena *et al.* 2007) (air, sol, eau (Gerecke *et al.* 2002, Salamova *et al.* 2013)), organismes vivants (exemple dans des oiseaux (Tao *et al.* 2009), poissons (Krzeminski *et al.* 1977, Jackson *et al.* 2009), insectes (Suchail *et al.* 2001) ou encore des plantes (Tao *et al.* 2005)).

La désorganisation des colonies *via* leur ouvrières est cependant selon nous l'une des techniques les plus prometteuses pour lutter contre *V. velutina*, comme montré dans Beggs *et al.* 2011 sur des guêpes invasives en Nouvelle Zélande (technique du Cheval de Troie : [pour plus de détails là-dessus voir Axe 3](#)), **mais** il faut mettre en place une lutte raisonnée et limiter les risques sur l'environnement. L'impact environnemental de ces solutions devra être étudié, évalué, de façon stricte, qu'il s'agisse de solutions insecticides avec des risques d'intoxication (*L'implication de nombreux résidus dans des problématiques diverses a été prouvée de multiples fois (allergies (Kwak *et al.* 2009), effets*

⁹ Agence Nationale Sécurité Sanitaire Alimentaire

cancérogènes (Dich et al. 1997), pathologies (exemple chez des poissons (Rojik et al. 1983)), troubles hormonaux par perturbation endocrine (Leblanc et al. 1997, McKinlay et al. 2008, Mostafalou & Abdollahi 2013), effets neurotoxiques (Alavanja et al. 2004), érosion de la fertilité (Whorton et al. 1977, Elbetieha et al. 2001) et du système immunitaire (Corsini et al. 2008), sans compter des effets tératogènes, c. a. d. une malformation des embryons (Martson & Voronina 1976, Weiss 1997, Ray & Richards 2001), et mutagènes.)) ou de solution de biocontrôle avec le risque de dissémination des organismes et de leur non spécificité. Ces études font partie intégrante des dossiers d'autorisation de mise sur le marché des biocides.

Une meilleure compréhension des colonies de *V. velutina*, allant de leur initiation (**Axe 1**) jusqu'à leur fonctionnement global (**Axe 2**), sera donc l'objectif de ces travaux de thèse, avec comme but final le développement de stratégies de lutte efficaces et durables (**Axe 3**).

4 Objectifs et structure de la thèse

L'objectif de ces travaux de recherche est d'augmenter nos connaissances sur la biologie de *V. velutina* afin de permettre de développer des techniques de contrôle durables axées sur la perturbation de la colonie. Chaque Axe sera structuré autour d'une introduction bibliographique et les résultats seront présentés sous forme soit de publications acceptées, soumises ou en préparation. Les résultats faisant partie d'expérimentations préliminaires seront quant à eux proposés en annexe de cette thèse.

4.1 Présentation des axes de la thèse

Le premier axe portera sur les travaux effectués autour de la biologie des reproducteurs de *V. velutina* à différents moments clés de son cycle de développement : au moment de la **reproduction** (maturation sexuelle des mâles, comportement de reproduction des couples) et en **sortie d'hibernation** : les caractéristiques reproductives et de dispersion des fondatrices suivant les régions et les espèces seront alors étudiées.

Le deuxième axe portera sur l'étude de certains paramètres liés à la biologie de la colonie de *Vespa velutina*, utiles à connaître pour la mise en place d'une technique de contrôle de type Cheval de Troie : tout d'abord en caractérisant la potentielle spécification des ouvrières pour la collecte de certains types de denrées, puis en quantifiant les flux de nourritures suivant le stade de développement du nid, enfin en explorant leur rayon d'action autour de leur nid ainsi que leur rythme d'activité.

Le **troisième axe** portera essentiellement sur les méthodes de lutte potentiellement applicables au frelon asiatique, en explorant plus particulièrement la piste d'une lutte biologique avec l'utilisation de champignons entomopathogènes.

