

République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ecole Nationale Supérieure Agronomique – El-Harrach – Alger

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة – الحراش – الجزائر

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat d'Etat en Sciences Agronomiques

Option : Entomologie Agricole et Forestière

Thème

Caractérisation des populations de la chenille processionnaire *Thaumetopoea pityocampa* (Denis-Schifferrmüller, 1775) dans les forêts d'Algérie

Présentée par : ELMOKHEFI M'hamed

Devant le jury :

Président :	M. BENZEHRA A.	Professeur (ENSA d'El Harrach)
Directeur de thèse :	M. CHAKALI G.	Professeur (ENSA d'El Harrach)
Co-Directeur de thèse :	M. BATTISTI A.	Professeur (Université de Padoue-Italie)
Examineurs :	M. BOUHRAOUA R.T	Professeur (Université de Tlémcen)
	M. GAOUAR S.B.S.	Maître de Conférences (Université de Tlémcen)
	M. HAMMACHE M.	Maître de Conférences (ENSA d'El Harrach)

Soutenue publiquement le : 29 Janvier 2017

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer mes remerciements à tous ceux et toutes celles qui ont contribué à l'aboutissement de ma thèse.

Toute ma gratitude à mon directeur de thèse M. CHAKALI Gahdab, Professeur au département de Zoologie Agricole et Forestière de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach, pour ses encouragements, son soutien et pour ses précieux conseils et orientations tout au long du travail.

Mes vifs remerciements et toute ma reconnaissance à mon co-directeur de thèse le Professeur BATTISTI Andrea, de l'université de Padoue-Italie, de m'avoir accueilli dans son laboratoire et pour tous ses encouragements et son soutien tout au long de l'élaboration de ce travail.

Je tiens à remercier sincèrement M. BENZARA Abdelmadjid, Professeur à l'E.N.S.A. d'El Harrach pour ses encouragements et pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

J'adresse mes remerciements les plus sincères aux membres examinateurs, M. BOUHRAOUA Rachid Tarik, Professeur à l'université Abou Bakr Belkaid de Tlémcen, M. GAOUAR Souheil Bachir Samir, Maître de Conférences à l'université Abou Bakr Belkaid de Tlémcen et M. HAMMACHE Miloud, Maître de Conférences à l'ENSA pour avoir accepté de juger le présent travail.

Mes hommages et mes sincères remerciements vont aux Professeurs Mme. KERDELHUE Carole et M. BURBAN Christian, de l'INRA de France ainsi qu'à M. SIMONATO Mauro et M. PAOLUCCI Paolo, chercheur à l'université de Padoue-Italie pour leurs efforts valeureux et leurs fructueuses contributions.

Que M. HAREK Derradji, de l'INRA d'Algérie, trouve l'expression de mes remerciements pour ses conseils et ses encouragements.

J'exprime mes remerciements à M. GHELEM Mohamed, technicien de laboratoire à l'E.N.S.A. d'El Harrach pour son aide sur terrain et pour ses encouragements.

Je ne saurais oublier Melle HEZIL Sara, Melle BERRETIMA Wahiba, M. TOUAHRIA Djamel, M. SADOUKI Mohammed, M. BAHMANE Rachid, M. MIMOUNI Mohammed, M. BOUHRAOUA Tarik et M. RAHIM Noureddine pour leur disponibilité et pour m'avoir aidé dans mes prospections et dans l'échantillonnage nécessaires à la réalisation de ce présent travail.

Une pensée à la famille, et mes remerciements à Mme ELMOKHEFI Z., Professeure agrégée à la faculté de Pharmacie de l'Université d'Alger, pour son soutien et ses encouragements.

TABLE DES MATIERES

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
INTRODUCTION	1
PREMIER CHAPITRE : DONNEES SUR LA PROCESSIONNAIRE THAUMETOPOEA PITYOCAMPA ET SES HOTES	
1. Histoire et taxonomie des espèces du genre <i>Thaumetopoea</i>	4
1.1. Dans le monde.....	4
1.2. En Algérie.....	6
2. Essences hôtes et stratégie du choix.....	7
3. Dynamique des populations et bio-écologie de la processionnaire <i>Thaumetopoea pityocampa</i>	8
3.1. Comportement biologique.....	8
3.1.1. Phase aérienne.....	10
3.1.1.1. Emergences.....	10
3.1.1.2. Ponte.....	11
3.1.1.3. Développement larvaire.....	12
3.1.1.4. Phase ambulatoire.....	12
3.1.1.5. Propriétés urticantes	13
3.1.1.6. Le nid d'hiver.....	13
3.1.1.7. Les processions et leur évolution.....	13
3.1.2. Phase souterraine.....	14
3.1.2.1. Nymphose.....	14
3.1.2.2. Diapause	14
4. Facteurs influençant le développement de la processionnaire.....	15
4.1. Facteurs abiotiques.....	15
4.1.1. Ensoleillement et photopériode.....	15
4.1.2. Température.....	15
4.1.3. Altitude et latitude.....	16
4.2. Facteurs biotiques.....	18
4.2.1. Les auxiliaires et leur impact.....	18
4.2.1.1. Prédateurs et parasitoïdes.....	18
4.2.1.2. Microorganismes.....	20
5. Biogéographie et répartition.....	20
6. Impact écologique et sanitaire des infestations.....	21

DEUXIEME CHAPITRE : MATERIEL ET METHODES

1. Démarche expérimentale pour la caractérisation morphométrique.....	24
1.1. Sites d'étude et mensurations.....	24
1.1.1. Choix des sites d'étude.....	24
1.1.2. Récolte du matériel biologique.....	25
1.1.3. Recueil des données.....	26
1.2. Méthodes d'analyse des données.....	26
1.2.1. Données paramétriques.....	26
1.2.2. Analyse fréquentielle.....	26
1.2.3. Analyse de la variance (ANOVA).....	27
1.2.4. Coefficient de corrélation de Pearson.....	27
1.2.5. Le test de corrélation de Pearson.....	28
1.2.6. Test du khi-deux.....	28
1.2.7. Représentation multidimensionnelle (MDS).....	29
1.2.8. Analyse en composantes principales (ACP).....	29
1.2.9. Classification ascendante hiérarchique (CAH).....	30
2. Démarche expérimentale pour la caractérisation génétique.....	30
2.1. Sites d'étude et récolte du matériel biologique.....	30
2.2. Extraction et amplification de l'ADN.....	34
2.2.1. L'ADN mitochondrial.....	34
2.2.2. L'ADN nucléaire (microsatellites).....	35
2.3. Analyse des données génétiques.....	35
2.3.1. L'ADN mitochondrial.....	35
2.3.2. Les microsatellites.....	37
2.3.3. Structure des populations.....	38

TROISIEME CHAPITRE : RESULTATS

1. Données recueillies sur les pontes.....	39
2. Statistiques des variables retenues.....	42
2.1. Données paramétriques.....	42
2.1.1. Analyse fréquentielle des longueurs des pontes.....	43
2.1.1.1. Cas du clade <i>Pityocampa</i>	43
2.1.1.2. Cas du clade ENA.....	45
2.1.2. Analyse fréquentielle du nombre total d'œufs par ponte.....	46
2.1.2.1. Cas du clade <i>Pityocampa</i>	46
2.1.2.2. Cas du clade ENA.....	48
2.1.3. Comparaison des moyennes par ANOVA.....	49
2.1.4. Coefficient de corrélation de Pearson (R).....	52
2.1.5. Test Khi-2.....	55
2.1.6. Représentation multidimensionnelle.....	58
2.1.7. Analyse en composantes principales des variables.....	61
2.1.7.1. Intra-population.....	61
2.1.7.2. Par plante-hôte.....	66
2.1.7.3. Par région géographique.....	68
2.1.8. Classification ascendante hiérarchique des individus.....	71

2.2. Données génétiques.....	75
2.2.1. L'ADN mitochondrial.....	75
2.2.2. Les microsatellites.....	81
3. Structure génétique des populations.....	85

QUATRIEME CHAPITRE : DISCUSSIONS

1. Interprétation des données paramétriques	88
2. Analyse des données génétiques.....	93
2.1. L'ADN mitochondrial.....	93
2.2. Les microsatellites	96
2.3. Comparaison entre l'ADN mitochondrial et les microsatellites	98

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	99
----------------------------------	----

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	102
----------------------------------	-----

Caractérisation des populations de la chenille processionnaire *Thaumetopoea pityocampa* (Denis-Schifferrmüller, 1775) dans les forêts d'Algérie

RESUME

Les mesures biométriques et la quantification des catégories des œufs concernent 6 paramètres de la fécondité réalisées sur des populations de chenilles processionnaires collectées dans 3 principales régions en Algérie pendant l'été 2012. Les analyses sont utilisées sur 192 pontes venant de 3 forêts de pin et 3 autres forêts de cèdre de l'Atlas. Les sites étudiés ont été groupés en 3 régions géographiques : Est, Centre et Ouest, et chaque région est représentée par 1 site de pin et 1 site de cèdre. Les durées d'éclosion sont plus longues dans les peuplements de pin que dans ceux du cèdre. L'analyse de la variance révèle des différences significatives entre les variables étudiées dans 27 cas sur les 35 cas testés. Ces différences sont particulièrement remarquables entre la population de pin (BF) et celle du cèdre (CR) en provenance de la région Centre pour l'ensemble des variables étudiées. De surcroît, les différences sont significatives dans tous les cas testés pour la longueur des pontes. La plante-hôte donne un effet très hautement significatif pour toutes les variables à l'exception du nombre d'œufs éclos. A l'échelle régionale, la partie centrale de l'échantillonnage se caractérise par des différences significatives pour toutes les variables. A une échelle moins importante, les différences sont significatives pour toutes les variables sauf pour le nombre d'œufs non-éclos dans la partie ouest. Dans la partie est, des différences très hautement significatives sont révélées pour la longueur des pontes, le nombre d'œufs non-éclos et le nombre total d'œufs par ponte. La situation est différente pour le nombre d'œufs parasités par ponte pour lequel aucune différence n'est révélée ni entre les groupes régionaux, ni entre les populations de pin ni entre la population de pin et celle du cèdre en provenance de la région est de l'échantillonnage. Les tests du coefficient de Pearson ne révèlent pas de corrélations significatives ni pour la longueur des pontes ni pour le pourcentage de parasitisme en fonction de l'altitude. De même, la moyenne des longueurs des pontes n'est corrélée ni avec la région ni avec la plante-hôte. Les représentations MDS ont permis de déterminer des populations (BP et BF) dans lesquelles la stratégie reproductive semble être la plus efficace ainsi que des populations plus sensibles au parasitisme que les autres (i.e. TL).

L'ACP confirme le choix des variables retenues pour l'étude de la fécondité. La hiérarchisation des individus par population fait ressortir une importante variabilité morphométrique dans la population du cèdre de la région de Chréa. Elle fait ressortir aussi un potentiel déplacement des populations de chenilles depuis l'est vers l'ouest à travers les pinèdes.

Malgré son importance durant les périodes glacières, la région du Maghreb à manque d'intérêt pour l'étude des différents aspects d'adaptation animale. Les populations de chenilles processionnaires en Algérie marquent la limite sud de leur aire de répartition qui se trouve fortement influencée par le climat et la plante-hôte.

Les marqueurs mitochondriaux montrent une localisation importante de deux clades : *pityocampa* et ENA préalablement trouvés dans d'autres études. Ces deux lignées allopathiques sont séparées par une zone de contact dans laquelle les individus des deux clades peuvent être rencontrés.

Un fragment de 648 Pb correspondant au gène tRNA-cox2 ainsi que 11 marqueurs microsatellites sont utilisées pour l'étude de la structure génétique des populations considérés. Un total de 24 haplotypes a été identifié à partir des 16 populations analysées, 14 appartenant au clade *pityocampa* et 10 au clade ENA. A l'intérieur du clade *pityocampa*, 2 sous-groupes sont définis renfermant les populations du nord-ouest d'une part et celles du sud-ouest d'autre part. Pour le clade ENA, la structure interne constituée d'un seul groupe ne permet pas de conclure à une isolation due à la distance. Les marqueurs de l'ADN nucléaire donnent un mode différent, avec 2 groupes principaux non correspondants aux clades mitochondriaux.

ABSTRACT

Biometric measures concerning 06 fecundity parameters were led upon processionary moth populations collected in 03 major forest regions in Algeria during the summer of 2012. Analyses have been carried out on 192 egg-batches coming from 03 Aleppo pine and 03 Atlas cedar sites representing, by pair, each region: east, central and west. The hatching duration is longer for larvae from pine sites than those coming from Atlas cedar. The analysis of variance shows significant differences between the studied variables in 27 out of the 35 cases tested. These differences are particularly noticeable between the pine population (BF) and the cedar population (CR) from the central region of sampling for all the variables studied. Moreover, the differences are significant in all cases for the egg batches length. The host plant has a very highly significant effect upon all variables except for the number of hatched eggs per batch. At a regional scale, the central part of the sampling is marked with significant differences for all the variables. At a lower scale, the differences are significant for all the variables except for the number of non-hatched eggs per batch in the western region. In the eastern part, differences are very highly significant for the length of batches, the number of non-hatched eggs and the total number of eggs per batch. The situation is different for the number of parasitized eggs per batch for which no difference is revealed neither among regional groups nor among pine populations nor between the pine and the cedar populations from the eastern part of the sampling. Pearson correlations tests reveal no significant correlation neither for the average egg-batch length nor the percentage of parasitism when tested with site's altitude. Likewise, average egg-batch length does not correlate with regions nor does it correlate with the host-plant. MDS plotting has allowed noticing an efficient pattern in the reproduction strategy (for BP and BF) as well as in the sensitivity towards parasitoids (TL).

PCA analysis confirms the choice for the retained variables to the study of the fecundity. The hierarchization of individuals shows a large morphometrical diversity in the cedar central population coming from Chr ea. It also exposes a pattern according which processionary populations living on pine could be moving ouestward.

Despite its importance, the role of the Maghreb region (Northern Africa) as glacial refuge area in the Palearctic has been overlooked. In this study we considered the populations from the southern rear-edge of a circum-Mediterranean herbivore, the pine processionary moth (PPM, *Thaumetopeoa pityocampa*), whose range is strongly influenced both by climate and host plant availability.

Based on mitochondrial markers, a strong genetic differentiation was previously found in this species between western and eastern Maghreb populations, as was observed in non-flying invertebrates and vertebrates in this area. In this region, two main allopatric lineages occur, corresponding respectively to the *pityocampa* clade (which is also present in Europe), and the geographically restricted Eastern North African clade (ENA clade).

Preliminary results suggested that the contact zone between the clades was located in Algeria, and levels of gene flow between them has not been assessed.

We thus focused on the PPM range in Algeria, using both mitochondrial (a 648 bp fragment of the tRNA-cox2) and nuclear (11 microsatellite loci) markers. A further analysis considering a shorter mtDNA fragment and the same microsatellite loci was carried on individuals collected along a 40 km transect on the contact zone between the mitochondrial clades. A total of 24 haplotypes were identified among the 16 populations analyzed, 14 belonging to the *pityocampa* clade and 10 to the ENA clade, showing a strong geographical structure and a well-defined contact zone between the two clades. In particular, in the *pityocampa* clade two inner sub-clades, grouping haplotypes from the north-western and the south western regions of Algeria, were found. On the other hand, ENA clade did not show a strong inner structure with a haplotype differentiation that could be consistent with an isolation by distance pattern. Microsatellite analysis outlines a different pattern of differentiation, with two main groups not overlapping the mitochondrial clades.

ملخص

تمت القياسات البيوميترية حول أصناف البيوض بالآخذ بعين الاعتبار 6 خواص متعلقة بالخصوبة. تتحدر المجموعات المدروسة من 3 مناطق جغرافية ممتدة على كافة الجزائر خلال صيف 2012. التحاليل المستعملة خصت 192 مجموعة بيوض من 3 غابات الصنوبر و 3 غابات الأرز الأطلسي. بعد ضم كل مجموعة من الصنوبر مع واحدة من الأرز، تم انشاء 3 مجموعات جغرافية: شرقية، وسطى و غربية. مدة ظهور الدود أطول منها في المجموعات القادمة من الصنوبر من المجموعات القادمة من الأرز. تحاليل التغيرات أظهرت مفارقات هامة بين المتغيرات في 27 حالة من 35 حالة مدروسة. تبدو هذه المفارقات اظهر بين المجموعة القادمة من الصنوبر و مجموعة الأرز القادمين من الوسط بالنسبة لكل المتغيرات المدروسة. بالنسبة الطول المجموعات البيضة، فان المفارقات هامة في كل الحالات المدروسة. النبتة المضيفة تظهر مفارقات عالية الأهمية بالنسبة لكل المتغيرات المدروسة باستثناء لعدد البيض الذي أفسس. على المستوى الجهوي، تتميز المنطقة الوسطى بمفارقات هامة لكل المتغيرات المدروسة. على مستوى ادنى، تظهر المفارقات هامة لكل المتغيرات ما عدا عدد البيوض غير المفقس بالنسبة للمنطقة الغربية. اما في المنطقة الشرقية، فالمفارقات جد هامة بالنسبة الطول المجموعات البيضية و عدد البيض غير المفقس و العدد الكلي للبيوض في كل مجموعة. اما بالنسبة لعدد البيض المتضرر من الطفيليات، فلا تظهر أي مفارقة لا بين المجموعات الجهوية لا بين المجموعات القادمة من الصنوبر و لا حتى بين مجموعة الصنوبر و الأرز القادمة من الشرق. تحاليل معامل بيرسون لا تظهر أي تلازم بين طول المجموعة البيضية و العلو الجغرافي و كذا بين النسبة للبيض المتضررة من التطفل و العلو الجغرافي. على نفس النحو، الطول الميوسط للمجموعة البيضية لا يتعلق بالمنطقة الجغرافية ولا بالنبتة المضيفة. التمثيلات الهندسية سمحت بتعيين منهجية التكاثر التي تظهر اكثر فعالية لدى بعض المجموعات و كذا مدى تأثير الطفيليات عليها.

بالرغم من أهميتها خلال الفترات الجليدية، تبقى منطقة المغرب غير مدروسة جيدا بالخصوص فيما يتعلق بمظاهر التأقلم الحيواني.

تعتبر الجزائر الحد الجنوبي لدودة الصنوبر و التي تعتبر حساسة للمناخ و كذا النبتة المضيفة مما يحد من انتشارها. تظهر تحاليل الحمض النووي الميثوكوندري تموقع جغرافي محدد للفرعين الجينيين الموجودين في الجزائر. هذان الفرعان يحددان منطقة وسطية تدعى منطقة التلاقي.

تم استعمال مقطع طوله 648 زوج قاعدي الموافق للجزء الجيني للحمض الريبوزومي الناقل من السيتوكروم المؤكسد و كذا 11 علامة قصيرة لإعادة من اجل تحديد البنية الجينية المتعلقة بالمجموعات المدروسة. نتج عن ذلك تعيين 24 تركيبة جينية موزعة على 16 مجموعة، 14 تركيبة من الفرع 1 و 10 تركيبات من الفرع 2. داخل الفرع 1، نجد مجموعتان ثانويتان تضمان المجموعات القادمة من الشمال الغربي من جهة و من الجنوب الغربي من جهة أخرى. اما بالنسبة للفرع الثاني، فالبنية الجينية لا تسمح بالقول بالتباعد الجغرافي. العلامات للحمض النووي المستخرج من النواة تظهر مجموعتان أساسيتان توافقان مع نتائج الحمض النووي الميثوكوندري.

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1 : Les différentes phases d'un cycle de gradation de *Thaumetopoea pityocampa*
- Tableau 2 : Données des sites d'échantillonnage
- Tableau 3 : Sites échantillonnés, d'ouest en est, avec mention de la plante-hôte
(*Ca*, *Cedrus atlantica*; *Ph*, *Pinus halepensis*; *Pp*, *Pinus pinaster*).
Sites du macro-échantillonnage marqués par des majuscules et sites du
micro-échantillonnage en minuscules
- Tableau 4 : Durées des éclosions des populations étudiées
- Tableau 5 : Données numériques concernant les variables continues étudiées
- Tableau 6 : Synthèse des données fréquentielles des catégories des longueurs des pontes
des populations du clade *Pityocampa*
- Tableau 7 : Synthèse des données fréquentielles des catégories des longueurs des pontes
des populations du clade ENA
- Tableau 8 : Synthèse des données fréquentielles des catégories du nombre d'œufs total par
ponte des populations du clade *Pityocampa*
- Tableau 9 : Synthèse des données fréquentielles des catégories du nombre d'œufs total par
ponte des populations du clade ENA
- Tableau 10 : Synthèse des ANOVA pour les variables considérées
- Tableau 11 : Valeurs du coefficient de Pearson avec la probabilité de Student correspondantes
pour les paires de variables considérées pour l'ensemble des données
- Tableau 12 : Valeurs du coefficient de Pearson et valeurs de probabilité de Student
correspondantes pour les paires de variables considérées par site
- Tableau 13 : Classes de la longueur des pontes et pourcentage par site
en fonction de la plante-hôte
- Tableau 14 : Classes de longueur des pontes par région
- Tableau 15 : Classes de longueur des pontes par plante-hôte
- Tableau 16 : Diversité génétique et haplotypique pour les données de l'ADN mitochondrial
- Tableau 17 : Résultats d'analyse SAMOVA en fonction des clades étudiés
- Tableau 18 : Résultats des tests de neutralité sur la base des résultats de l'analyse SAMOVA
($K = 8$)
- Tableau 19 : Pourcentage d'allèles nuls pour l'ensemble des loci utilisés
- Tableau 20 : Indices de la diversité génétique pour les données microsatellites

Tableau 21 : Valeurs F_{st} par paire de populations du macro-échantillonnage (a)
et micro-échantillonnage (b)

Tableau 22 : Données de l'analyse AMOVA pour les données microsatellites divisées en
fonction des résultats SAMOVA pour les valeurs $K = 2$ et $K = 8$ pour les groupes
de populations par plante-hôte

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 : Distribution géographique des clades de *Thaumetopoea pityocampa* et de *Thaumetopoea wilkinsoni*
- Figure 2 : Chronologie des écophases de développement de la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa*
- Figure 3 : Papillons mâle et femelle de *Thaumetopoea pityocampa*
- Figure 4 : Ponte de la processionnaire sur pin d'Alep (Reboisement de Moudjbara) (a).
Ponte de la processionnaire du pin sur le cèdre de l'Atlas (b).
- Figure 5 : Lieu d'enfouissement des chenilles processionnaires du pin
- Figure 6 : Probabilité de survie et survie observée au laboratoire des larves de *Thaumetopoea pityocampa* en fonction du cumul des températures négatives
- Figure 7 : Disparités géographiques du cycle de la processionnaire du pin
- Figure 8 : Principaux auxiliaires de la chenille processionnaire du pin
- Figure 9 : Distribution temporelle des espèces d'oiseaux prédateurs en relation avec le cycle de la processionnaire
- Figure 10 : Ampleur des dégâts de la processionnaire du pin sur dans le reboisement de Moudjbara (zone semi-aride) (a). Dégâts des premiers stades de la processionnaire du pin sur un jeune sujet de pin d'Alep (b). Défoliation totale dans les reboisements de la région de Djelfa (c).
- Figure 11 : Répartition des sites d'échantillonnage en fonction de la plante-hôte
- Figure 12 : Données paramétriques représentées par population pour les différentes variables quantitatives étudiées
- Figure 13 : Analyse fréquentielle des longueurs des pontes pour le clade Ouest (*Pityocampa*)
- Figure 14 : Analyse fréquentielle des longueurs des pontes pour le clade Est (ENA)
- Figure 15 : Analyse fréquentielle du nombre d'œufs par ponte pour le clade Ouest (*Pityocampa*)
- Figure 16 : Analyse fréquentielle du nombre d'œufs par ponte pour le clade Est (ENA)
- Figure 17 : Distribution des valeurs du nombre d'œufs éclos/ponte en fonction du nombre total d'œufs/ponte
- Figure 18 : Distribution des valeurs du nombre d'œufs éclos/ponte en fonction du nombre d'œufs non-éclos/ponte

- Figure 19 : Distribution des valeurs du nombre d'œufs éclos/ponte en fonction du nombre d'œufs parasités/ponte
- Figure 20 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour la population de Tlémcen (TL)
- Figure 21 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour la population de Theniet El Had (TE)
- Figure 22 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour la population de Bouarfa (BF)
- Figure 23 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour la population de Chréa (CR)
- Figure 24 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour la population de Batna (BP)
- Figure 25 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour la Population de Chélia (CL)
- Figure 26 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour l'ensemble des populations de pin
- Figure 27 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour l'ensemble des populations du cèdre de l'Atlas
- Figure 28 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour les populations de la région Ouest
- Figure 29 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour les populations de la région Centre
- Figure 30 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour les populations de la région Est
- Figure 31 : Classification ascendante hiérarchique des individus de la population de Tlémcen (TL)
- Figure 32 : Classification ascendante hiérarchique des individus de la population de Theniet El Had (TE)
- Figure 33 : Classification ascendante hiérarchique des individus de la population de Bouarfa (BF)
- Figure 34 : Classification ascendante hiérarchique des individus de la population de Chréa (CR)
- Figure 35 : Classification ascendante hiérarchique des individus de la population de Batna (BP)

Figure 36 : Classification ascendante hiérarchique des individus de la population de Chélia (CL)

Figure 37 : Réseau haplotypique des deux clades (*pityocampa et ENA*) construit à partir des données d'ADN mitochondrial (fragment de 648 Pb du gène tRNA-Leu-cox2)

Figure 38 : Arbre phylogénétique des haplotypes obtenus et confronté à ceux de Kerdelhué *et al.*, 2009. *T. wilkinsoni* est un groupe de contrôle

Figure 39 : Résultats de l'assignement des individus pour les données microsatellites groupées par population $K = 2$. A) L'ensemble des données, B) Populations du nord-ouest du pays et C) Populations du sud et de l'est du pays.