Chaque axe est agrémenté de discussions liées aux articles qui y sont associés et d'annexes comprenant certaines expérimentations non publiées. A la fin de ce travail de thèse se trouve une

discussion générale axée sur les avancées et les perspectives de recherches engendrées. Enfin, une conclusion générale reviendra sur l'ensemble de ces travaux dans un contexte plus large, et proposera des pistes de recherche intéressantes aux vue des avancées réalisées. Pour plus de clarté et afin d'éviter les redondances dans ces travaux, au lieu de garder les références associées à chaque article dans le corps de texte, nous avons choisi d'homogénéiser la liste de références bibliographique à la fin de ce manuscrit.

4.2 Formulation des hypothèses de recherche sur lesquelles repose cette thèse

Axe 1 : Biologie des reproducteurs de *V. velutina*

- Les mâles d'hyménoptères présentent un potentiel reproducteur variable dans le temps, avec une durée de maturation sexuelle particulier. Suivant les espèces d'hyménoptères, le processus de maturation sexuelle est plus ou moins tardif et implique une spermatogenèse continue ou synchrone (Boomsma *et al.* 2005). Suivant la période d'émergence, le potentiel reproducteur des mâles de *V. velutina*, à définir, pourrait varier, comme par exemple chez *Bombus terrestris* (Baer 2003). **Application : évaluer l'intérêt d'un contrôle des mâles de *V. velutina*. Article publié: Poidatz, J., Bressac, C., Bonnard, O. & Thiéry, D. (fev.2017) Delayed sexual maturity in males of *Vespa velutina*. *Insect Science*, 1-11. DOI: 10.1111/1744-7917.12452**
- Les fondatrices de *V. velutina* pourraient avoir des caractéristiques reproductives optimisées comparées à celles de *V. crabro* qui expliqueraient leur succès invasif, de la même manière que chez les fourmis invasives vs natives décrites dans Suarez *et al.* 1999. **Application : évaluer l'intérêt d'un contrôle des fondatrices et la potentielle compétition avec *V. crabro* durant cette période critique. Manuscrit soumis à *Journal of Insect Physiology* (septembre 2017) Poidatz, J., Bressac, C., Bonnard, O. & Thiéry, D. Compared reproductive traits of foundresses in a native and an invasive hornet in Europe.**

- L'hypothèse du « Spatial sorting », *i.e.* une évolution morphologique en faveur de caractères plus dispersant sur les fronts d'invasion, pourrait avoir eu lieu chez *V. velutina* durant son expansion en Europe, comme démontré par exemple chez la coccinelle invasive *Harmonia axyridis* (Lombaert *et al.* 2014). **Application : mettre en évidence des caractéristiques de dispersion différentes suivant les régions et en tirer des implications pour un monitoring optimisé de *V. velutina*.** *Sélection spatiale chez *Vespa velutina* : Annexe 1.1 : Compromis entre traits dispersifs et reproductifs chez les fondatrices de *V. velutina* entre la Bretagne, l'Italie et le Bordelais. Annexe 1.2 : Projet EUROFRELON : Evaluation d'une potentielle sélection spatiale chez *V. velutina* en Europe.*
- Le comportement de reproduction de *V. velutina* pourrait dépendre du lieu (nid, site de nutrition) comme par exemple chez *V. crabro* ou *V. mandarinia* qui se reproduisent dans le premier cas dans des sites de ravitaillement et dans le deuxième cas près des nids. Cela pourrait également dépendre de l'âge des partenaires et de leur origine (Alcock *et al.* 1978). **Application : trouver des éléments supplémentaires pour savoir où / comment perturber la reproduction de *V. velutina*.** *Annexe 1.3 : Describing the mating behavior of *Vespa Velutina*, in laboratory conditions.*

Axe 2 : De la collecte à l'utilisation des ressources chez *V. velutina*

- Les ouvrières de *V. velutina* pourraient avoir un niveau de spécialisation plus élevé que la plupart des autres vespides, lié au fort niveau de population des colonies de cette espèce, et pourraient collecter un certain type de ressources préférentiellement, comme par exemple chez *Polybia occidentalis* (O'Donnell & Jeanne 1990), *Metapolybia* spp. et *Protopolybia exigua* (Simões 1977, Forsyth 1978, Karsai & Wenzel 2000). **Application : évaluer l'intérêt respectif des appâts multiples ou uniques pour attirer des ouvrières de *V. velutina*.** *Annexe 2.1. Evaluation de la spécialisation pour la collecte d'un type de nourriture chez les ouvrières de *Vespa velutina*.*

- Les ouvrières de *V. velutina* pourraient distribuer leur ressources protéiques et sucrées différemment à la colonie suivant les âges et le sexe des individus de la colonie, comme vu chez les fourmis par [Markin en 1970](#), [Bonavita – Cougourdan & Passera en 1978](#), ou encore par [Cassill & Tschinkel 1995](#). Le nombre d'individus en contact avec l'ouvrière distributrice pourrait se rapprocher de celui observé chez *V. orientalis* par [Ishay & Ikan en 1968](#)
Application : évaluation de la répartition potentielle d'agents de régulation pouvant être utilisés dans une stratégie de type 'Cheval de Troie', suivant l'organisation sociale des colonies. Manuscrit en cours de rédaction, pour soumission dans Animal Behaviour: Poidatz, J., Bonnard, O. & Thiéry, D. Titre non définitif : Studying food distribution inside Vespa velutina nests using heavy metal tracers.
- Les ouvrières de frelon asiatique devraient être capables de retrouver leur colonie jusqu'à une certaine distance après transport à l'aveugle. Cette distance pourrait être comprise entre 500m comme chez *V. orientalis* ([Ugolini et al. 1987](#)) et 8km comme chez *V. mandarinia* ([Matsuura & Sakagami 1973](#))
Application : estimer le rayon où chercher les colonies de V. velutina après l'observation d'ouvrières, modéliser son impact. L'activité des ouvrières au nid pourrait varier avec la luminosité et la température, comme vu chez *V. orientalis* ([Ishay & Kirshboim 2000](#)). La durée de leurs voyages pourrait varier avec l'âge des ouvrières comme chez *V. simillima* ou *V. analis* ([Jeanne & Taylor 2009](#)), mais également avec la température et la luminosité ([Ishay & Kirshboim 2000](#)).
Application : déterminer un timing de destruction des colonies le plus optimal, que cela soit par rapport aux conditions climatiques ou à l'heure dans la journée. Manuscrit soumis (28/08/2017), en cours de révision dans Journal of Pest Science : Poidatz, J., Monceau, K., Bonnard, O. & Thiéry, D. Homing behaviour in an invasive bee predator.

Axe 3: Vers un biocontrôle des colonies de *V. velutina* ?

- Des champignons natifs généralistes pourraient commencer à attaquer naturellement le frelon asiatique. **Shortnote en cours de rédaction, pour soumission potentielle dans Journal of Invertebrate Pathology.** Poidatz, J., Javez-Lopez Plantey R. & Thiery D. Description of a strain of *Beauveria b.* naturally parasitizing the bee predator *Vespa velutina* in France
- Certains insecticides perturbateurs de développement pourraient avoir un impact intéressant sur le couvain du frelon asiatique. **Annexe 3.1. : Evaluation de l'efficacité de molécules insecticides et de champignons entomopathogènes sur les larves de *Vespa velutina*.**
- La lutte biologique pourrait potentiellement être intéressante pour lutter contre le frelon asiatique grâce à l'usage de champignons entomopathogènes, comme démontré chez *V. vulgaris* par Harris *et al.* 2000. **Application : le développement de méthodes de lutte biologique contre *V. velutina*.** **Manuscript soumis (6/07/2017), en cours de révision chez Journal of Invertebrate Pathology:** Poidatz J., Javez-Lopez Plantey R. & Thiery D. Indigenous strains of *Beauveria* and *Metharizium* as potential biological control agents against the invasive hornet *Vespa velutina*.