INTRODUCTION

Les populations des espèces animales de la région du paléarctique, qui se compose essentiellement du nord de l'Afrique, restent très peu étudiées comparées à celles d'autres régions du monde (Le Houérou, 1997 et 2009).

Le Maghreb a été le lieu d'une orogénèse importante pendant le miocène aboutissant à la formation d'importants massifs montagneux dans la partie ouest (le moyen et haut Atlas et le Rif) ainsi qu'à l'est (l'Atlas tellien) qui ont été faiblement reliés au sud par l'Atlas saharien (De Jong, 1998). Ces milieux rocailleux ont servi de refuge pour un nombre important de plantes et d'animaux pendant les glaciations de la fin du Tertiaire et du Quaternaire (Husemann *et al.*, 2014).

Plusieurs exemples montrent que des populations d'une même espèce se sont séparées en allant soit vers l'est soit vers l'ouest, à titre d'exemple les ténébrionidés aptères (Condamine *et al.*, 2013), les scorpions (Sousa *et al.*, 2012), les escargots terrestres (Guiller *et al.*, 2010), les amphibiens (Zangari *et al.*, 2006 ; Nicolas *et al.*, 2015), les reptiles (Barata *et al.*, 2008 ; Fonseca *et al.*, 2009 ; Fritz *et al.*, 2009 ; Kaliontzopoulou *et al.*, 2011 ; Santos *et al.*, 2012 et Stuckas *et al.*, 2014) et les mammifères (Cosson *et al.*, 2005 ; Biollaz *et al.*, 2010 et Ben Faleh *et al.*, 2012).

Diverses populations d'insectes ayant recolonisé l'Europe se sont réfugiées dans la région du Maghreb (Horn *et al.*, 2006 ; Habel *et al.*, 2008, 2009 et 2011) en raison de leur dépendance vis-à-vis de leurs hôtes (Terrab *et al.*, 2006 ; Grivet *et al.*, 2013).

Concernant la chenille processionnaire *Thaumetopoea pityocampa*, principal défoliateur des essences de pins et du cèdre de l'Atlas dans le pourtour méditerranéen (Robinet *et al.*, 2011), ses populations se retrouvent sur tout le pourtour méditerranéen. Elles se caractérisent par une dispersion basée sur le sexe étant donné que les femelles se déplacent sur des distances limitées par rapport aux mâles qui parcourent de longues distances. Ces observations ont été confirmées par des études écologiques (Sauvard et Yart, 2015) et génétiques (Salvato *et al.*, 2005).

L'Algérie se compose de massifs forestiers importants qui recouvrent plus de 4 millions d'hectares, soit un peu plus de 1,6% de la superficie du pays et de l'ordre de 8% du Nord du pays. La surface effective recouverte par les différentes essences forestières est égale à 1,3 millions d'ha et le reste étant constitué de maquis et de garrigues. Le déficit forestier est évalué aujourd'hui à environ 3,8 millions d'ha (DGF., 2004).

Les divers facteurs de dégradations anthropiques, liés aux incendies, au surpâturage et à l'exploitation irraisonnée de la forêt constituent une véritable barrière face aux efforts nationaux pour la compensation des pertes de la richesse forestière (DGF., 2004).

D'autres facteurs, de moindre importance, tels que les déprédateurs, sont considérés comme des facteurs aggravants qui peuvent causer des pertes assez conséquentes.

La chenille processionnaire représente une menace réelle pour l'Homme et pour d'autres animaux, sauvages et domestiques (Battisti *et al.*, 2011), en raison des poils urticants des larves qui provoquent des réactions allergiques spectaculaires au niveau de l'épiderme ainsi que la muqueuse des organes sensoriels, à savoir les cavités nasales et buccales ainsi que la conjonctive (Martin *et al.*, 2007).

Les dégâts de la processionnaire du pin consistent en une défoliation significative, parfois complète, de l'arbre ce qui permet l'installation d'autres déprédateurs secondaires, particulièrement les xylophages (Bouchou et Chakali, 2014).

L'importance de ses dégâts a mené à la désignation de cet insecte comme étant le principal défoliateur des essences de pins des pays du pourtour Méditerranéen ayant suscité le développement de plusieurs projets d'étude et de recherche menés par plusieurs chercheurs tels que Billioti (1958), Démolin (1962, 1963, 1969a, b, 1971 et 1990), Huchon et Démolin (1970, 1971), Démolin *et al.*, (1996), Montoya (1981), Géri (1980, 1983a, b), Battisti (1988), Masutti et Battisti (1990).

Les diverses contributions ont permis de rassembler des données fondamentales concernant la biologie ainsi que d'autres aspects de la dynamique des populations de l'insecte dans son aire de répartition.

Le constat réalisé dans le bassin parisien, à la fin des années 1990, a laissé suggérer une possible expansion de l'aire de répartition des populations de chenilles processionnaires probablement en relation avec l'élévation des températures hivernales (Benigni et Battisti, 1999). Cette hypothèse a été confirmée par les travaux de Battisti *et al.*, en 2005 qui concluent à la capacité de l'insecte à s'étendre en latitude et en altitude suite aux moindres variations thermiques.

Cette plasticité géographique a élu l'insecte à devenir le modèle biologique adopté par le projet international PROMOTH initié en 2002 (Rosenzweig *et al.*, 2007).

Les changements climatiques en cours sont en faveur des mouvements vers le nord de la processionnaire du pin (Rousselet, 2011). Cet insecte représente aussi un modèle biologique pour l'étude des variations climatiques (Roques *et al.*, 2015) grâce à sa faculté d'adaptation, sa supériorité par rapport à ses compétiteurs et la diminution des niveaux de populations de ses ennemis naturels (Battisti *et al.*, 2005 et Kimoto et Duthie-Holt, 2006).

L'Algérie représente la limite de répartition sud où les larves de chenilles processionnaires se développent sur les essences de pin et celle du cèdre de l'Atlas (Gachi, 1996 ; Sbabdji *et al.*, 2009 et El Mokhefi *et al.*, 2015).

Les niveaux de populations sont devenus plus importants qu'auparavant depuis la mise en place du barrage vert composé exclusivement de pin d'Alep *Pinus halepensis* mettant en péril les jeunes plantations des zones semi-arides (Bouchou et Chakali, 2014).

Plusieurs auteurs ont porté leur attention sur l'étude de l'éco-biologie de la processionnaire en Algérie tels que Zamoum (1998), Berretima (2012) ; Bouchou et Chakali (2014) ; Sebti et Chakali (2014) et Bouchrou (2015).

Des travaux sur la phylogénie et la caractérisation moléculaire des populations de chenilles processionnaires ont été menés à travers le monde (Salvato *et al.*, 2002 ; Simonato *et al.*, 2007 et 2013 ; Kerdelhué *et al.*, 2009 et Zahiri *et al.*, 2013).

Le travail de Kerdelhué *et al.*, (2009) a mis en évidence l'existence en Algérie de 02 clades génétiquement différenciés et bien localisés géographiquement : le clade *pityocampa sensu stricto* et le clade ENA (Eastern-North Africa). Cette distribution spécifique peut supposer l'existence d'une stratégie de reproduction propre à chaque clade.

Les faits marquants autour du problème de la chenille processionnaire et ses gradations en Algérie ont constitué la base de la problématique du présent travail.

Le présent travail apporte une contribution à la compréhension du comportement éco-biologique de la processionnaire du pin en Algérie ainsi qu'une analyse de la composante génétique de ses populations vivant sur différentes plantes-hôtes. Il se compose de quatre chapitres : le modèle biologique ainsi que ses hôtes sont présentés dans le premier, le deuxième présente le matériel et les méthodes utilisées, le troisième renferme les résultats obtenus et le quatrième les discussions.

Une conclusion ainsi que des perspectives sont présentées à la fin du document.

PREMIER CHAPITRE
DONNEES SUR LA PROCESSIONNAIRE *THAUMETOPOEA*
***PITYOCAMPA* ET SES HOTES**

1. Histoire et taxonomie des espèces du genre *Thaumetopoea*

En l'année 77, Dioscoride (in Matthioli, 1562) décrit dans son ouvrage « *De Materia medica* » le caractère urticant de larves appelées '*pityocampes*' vivant sur les essences de pins en Italie. Mais bien avant, entre 314 et 313 A.J., le botaniste grecque Théophraste de Erses propose dans son ouvrage intitulé « *Historia Plantarum* » une préparation à base d'une plante (l'inule), de vin et d'huile à utiliser contre les vipères, les tarentules, les larves de processionnaires sur pins et autres reptiles (Amigues, 2006).

La processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa*, est un insecte de l'ordre des Lépidoptères qui s'alimente principalement des essences du genre *Pinus*. Elle fait partie de la famille des Notodontidae et de la sous-famille des Thaumetopoeinae. Elle a été décrite par Denis et Schiffermüller en 1775. Une diversité composée de 12 espèces de processionnaires du Paléarctique et de la région Afro-tropicale compose la sous-famille des Thaumetopoeinae (Agenjo, 1941 ; Kiriakoff, 1970 et Schintlmeister, 2013). Elles peuvent être réunies en 2 groupes, selon leur comportement éco-biologique de leur cycle : 1) les processionnaires d'été et 2) les processionnaires d'hiver (Simonato *et al.*, 2007).

1.1. Dans le monde

La sous-famille des Thaumetopoeinae renferme 100 espèces réparties entre 23 genres largement réparties en Afrique, dans la région de la Méditerranée, dans le sud de l'Europe et au moyen orient, l'Australie et la Nouvelle Calédonie (Kiriakoff, 1970 ; Schintlmeister, 2013).

Les principales processionnaires forestières se répartissent comme suit :

- *T. processionnea*, la processionnaire du chêne qui se localise en Europe et au Moyen Orient, sauf à l'extrême nord ;
- *T. pityocampa*, la processionnaire du pin, qui se localise en Europe, au Moyen Orient et en Afrique du Nord ;
- *T. wilkinsoni* au Moyen Orient, vit sur *Pinus halepensis*, *Pinus pinea* et *Pinus canariensis* ;
- *T. pinivora* attaque *Pinus sylvestris* surtout dans le nord de l'Europe ;
- *T. bonjeani*, la processionnaire du cèdre, qui est endémique au Nord de l'Algérie et au Maroc.

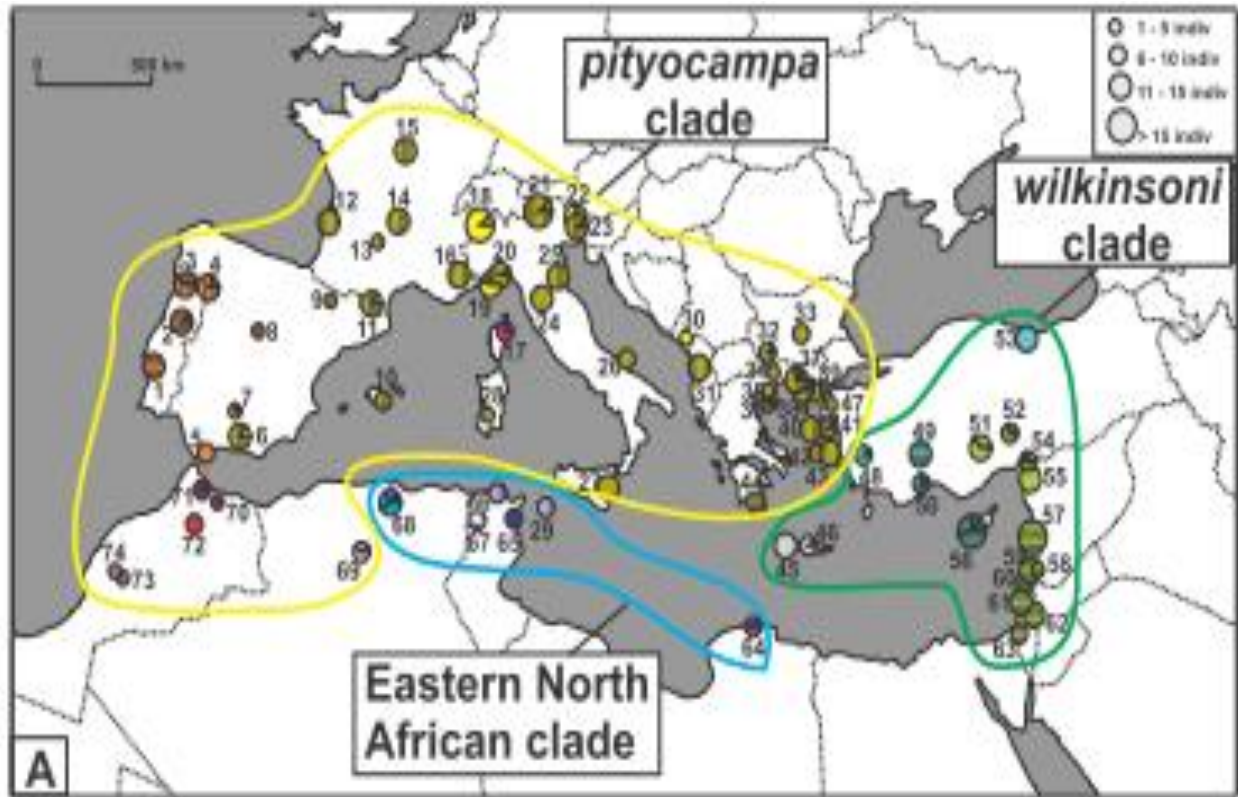
Les exigences de ces diverses espèces sont variables selon leur biotope. De récentes études ont été conduites afin de caractériser l'évolution phylogénétique des différentes espèces et leurs caractéristiques cladistiques (Zahiri *et al.*, 2013).

Les études de la structure phylogéographique du complexe d'espèces du genre *Thaumetopoea* ont été conduites sur l'ensemble du pourtour méditerranéen afin de caractériser le degré de divergence entre certaines espèces, à savoir *T. pityocampa* et *T. wilkinsoni*, et de préciser les aires de leur distribution. De même, la caractérisation dans des zones de contact potentielles, a montré que les lignées maternelles sont fortement structurées dans l'espace (Kerdelhué *et al.*, 2009).

Les auteurs précités ont mis en évidence trois principaux clades fortement différenciés sur l'ensemble des pays méditerranéens. Un clade présent en Europe (Est de la Grèce, la France, l'Italie et une partie des Balkans) et dans une partie du Maghreb (Maroc et sud de l'Algérie), il correspond à *T. pityocampa* ou clade *pityocampa*. Le second clade regroupe les populations de Chypre, Turquie, Liban, et pourrait correspondre à *T. wilkinsoni* ou clade *wilkinsoni*. Un troisième clade comprend les individus d'une partie de l'Algérie, de Tunisie et de Libye, et ne correspond à aucune entité taxonomique connue, c'est le clade ENA ou Eastern-North Africa.

Ces investigations ont mis en évidence également une très forte structuration spatiale au sein de chacun des trois clades majeurs. Le clade *pityocampa* est ainsi formé de 5 sous-clades (Sud Maroc, Nord Maroc, Corse, Péninsule Ibérique, et reste de l'Europe), le clade *wilkinsoni* contient 4 sous-clades (Crête, Chypre, Est-Turquie et Ouest-Turquie) et le clade ENA en contient 3 (Algérie, Tunisie et Libye) (Kerdelhué *et al.*, 2009).

L'aire de répartition des clades de la processionnaire est illustrée par la figure 1.



(Kerdelhué *et al*, 2009).

Figure 1 : Distribution géographique des clades de *Thaumetopoea pityocampa* et de *Thaumetopoea wilkinsoni*

Il est à noter que l'expansion de la processionnaire s'est accélérée, avec un déplacement moyen de 5,5 kms/an ces dernières années. La processionnaire a également progressé en altitude de 110 à 230 mètres dans les Alpes entre 1975 et 2004 (Battisti *et al.*, 2005).

1.2. En Algérie

Les populations de chenilles processionnaires se retrouvent en Algérie dans l'aire de répartition de ses essences hôtes principalement dans les reboisements du projet du barrage vert jusqu'à sa limite sud (Bouchou et Chakali, 2014).

Les chenilles continuent de monter en altitude comme il a été reporté par Sebti et Chakali (2014). En effet, sur le massif de Chréa, les distributions spatiale et temporelle des nids ainsi que leur abondance sont significativement plus importantes en haute altitude (1200-1400 m) comparées aux altitudes plus basses (1000-1200 m), ce qui reflète le potentiel dynamique de la processionnaire. Selon Démolin (1969), cette stratégie vient en réponse au stress thermique lié à l'élévation des températures estivales. Ces dernières affectent le cycle biologique de l'insecte ainsi que sa performance à se nourrir (Battisti *et al.* 2005).

2. Essences hôtes et stratégie du choix

Les populations de chenilles processionnaires du pin et du cèdre se nourrissent des aiguilles d'une diversité d'essences de pin et de cèdre. Martin (2005) classe les essences hôtes selon une échelle de préférence comme suit :

- Pin noir d'Autriche (*Pinus nigra* subsp. *Nigricans* Host) ;
- Pin Laricio de Corse (*Pinus nigra* subsp. *Laricio* Poiret) ;
- Pin Laricio Sulzmann (*Pinus nigra* subsp. *Clusiana* Clem.) ;
- Pin maritime (*Pinus pinaster* Ait.) ;
- Pin sylvestre (*Pinus sylvestris* L.) ;
- Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.);
- Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) ;
- Cèdre du Liban (*Cedrus libani* Richard.) ;
- Douglas (*Pseudotsuga menziesii* Mirb.) ;
- Sapin (*Abies concolor* Lindl).

Le choix de l'hôte est lié au critère relationnel entre la ponte de la femelle et le diamètre des aiguilles choisies (Démolin, 1969). Au cours de l'émission des œufs, la femelle peut différencier entre les diverses espèces d'arbres ; les supports rugueux sont les plus prisés car ils offrent la possibilité d'une attache optimale des griffes de la femelle.

Des études ont également montré que la stratégie du choix de l'arbre hôte dépend de la présence de substances volatiles émanant des tissus des aiguilles, comme le limonène (Tiberi *et al.*, 1999).

De plus, des paramètres physico-chimiques (taux de nitrogène) de l'essence hôte peuvent influencer le développement des larves et même leur survie (Hodar *et al.*, 2002).

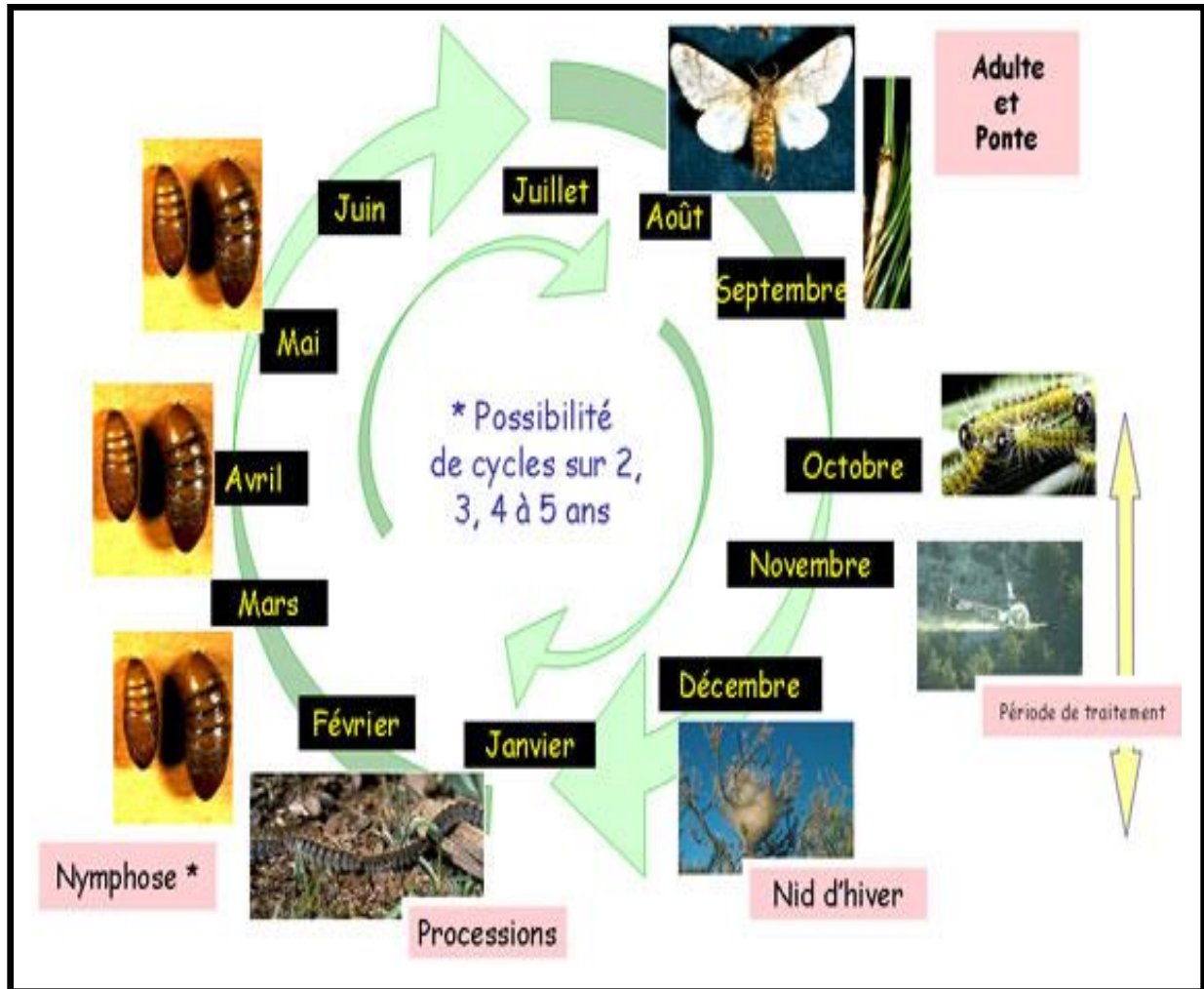
Le taux de survie des chenilles est supérieur sur *Pinus sylvestris* et *Pinus nigra* à celui du *Pinus pinaster* et *Pinus halepensis* (Montoya, 1984).

3. Dynamique des populations et bio-écologie de la processionnaire *Thaumetopoea pityocampa*

3.1. Comportement biologique

La processionnaire du pin est une espèce univoltine. Son cycle peut s'étaler, selon les conditions écologiques du milieu, sur plusieurs années. Le développement de la processionnaire du pin dépend très fortement des conditions climatiques du milieu notamment la température et l'ensoleillement. De même, de fortes variations sont notées dans son cycle selon la latitude et l'altitude des sites. Le cycle s'effectue en deux phases à deux strates différentes de l'écosystème : 1) une phase aérienne (ponte et évolution larvaire en cinq stades) et 2) une phase souterraine (pré-nymphose et nymphose) (Martin *et al.*, 2007).

Les différentes écophases sont synthétisées et illustrées par la figure 2.



Martin *et al.*, (2007).

Figure 2 : Chronologie des écophases de développement de la processionnaire du pin
Thaumetopoea pityocampa

3.1.1. Phase aérienne

La durée de la phase aérienne varie de cinq à huit mois et s'effectue en plusieurs étapes de l'émergence des papillons jusqu'à l'enfouissement dans le sol des chenilles du dernier stade.

3.1.1.1. Emergences

Au cours de la période estivale, les adultes de la processionnaire du pin émergent du sol avec un maximum d'émergence noté vers la seconde décade de juillet. Ils se libèrent de leur cocon grâce à des crêtes sclérifiées, situées sur leur tête, qui leur permettent de découper l'enveloppe qui les entoure (Démolin, 1969).

Les adultes ont une longévité limitée de 24 à 48 heures. Dès leur sortie, les adultes sont actifs et peuvent parcourir plusieurs kilomètres voir même plusieurs dizaines de kilomètres pour les mâles à la recherche d'une partenaire. Malgré le dimorphisme sexuel prononcé, les deux sexes se ressemblent notamment par leurs ailes de couleur gris-blanchâtre. L'envergure des adultes varie de 30 à 35 mm (Fig. 3).

Les mâles ont tendance à sortir les premiers le soir au crépuscule et sont suivis, peu de temps après, par les femelles. Quelques heures après leur émergence, l'activité et la fécondité des papillons débutent (Guerrero *et al.*, 1981).

Après quelques heures de l'accouplement, le mâle meurt et la femelle se dirige au vol à la recherche d'un site idéal de ponte en relation avec les composés volatiles (Paiva *et al.*, 2011).

La femelle effectue un choix sélectif à l'intérieur du peuplement végétal en comparant le diamètre et la structure des aiguilles (sur pin) ou des rameaux (sur cèdre) rencontrés (Huchon et Démolin, 1970).



Photo : Chakali, 2014.

Figure 3 : Papillons mâle et femelle de *Thaumetopoea pityocampa*

3.1.1.2. Ponte

Sur pin, la femelle rassemble deux aiguilles à l'extrémité d'un rameau pour déposer ses œufs en forme d'un manchon de 4 à 6 centimètres de longueur appelé ponte. Les œufs pondus sont recouvert au fur et à mesure par des écailles protectrices de couleur beige-claire. Le nombre d'œufs pondus par femelle varie de 70 à 300 et l'embryogenèse dure de 30 à 45 jours (Démolin, 1969).

Sur cèdre, la femelle agit différemment, elle dépose ses œufs sur des jeunes rameaux souvent sur leur partie inférieure (Démolin, 1969) (Fig. 4).



(a)



(b)

Photos : Chakali(2014).

Figure 4 : Ponte de la processionnaire sur pin d'Alep (Reboisement de Moudjbara) (a).

Ponte de la processionnaire du pin sur le cèdre de l'Atlas (b).

3.1.1.3. Développement larvaire

Le cycle d'évolution de la processionnaire est marqué par cinq stades larvaires. Deux périodes distinctes sont notées, à savoir : la période ambulatoire, allant de l'éclosion aux premiers froids, et la période du « nid d'hiver » durant laquelle les chenilles restent à un emplacement jusqu'au dernier stade et le départ en procession de nymphose à la recherche d'un site favorable à leur enfouissement (Démolin, 1971).

La durée des stades larvaires dépendant du climat. Plus l'hiver est long, plus la vitesse d'évolution est diminuée principalement au quatrième stade. Dans les cas les plus favorables, l'évolution larvaire s'effectue en général de 4 à 5 mois. En haute altitude, elle peut s'allonger jusqu'à 10 mois (Démolin, 1969).

3.1.1.4. Phase ambulatoire

Dès l'éclosion, les chenilles issues d'une même ponte forment une même colonie et vivent en groupe. La colonie change souvent d'emplacement en fonction de la disponibilité et de la proximité de leur aliment (les aiguilles) (Huchon et Démolin, 1970).

Dès la baisse des températures automnales, la colonie recherche l'endroit le plus favorable sur les rameaux pour construire le nid d'hiver qui agit comme un radiateur solaire permettant une évolution adéquate (Huchon et Démolin, 1970).

3.1.1.5. Propriétés urticantes

Au troisième stade larvaire, de petites poches particulières ou « miroirs » renfermant des poils urticants se développent sur la face dorsale des chenilles. Au moindre danger, les « miroirs » s'ouvrent et les poils, de taille microscopique, sont libérés assurant un barrage venimeux autour de la colonie pour leur protection. Transportés facilement par le plus faible courant d'air, ils envahissent toute la forêt lors des phases de gradation. Ils provoquent, chez l'Homme et les animaux, de nombreux troubles histaminiques limités habituellement à des rougeurs et à des démangeaisons pénibles. L'action allergique des poils urticants peut se compliquer suite à la formation d'œdèmes doublés de troubles oculaires voire même d'accidents respiratoires et de vertiges (Huchon et Démolin, 1970).

3.1.1.6. Le nid d'hiver

Dès que les chenilles choisissent l'emplacement de la construction du nid, ce lieu reste l'endroit définitif à la colonie. Durant la nuit, les chenilles quittent provisoirement le nid pour s'alimenter à partir des aiguilles de pins avoisinantes. Les conditions dans le nid permettent aux chenilles le passage au quatrième puis au cinquième stade larvaire (Huchon et Démolin, 1970).

3.1.1.7. Les processions et leur évolution

Entre la fin janvier et le mois de juin, les chenilles atteignent leur dernier stade et quittent le nid, formant une procession caractéristique de l'espèce jusqu'au lieu d'enfouissement dans le sol. Le climat particulièrement chaud pousse les chenilles à s'enterrer en bordure des clairières et même en sous-bois (Huchon et Démolin, 1970) (Fig. 5).

3.1.2. Phase souterraine

3.1.2.1. Nymphose

Après une quinzaine de jours, les chenilles enfouies entrent dans un état de vie ralentie appelé nymphose, marquée par la diapause des chenilles entourées par des chrysalides individuelles

3.1.2.2. Diapause

La diapause est un arrêt incomplet du développement caractérisée par une diminution notable du métabolisme. La durée de la diapause est variable et est complémentaire, en terme de durée, à celle du développement larvaire afin que le cycle s'achève sur une année. En altitude, où les hivers sont particulièrement rigoureux, la durée d'évolution larvaire est plus longue, la diapause sera alors plus courte pour respecter le cycle annuel univoltine.

A la fin de la période de la diapause, l'activité métabolique intense dure environ un mois et aboutit à la constitution définitive de l'adulte qui est prêt à émerger (Huchon et Démolin, 1970).



Photo : Chakali, 2014.

Figure 5 : Lieu d'enfouissement des chenilles processionnaires du pin

4. Facteurs influençant le développement de la processionnaire

4.1. Facteurs abiotiques

4.1.1. Ensoleillement et photopériode

Selon Huchon et Démolin (1970), la durée moyenne d'insolation annuelle nécessaire au développement des chenilles processionnaires est égale à 1800 heures, c'est la raison pour laquelle leur expansion se limite et ne dépasse pas le nord de la France.

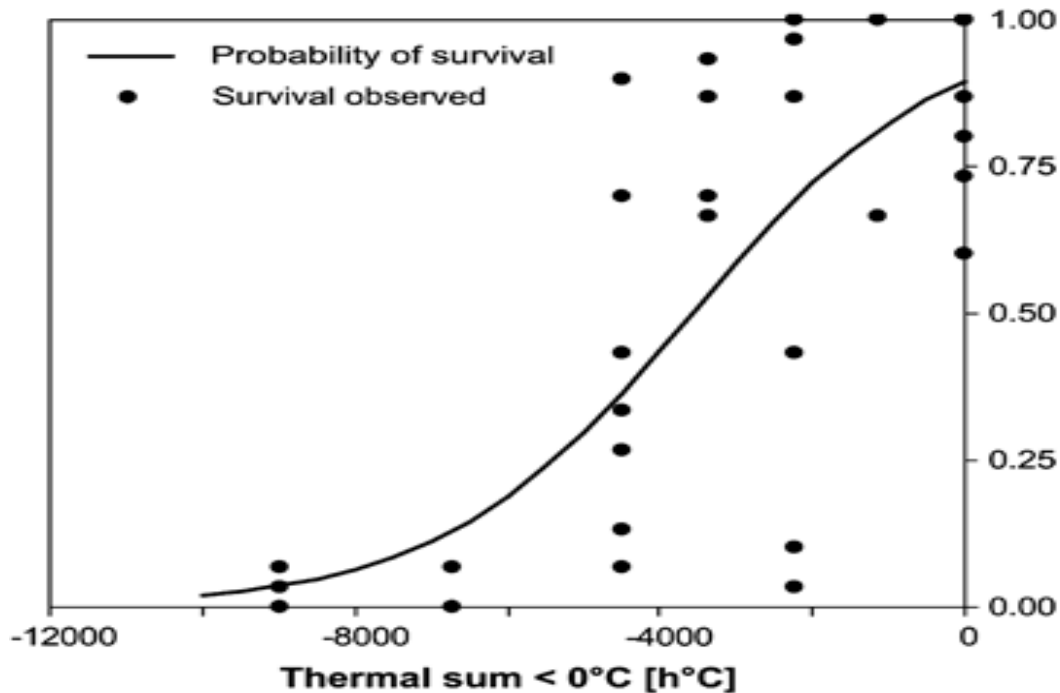
La photopériode joue également un rôle prépondérant dans le cycle de *Thaumetopoea pityocampa*, les chenilles processionnaires s'alimentent la nuit, lorsque les températures sont basses, et se regroupent dans la journée pour digérer (Démolin, 1969).

4.1.2. Température

La température optimale pour le développement des chenilles processionnaires se situe entre 20 et 25°C ; lorsque la température moyenne dépasse 25°C, les individus se regroupent en masse afin de ralentir la montée thermique de chaque individu. De ce fait, les adultes émergeront plus tardivement pour assurer à leur descendance un optimum thermique vital. A l'inverse, plus l'été est doux, en altitude élevée ou latitude nordique, et plus les adultes émergeront précocement (Démolin, 1969).

Les nids d'hiver permettent aux chenilles de compenser d'éventuelles variations climatiques trop brutales, les individus constituant la colonie peuvent ainsi résister à des températures de -10°C tandis que les individus isolés ne peuvent survivre en-dessous de -6°C (Démolin, 1969).

Le cumul des températures négatives (> 3500 heures) peut avoir un effet néfaste sur la survie des larves avec une probabilité inférieure à 50% (Fig. 6).



Hoch *et al.*, 2009.

Figure 6 : Probabilité de survie et survie observée au laboratoire des larves de *Thaumetopoea pityocampa* en fonction du cumul des températures négatives

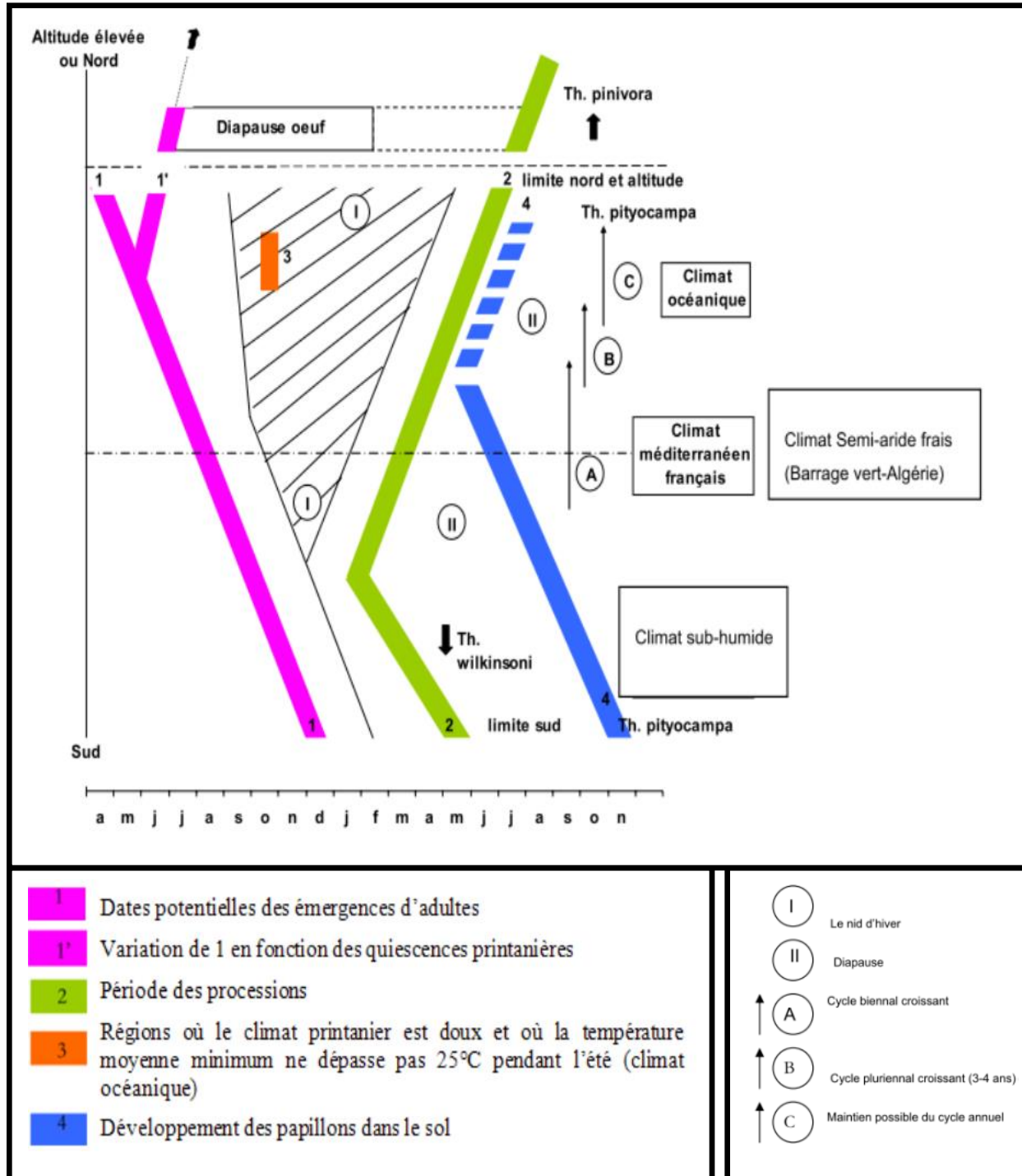
L'alimentation des chenilles dépend de la température ; une température supérieure à 9°C dans le nid durant le jour et une température de l'air supérieure à 0°C la nuit suivante constituent deux conditions indispensables pour stimuler les larves à chercher de la nourriture (Battisti *et al.*, 2005). Si l'une de ces conditions n'est pas respectée, le taux de survie des chenilles diminue significativement (Buffo *et al.*, 2007).

4.1.3. Altitude et latitude

Le développement larvaire est tributaire de trois principaux facteurs :

- 1) la température (l'amplitude thermique précisément),
- 2) la radiation globale,
- 3) la photopériode.

Démolin (1969) propose un abaque représentant la date de déclenchement et la durée des différentes phases du cycle en fonction de la latitude ou de l'altitude (Fig.7). Cet abaque montre une corrélation négative entre l'altitude, et/ou la latitude nordique, et la température moyenne.



Démolin (1969).

Figure 7 : Disparités géographiques du cycle de la processionnaire du pin

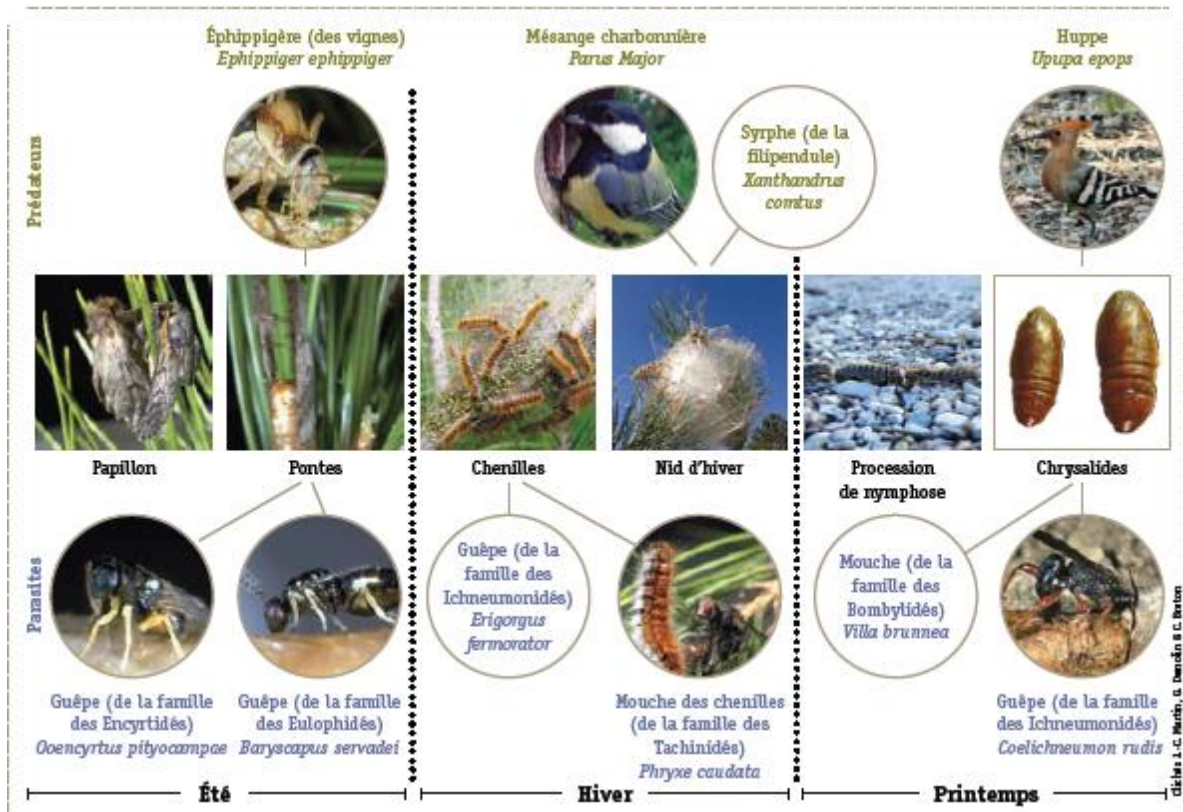
4.2. Facteurs biotiques

4.2.1. Les auxiliaires et leur impact

4.2.1.1. Prédateurs et parasitoïdes

Biliotti (1958) est l'un des premiers auteurs à décrire les ennemis naturels de *T. Pityocampa*. Par la suite, d'autres auteurs ont réalisé des études autour de ses auxiliaires (Biliotti *et al.*, 1965 ; Cadahia *et al.*, 1967 ; Démolin et Delmas, 1967 ; Démolin, 1969 et Du merle, 1969).

En Algérie, des données intéressantes sur les parasitoïdes de la processionnaire du pin en zones-semi-arides ont été présentées par Zamoum (1998). Tout au long des niches écologiques de développement de la processionnaire, de nombreux ennemis naturels font leur apparition. Il s'agit de prédateurs, de parasitoïdes, de champignons ou de bactéries (Fig. 8).



Bonnet et Martin (2008).

Figure 8 : Principaux auxiliaires de la chenille processionnaire du pin

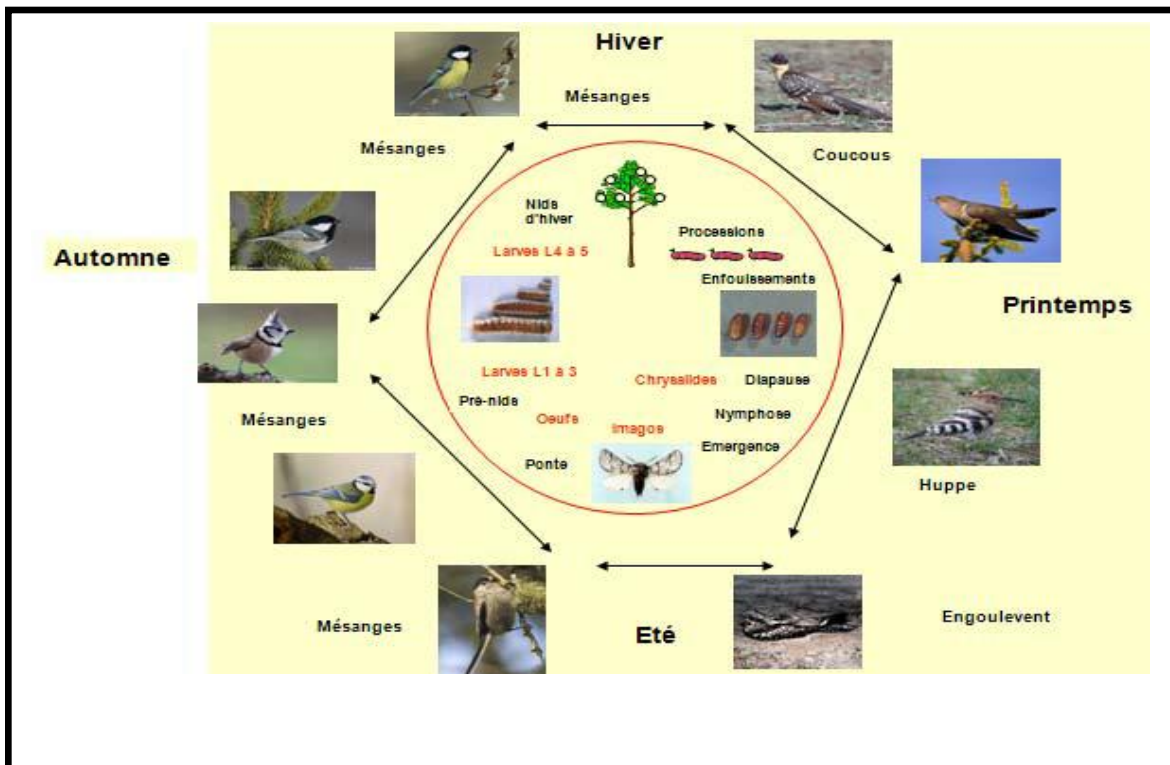
Les œufs sont principalement parasités par *Ooencyrtus pityocampae* et *Baryscapus servadeii* ; ce dernier est spécifique aux espèces du genre *Thaumetopoea* sur lesquelles il ne développe qu'une génération par an bien synchronisée avec la disponibilité des œufs de l'hôte (Battisti, 1989). *O.pityocampae* est polyphage à plusieurs générations par an sur des hôtes divers. Le niveau de parasitisme global peut atteindre localement jusqu'à 45 % (Tsankov *et al.*, 2006).

Les chenilles sont principalement attaquées par le grand calosome, un Coléoptère prédateur vivant ordinairement sur le sol ; sa larve fait la plus grosse consommation. Parfois, elle monte sur les arbres pour s'alimenter de ses proies Barbaro (2008).

La mésange bleue *Parus caeruleus* est un excellent prédateur des chenilles processionnaires dont elle consomme un grand nombre car n'étant pas sensible aux poils urticants (Gonzalez-Cano, 1981 ; Pimentel and Nilsson, 2007 et Barbaro et Battisti, 2011).

Un autre oiseau, le coucou, s'attaque également aux chenilles jusqu'à dans leur nid.

La figure 9 illustre les divers oiseaux prédateurs de la processionnaire.



Barbaro (2008).

Figure 9 : Distribution temporelle des espèces d'oiseaux prédateurs en relation avec le cycle de la processionnaire

Il importe de mentionner que les ennemis naturels des chenilles processionnaires ont un rôle de régulateur des niveaux de populations et ne sont en aucun cas utilisés pour les éradiquer définitivement (Bouchou et Chakali, 2014).

Face à la menace de ses ennemis, la processionnaire du pin a développé une stratégie de maintien grâce aux chrysalides qui peuvent rester plusieurs années dans le sol marquant une diapause prolongée (Géri, 1983a et 1983b et Démolin, 1990).

4.2.1.2. Microorganismes

Selon Bonnet et Martin (2008), les microorganismes parasites de la processionnaire du pin sont au nombre de 2 espèces de champignons et 1 espèce de bactérie. L'espèce de champignon *Cordiceps militaris* s'attaque exclusivement aux chrysalides tandis que l'espèce *Beauveria bassiana* ne s'attaque qu'aux chenilles.

Selon Démolin *et al.*, (1993), la bactérie entomotoxique *Bacillus thuringiensis* est l'agent responsable des pathologies souvent observées sur les chenilles. Elle est utilisée comme moyen de lutte pendant plus de 30 ans (Martin et Bonneaux, 2006).

5. Biogéographie et répartition

Les facteurs écologiques déterminent des aires géographiques favorables à la présence et à l'évolution des chenilles. La présence d'auxiliaires ainsi que la quantité et la qualité des ressources alimentaires, définissent les niveaux des populations.

Le tableau 1 résume les phases des infestations au cours du temps.

Tableau 1 : Les différentes phases d'un cycle de gradation de *Thaumetopoea pityocampa*

Phase de « pro-gradation »	Augmentation des niveaux de populations de chenilles Processionnaires	Période de 1 à 3 ans au cours de laquelle les dégâts occasionnés par les chenilles sont importants et étendus géographiquement
Phase de « culmination »	Pullulation des chenilles à un niveau élevé	
Phase de « rétrogradation »	Diminution des niveaux de populations de chenilles processionnaires	Période de 5 à 8 ans au cours de laquelle les dégâts sont relativement limités
Phase de « latence »	Absence de chenilles ou présence à un faible niveau	

Bouhot-Delduc (2005) ; Khairallah (2010) in Rivière (2011).

6. Impact écologique et sanitaire des infestations

La processionnaire d'hiver, *Thaumetopoea pityocampa*, est la cause de plusieurs problèmes forestiers et sanitaires.

Les dégâts les plus importants sont ceux qui surviennent dans les jeunes plantations de pin et de cèdre de l'Atlas ; en phase de gradation, la défoliation peut être spectaculaire et des arbres entiers sont totalement défoliés (Sbabdji, 2012).

En Algérie, les défoliations des larves de processionnaires concernent toutes les pinèdes et les cédraies, les dégâts sont souvent significatifs dans les forêts naturelles et d'autant plus conséquents dans les plantations reboisées en zones semi-arides (Zamoum, 1998) (Fig. 10).

Les défoliations des arbres provoquent une perte de croissance, donc une diminution de la biomasse (Arnaldo *et al.*, 2010) ; elles sont aussi la raison principale de l'élévation des coûts des traitements en vue du contrôle des populations de chenilles processionnaires (Bouchou et Chakali, 2014).



(a)

(b)



(c)

Photos : Chakali, 2014.

Figure 10 : Ampleur des dégâts de la processionnaire du pin sur dans le reboisement de Moudjbara (zone semi-aride) (a). Dégâts des premiers stades de la processionnaire du pin sur un jeune sujet de pin d'Alep (b). Défoliation totale dans les reboisements de la région de Djelfa (c).

L'impact sanitaire lié aux poils urticants, qui apparaissent dès le troisième stade larvaire, est important surtout dans les zones urbaines. Les poils urticants sont libérés dans l'air dès que la chenille est en danger. Les poils sont présents en quantités importantes dans les nids d'hiver, même après plusieurs années (Battisti *et al.*, 2011).

Toutes les espèces animales, ainsi que l'Homme, laissent apparaître des signes cliniques pouvant être graves (démangeaisons, problèmes respiratoires, ophtalmologiques) suite à l'exposition aux poils urticants (Vega *et al.*, 2011).

DEUXIEME CHAPITRE

MATERIEL ET METHODES

1. Démarche expérimentale pour la caractérisation morphométrique

1.1. Sites d'étude et mensurations

1.1.1. Choix des sites d'étude

L'échantillonnage a concerné deux essences-hôtes ; le pin d'Alep (*Pinus halepensis*) et le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*). La récolte des pontes a été conduite dans 03 sites représentatifs pour chacune des plantes hôtes.

Le choix des sites s'est basé sur la distribution cardinale ; trois groupes ont été constitués :

- groupe appartenant à l'Ouest (TLÉMCEN (TL) et Theniet El Had (TE)),
- groupe appartenant au Centre (Bouarfa (BF) et Chréa (CR)),
- groupe appartenant à l'Est (Batna (BP) et Chélia (CL)).

Les données relatives aux sites prospectés sont synthétisées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Données des sites d'échantillonnage

Régions	Plantes-hôtes	Sites	Codes	Nombre d'individus	Coordonnées géographiques	Altitudes (m)
Ouest	<i>P A</i>	Tlémcen	TL	20	34°36'48.96"N, 1°1'50.56"W	1141
	<i>C A</i>	Theniet El Had	TE	37	35°51'19.64"N, 2°0'7.33"E	1465
Centre	<i>P A</i>	Bouarfa (Blida)	BF	37	36°27'04.42"N, 2°49'30.43"E	605
	<i>C A</i>	Chrèa	CR	26	36°19'36.30"N, 2°38'3.02' E	1400
Est	<i>P A</i>	Batna	BP	50	35°34'02.48"N, 6°12'35.73"E	1203
	<i>C A</i>	Chélia	CL	22	35°18'8.48"N, 6°37'4.17"E	1933

P A : *Pinus halepensis*; *C A* : *Cedrus Atlantica*

1.1.2. Récolte du matériel biologique

Les pontes ont été collectées selon un choix systématique sur des arbres distants d'environ 10 mètres. Au total, 192 pontes de la processionnaire *Thaumetopoea pityocampa* ont été collectées pendant les mois de juillet et d'août 2012 dans les six sites forestiers répartis sur le transect est-ouest de 650 km de long au nord de l'Algérie. Le matériel biologique récolté est conservé individuellement au laboratoire, dans les conditions du milieu ambiant, dans des tubes d'élevage en verre bouchés avec du coton pour permettre une bonne aération.

1.1.3. Recueil des données

Dans un premier volet nous procédons à la mensuration des longueurs des pontes. Le matériel biologique est conservé individuellement par tube et contrôlé quotidiennement afin de suivre et de déterminer la période des éclosions pour chaque population. Dans le second volet, après élimination des écailles protectrices, nous quantifions les différentes catégories des œufs ; non éclos, éclos et parasités.

Les contrôles et les observations régulières des pontes au laboratoire ont permis de déterminer la durée des éclosions.

1.2. Méthodes d'analyse des données

1.2.1. Données paramétriques

Les valeurs de la moyenne, de l'écart-type ainsi que les écarts interquartiles des observations sont calculés pour chaque variable par site par le logiciel R version 0.98.1103 (www.R-project.org). Le même logiciel a été aussi utilisé pour tracer les représentations graphiques inhérentes.

1.2.2. Analyse fréquentielle

L'analyse fréquentielle est une méthode pratique pour la description d'une population ou d'un échantillon par la présentation de la distribution des fréquences selon les classes considérées. Ceci dans le but de caractériser les populations dans leur ensemble et de présenter les données sous une forme synthétique, avec conservation de l'essentiel de l'information contenue dans les valeurs de la variable à établir. Les données sont rangées, puis regroupées dans un nombre restreint de classes. Il s'agit donc d'une distribution qui montre la probabilité d'apparition de toutes les valeurs d'une variable théorique. La forme de la courbe de distribution des observations doit s'ajuster à une distribution de la loi normale (Bouchou, 2015).

Cette analyse a concerné les distributions des classes des longueurs des pontes et la quantification du nombre total d'œufs par ponte afin de tirer des informations sur les populations de la processionnaire du pin dans son aire de répartition.

Les analyses fréquentielles sont conduites en regroupant les données des individus selon leur appartenance cladistique, il en résulte deux groupes : *Pityocampa* (94 pontes) et ENA (98 pontes). Le logiciel utilisé est le Statistica 6.2.1. (StatSoft France (2003)).

1.2.3. Analyse de la variance (ANOVA)

L'analyse de la variance a été utilisée pour tester les différences entre groupes pour chaque facteur considéré : la longueur des pontes, le nombre d'œufs non-éclos, le nombre d'œufs éclos le nombre total d'œufs par ponte et le nombre d'œufs parasités.

Dans un premier temps, les populations ont été groupées selon la région géographique (Ouest, Centre et Est) ; ensuite, l'analyse a porté sur les groupes de populations groupées en fonction de la plante-hôte, aussi bien entre les populations de pin et entre celles du cèdre que pour les populations de pin comparées à celles du cèdre pour l'ensemble des données. Enfin, chaque population de pin d'Alep est comparée à celle du cèdre de l'Atlas pour chaque localité.

1.2.4. Coefficient de corrélation de Pearson

Le logiciel R version 0.98.1103 (www.R-project.org) a été utilisé pour le calcul du coefficient de corrélation de Pearson. Ce paramètre permet d'évaluer la relation entre deux variables quantitatives continues. Dans cette présente étude, ce paramètre a été calculé, dans un premier temps, par paire de variables pour l'ensemble des observations des sites étudiés ; ensuite, par paire de variables pour chaque site. La variable qualitative (plante-hôte) est transformée en variable quantitative par affectation des nombre 1 pour le cèdre de l'Atlas et 2 pour le pin d'Alep. Pour chaque site testé, seules les variables quantitatives relatives aux mensurations des pontes sont prises en considération.

L'échelle proposée par Evans (1996) est utilisée pour classer le niveau de relation entre les deux variables en fonction de la valeur de R, où seules les valeurs de R supérieures à 0,4 sont considérées.

1.2.5. Le test de corrélation de Pearson

Ce type de test fait ressortir la probabilité (P) basée sur la valeur du coefficient de Pearson à travers le test de Student. Il indique le niveau de signification entre deux variables corrélées. Il permet aussi de vérifier l'effet du hasard pouvant affecter la valeur de R.

1.2.6. Test du khi-deux

D'après Snedecor et Cochran (1971), le Khi-2 (X^2) est l'une des distributions théoriques les plus utilisées en statistiques. Il est donné par la formule suivante :

$$X^2 = \sum \frac{(A_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

i : position de la ligne considérée,

j : position de la colonne considérée,

A_{ij} : valeur observée et E_{ij} : valeur prévue ou théorique.

Cette valeur est ensuite vérifiée (testée) en se rapportant au tableau de Snedecor à 5%, 1% et 1% d'erreur admise, en prenant le degré de liberté correspondant (ddl) calculé de la façon suivante :

$$\text{ddl} = (x - 1) (y - 1),$$

x est le nombre de lignes du tableau de contingence et y celui des colonnes.

Les valeurs de la longueur des pontes ont été groupées en 05 classes et le ratio de chaque classe a été calculé pour chaque population.

Le test du Khi-2 a été utilisé pour tester la dépendance de la distribution des classes de longueur des pontes en fonction de la région considérée (Ouest, Centre et Est) ensuite en fonction de la plante-hôte (pin et cèdre de l'Atlas).

Pour chaque test, la valeur du khi-2 ainsi que la valeur de la probabilité correspondante sont déterminées.

1.2.7. Représentation multidimensionnelle (MDS)

Trois graphiques MDS ont été tracés en considérant la totalité des données par site. 1) pour le nombre d'œufs éclos en fonction du nombre total d'œufs par ponte, 2) pour le nombre d'œufs éclos en fonction du nombre d'œufs non-éclos par ponte et 3) pour le nombre d'œufs éclos en fonction du nombre d'œufs parasités par ponte.

Ce type de représentation graphique permet de représenter la contribution et l'influence de chaque composante sur la variable considérée.

1.2.8. Analyse en composantes principales (ACP)

L'analyse en composantes principales (ACP) est une méthode de la statistique multivariée d'analyse de données qui consiste à transformer des variables liées entre elles, dites "corrélées" en nouvelles variables indépendantes les unes des autres donc "non corrélées". Ces nouvelles variables sont nommées "composantes principales", ou axes. L'analyse en composantes principales permet au praticien de réduire l'information en un nombre de composantes plus limité que le nombre initial de variables (Duby et Robin, 2006).

Une série d'analyses en composantes principales pour les variables a été réalisées en utilisant le logiciel R version 0.98.1103 (www.R-project.org). Trois échelles de comparaison ont été considérées pour chaque série : 1) par populations, où les variables longueur des pontes (lp), nombre d'œufs éclos (oe), nombre d'œufs parasités (op) et nombre d'œufs total par ponte (to), sont prises en compte. 2) par plante-hôte (entre les populations de pin et entre celles du cèdre de l'Atlas), où les variables retenues sont celles précitées auxquelles s'ajoute l'altitude (alt). 3) par région géographique (Est, Centre et Ouest), pour l'ensemble des variables de la deuxième échelle d'analyse en plus de la variable plante-hôte (ph).

1.2.9. Classification ascendante hiérarchique (CAH) des individus

Le logiciel R version 0.98.1103 (www.R-project.org) a été utilisé pour la réalisation d'une analyse en vue du groupement hiérarchique des individus pour chaque population en considérant l'ensemble des variables de l'échelle 1 de l'analyse ACP.

Ce type d'analyses permet de constituer et de visualiser les groupes homogènes d'individus pour un ensemble de variables données représentés sur l'ACP.

2. Démarche expérimentale pour la caractérisation génétique

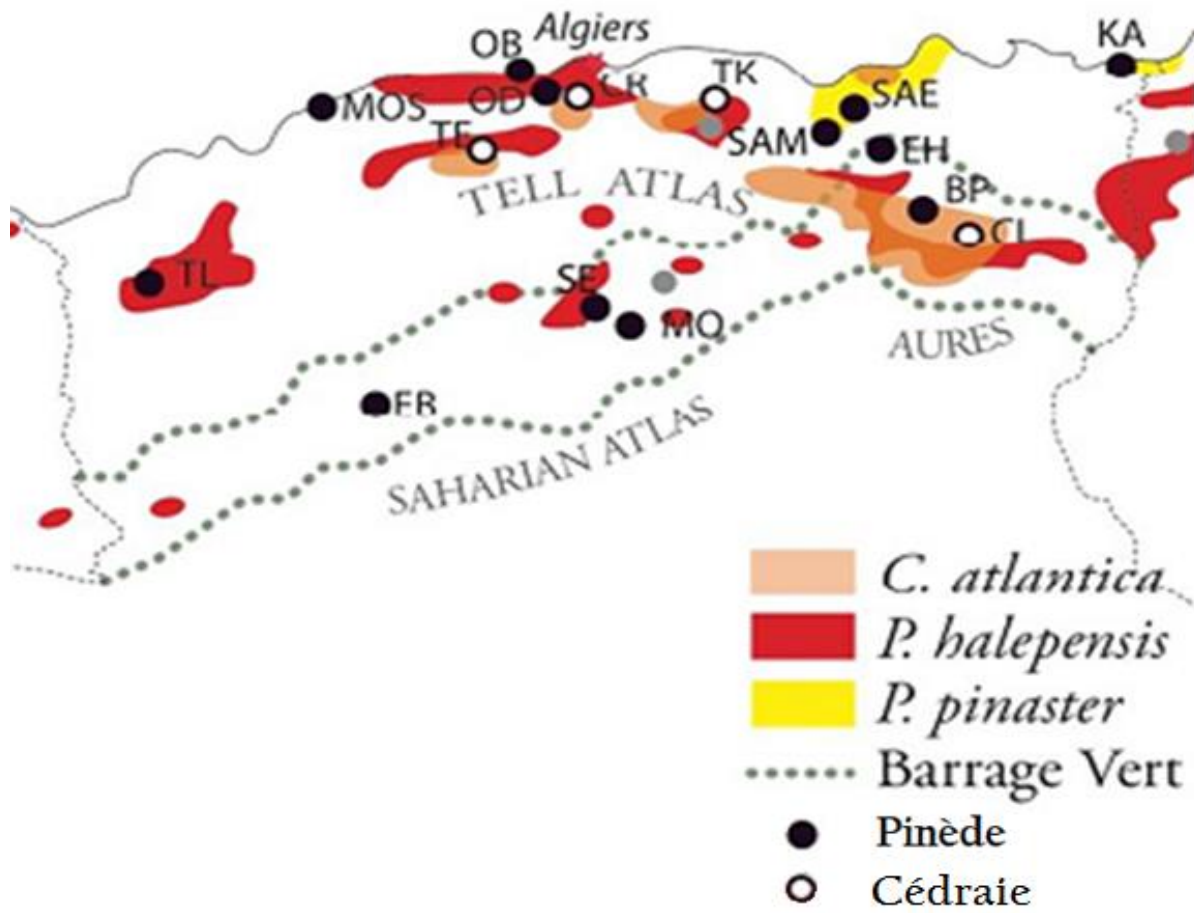
2.1. Sites d'étude et récolte du matériel biologique

Un total de 273 individus de chenilles processionnaires a été collecté entre juillet et août 2012 dans 25 sites forestiers repartis sur le nord de l'Algérie. L'échantillonnage a concerné 03 types de forêts, à savoir les plantations de pin d'Alep (*Pinus halepensis*) (20 sites), à des altitudes variables, les forêts de cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) (4 sites) à de fortes élévations et un site forestier de pin maritime (*Pinus pinaster*) près de la côte maritime à l'est du pays.

Les sites ont été choisis sur la base de leur accessibilité et aucun site de distribution potentielle de l'essence hôte n'a été exclu lors de la prospection.

Deux séries d'échantillonnage ont été effectuées, un macro-échantillonnage couvrant toute l'aire du pays (Fig. 11) est suivie par un micro-échantillonnage concentré autour de la « zone de contact » révélée par l'analyse de l'ADN mitochondrial (voir résultats).

Pour la première série d'échantillonnage, des pontes sont collectées dans 16 sites mentionnés par un code en majuscules dans le tableau 3.



Original.

Figure 11 : Répartition des sites d'échantillonnage en fonction de la plante-hôte

Tableau 3 : Sites échantillonnés, d'ouest en est, avec mention de la plante-hôte
(*Ca*, *Cedrus atlantica* ; *Ph*, *Pinus halepensis* ; *Pp*, *Pinus pinaster*).
Sites du macro-échantillonnage marqués par des majuscules et sites du
micro-échantillonnage en minuscules

Site	Code	Coordonnées géographiques			Elévation (m)	Plante-hôte
		Région (position cardinale)	Latitude	Longitude		
Tlémcen	TL	(SO)	34°36'48.96"N	1°01'50.56"O	1141	<i>Ph</i>
Mostaganem	MOS	(NO)	36°10'42.58"N	0°24'51.94"E	110	<i>Ph</i>
El Bayedh	EB	(SO)	33°35'4.15"N	0°55'48.42"E	1385	<i>Ph</i>
Theniet El Had	TE	(NO)	35°51'19.64"N	2°00'07.33"E	1465	<i>Ca</i>
Oued El Belaa	OB	(SO)	36°36'56.82"N	2°14'24.72"E	59	<i>Ph</i>
Merad	md	(NO)	36°26'13.32"N	2°26'20.54"E	285	<i>Ph</i>
Es-sahel	es	(NO)	36°27'19.78"N	2°30'05.26"E	327	<i>Ph</i>
Boumedfaa	bm	(NO)	36°23'28.88"N	2°31'14.79"E	209	<i>Ph</i>
Oued Djer	OD	(NO)	36°25'28.03"N	2°33'21.03"E	705	<i>Ph</i>
El Hachem	elh	(NO)	36°25'04.39"N	2°34'30.46"E	328	<i>Ph</i>
Ennhaoua	en	(NO)	36°23'49.99"N	2°38'02.34"E	262	<i>Ph</i>
Errayhane	er	(NO)	36°24'06.55"N	2°41'29.87"E	609	<i>Ph</i>
Sidi Madani	sm	(NO)	36°25'25.00"N	2°45'08.20"E	217	<i>Ph</i>
El Hamdania	em	(NO)	36°19'34.53"N	2°45'57.61"E	417	<i>Ph</i>
Bouarfa	bf	(NO)	36°27'04.42"N	2°49'30.43"E	605	<i>Ph</i>
Chrèa	CR	(NO)	36°26'04.15"N	2°53'20.29"E	1453	<i>Ca</i>
Senalba	SE	(SO)	34°38'16.72"N	3°08'03.67"E	1306	<i>Ph</i>
Moudjbara	MO	(SO)	34°30'38.07"N	3°28'53.41"E	1055	<i>Ph</i>
Tikjda	TK	(NE)	36°26'58.54"N	4°7'27.64"E	1500	<i>Ca</i>

Tableau 3 (suite) : Sites échantillonnés, d'ouest en est, avec mention de la plante-hôte (*Ca*, *Cedrus atlantica* ; *Ph*, *Pinus halepensis* ; *Pp*, *Pinus pinaster*). Sites du macro-échantillonnage marqués par des majuscules et sites du micro-échantillonnage en minuscules

Site	Code	Coordonnées géographiques			Elévation (m)	Plante-hôte
		Région (position cardinale)	Latitude	Longitude		
Setif Ain Messaoud	SAM	(NE)	36°12'10.97"N	5°16'03.04"E	1034	<i>Ph</i>
Setif Ain Kebira	SAE	(NE)	36°21'56.13"N	5°29'37.07"E	804	<i>Ph</i>
El Hassi	EH	(NE)	36°08'13.91"N	5°48'06.47"E	963	<i>Ph</i>
Batna	BP	(SE)	35°34'02.48"N	6°12'35.73"E	1203	<i>Ph</i>
Chélia	CL	(SE)	35°18'08.48"N	6°37'04.17"E	1933	<i>Ca</i>
El Kala	KA	(NE)	36°52'29.23''N	8°10'52.62''E	200	<i>Pp</i>

Afin de réduire le biais du lien de parenté, les pontes sont prélevées depuis différents arbres. Les œufs sont maintenus à température ambiante au laboratoire et surveillés régulièrement jusqu'à éclosion. A l'éclosion, 10 larves de la colonie sont transférées dans de l'éthanol à 70° et seulement une seule larve est utilisée pour l'analyse génétique.

Après avoir identifié la zone de contact mitochondrial entre les clades, un échantillonnage plus restreint est effectué où des larves de 9 sites entre les populations Oued Djer (OD) et Chréa (CR) sont collectées.

Chaque larve est prélevée depuis un nid sur des arbres différents et transférée instantanément dans de l'éthanol à 70°. Le matériel biologique conservé dans l'éthanol est stocké à - 20 °C.

2.2. Extraction et amplification de l'ADN

L'extraction de l'ADN est faite selon le protocole du salting-out (Miller *et al.*, 1988).

2.2.1. L'ADN mitochondrial

Pour le macro-échantillonnage, un fragment mitochondrial d'environ 650 Pb, correspondant aux gènes tRNA-Leu et Cytochrome Oxydase II (cox2), a été amplifié en utilisant les amorces C1J2183 et TKN3772 (Simon *et al.*, 2006).

L'amplification PCR est faite dans un volume total de 20 µl contenant 4 µl de 10X tampon-PCR (Promega, Madison, WI), 2 µl de MgCl₂ à 25 nM (Promega), 1 µl de dNTPs à 2 mM (Promega), 0,5 U de Taq-DNA polymérase (Promega), 1,0 µl de chaque amorces (10 µM) et 2 µl d'ADN extrait.

Le cycle d'amplification commence par une étape préliminaire de 96°C pendant 5 minutes suivie de 35 cycles de 96°C pendant 1 minute, 55°C pendant 1 minute, 72°C pendant 1 minute et enfin 72°C pendant 5 minutes pour éliminer le biais de la différence de la taille des fragments amplifiés. Les produits d'amplification sont ensuite séquencés avec une amorce spécifique TKN3772 au centre BMR Genomics sequencing service (Padoue, Italie).

Les séquences sont alignées en utilisant le logiciel MEGA version 6 (Tamura *et al.*, 2013) aboutissant à un alignement de 648 Pb de longueur.

Pour le micro-échantillonnage, les échantillons d'ADN subissent une amplification spécifique par clade qui est utilisée dans le but d'amplifier d'une manière sélective les haplotypes qui constituent chaque clade à part, i.e. pityocampa ou ENA clade (Kerdelhué *et al.*, 2009, voir résultats).

L'amorce C1J2183 a été utilisée en association avec une des deux amorces spécifiques de chaque clade élaborées grâce à Primer3 (<http://primer3.ut.ee/>), il s'agit de hz-tp (5'-GÀCATTGTCATAGÀAG-3') pour amplifier les haplotypes du clade *pityocampa* et hz-te (5'-GGCTATTTAGTTCATCCAG-3') qui amplifie les haplotypes appartenant au clade ENA.

Les paires d'amorces ont amplifié un fragment plus long comprenant une partie du gène de la Cytochrome Oxydase I (cox1), le tRNA-Leu et le cox2. Chaque échantillon a été amplifié avec les deux combinaisons de paires d'amorces.

Les conditions de l'amplification PCR sont les mêmes que celles citées plus haut à l'exception de la durée de la dernière exposition à 72° qui est diminuée à 1 min 30 secondes au lieu de 5 minutes. Les produits de la PCR sont visualisés sous ultra-violet sur gel d'agarose à 1,5%.

2.2.2. L'ADN nucléaire (microsatellites)

Au total, 11 microsatellites ont été utilisés pour le génotypage des échantillons, à savoir Thpit7 – Thpit13 et Thpit15 – Thpit18, décrits dans Burban *et al.*, (2012).

Ces loci ont été choisis en raison de leur succès préalable pour les populations de l'Afrique du nord. Les produits fluorescents de la PCR ont été manipulés et détectés sur le séquenceur automatique ABI 3730 ; le logiciel Genemapper v4.0 software (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) est ensuite utilisé pour la lecture des piques de chaque allèle.

Deux témoins négatifs, sans ADN, sont utilisés à chaque cycle afin de s'assurer de la pureté des échantillons. Le génotypage a été effectué au laboratoire de génotypage et de séquençage de l'INRA de Bordeaux-France.

2.3. Analyse des données génétiques

2.3.1. L'ADN mitochondrial

Pour les échantillons issus du macro-échantillonnage, le logiciel Arlequin version 3,5 (Excoffier et Lischer, 2010) est utilisé pour l'estimation de la diversité haplotypique et nucléotidique pour chaque population.

Le réseau haplotypique regroupant l'ensemble des haplotypes trouvés est construit avec TCS 1,21 (Clement *et al.*, 2000) comme il est décrit par Templeton *et al.*, (1992), avec une probabilité de 95%.

Un arbre phylogénétique a été construit en utilisant la méthode du degré maximal de ressemblance (maximum likelihood ML) et le modèle GTR+G+I grâce au logiciel PhyML 3,0 (Guindon *et al.*, 2010).

Un ensemble de 3 séquences représentant le clade *pityocampa* (origine : Moggio-Italie), le clade ENA (Bizerte, Tunisie) et une espèce considérée comme génétiquement sœur *T. wilkinsoni*, sont retirées de la base de données GenBank (accession numbers HE963112, HE963113 and HE963116, Simonato *et al.*, 2013) et utilisées comme références et out-groupe.

Les haplotypes trouvés dans cette étude sont aussi comparés avec ceux trouvés dans la péninsule Ibérique, l'Algérie, le Maroc, la Tunisie et la Libye dans une étude préalable (Kerdelhué *et al.*, 2009) pour la partie du gène *cox2*,

Une région plus courte, 341 Pb, correspondant à un fragment chevauchant entre les précédents haplotypes et ceux de la présente étude et prise en considération. Cette information ainsi que celle des haplotypes pour le gène *cox2* récupérée depuis Kerdelhué *et al.*, (2009) sont utilisées pour la construction du réseau haplotypique en utilisant le logiciel TCS et le logiciel PhyML 3,0 est utilisé pour l'obtention de l'arbre phylogénétique basé sur le degré maximal de ressemblance.

Le modèle GTR est utilisé en raison de la longueur assez limitée du fragment et la corrélation entre les proportions des sites intra-fragmentaires et le paramètre alpha de la distribution gamma (Nylander *et al.*, 2004).

Le temps de divergence des groupes identifiés dans l'arbre phylogénétique est estimé en utilisant l'approche de l'horloge bayésienne dans le logiciel BEAST 1.7.4 (Drummond et Rambaut, 2007). Le programme BEAUti 1.7.4 (Drummond et Rambaut, 2007) est utilisé pour générer le fichier d'entrée pour BEAST. Pour l'estimation de l'horloge moléculaire, un modèle log-normal non corrélé est utilisé. Une distribution normale préalable est utilisée pour l'estimation de l'âge de l'ancêtre commun le plus récent (mrca) correspondant au nœud représentant la division entre *T. pityocampa* et *T. wilkinsoni*, avec une moyenne de 6,7 million d'années et un écart-type de 0,8 million d'années obtenus depuis l'estimation de Kerdelhué *et al.*, (2009).

L'analyse est lancée pour 10 000 000 générations et échantillonnées chaque 1 000 générations en commençant à partir d'un arbre obtenu au hasard. Un graphique de diagnostic est tracé en utilisant Tracer 1.5 (Rambaut et Drummond, 2007).

L'analyse spatiale de la variance moléculaire (SAMOVA, Dupanloup *et al.*, 2002) a porté sur l'ensemble des données afin d'identifier les groupes de populations géographiquement homogènes après analyse de la plus importante différenciation entre elles.

Les valeurs du coefficient de la variance entre populations (F_{ct}) sont estimées pour toutes les valeurs de K entre 2 et 10 en utilisant le modèle de Kimura à 2 paramètres.

La valeur la plus importante du F_{ct} est ensuite utilisée pour une meilleure détermination du nombre de groupes (Dupanloup *et al.*, 2002). A l'intérieur de ces groupes, les changements démographiques passés ont été testés en utilisant le test de neutralité. La valeur D de Tajima et le test F_s de Fu (Tajima, 1989 ; Fu & Li, 1993) sont calculés dans Arlequin.

Les valeurs négatives significatives du test de neutralité indiquent soit une augmentation de la taille de la population ou une évolution sélective tandis que les valeurs significatives positives sont considérées comme le résultat de l'effet "bottleneck" ou une section équilibrée.

Pour le micro-échantillonnage autour de la zone de contact, la fréquence des ensembles *pityocampa*/ENA est indiquée sur la carte selon le transect ouest-est entre les populations de Oued El Belaa (OB) et de Chréa (CR).

2.3.2. Les microsatellites

Le pourcentage d'allèles nuls ($\%NA$) a été estimé selon l'algorithme EM (Dempster *et al.*, 1977) du logiciel FreeNA (Chapuis et Estoup, 2007).

Les hétérozygoties attendue (H_e) et observée (H_o), la richesse allélique (R_a) et le nombre effectif d'allèles (A_e) pour chaque population ont été calculés en utilisant le logiciel Genetix 4.05.2 (Belkhir *et al.*, 1996-2004).

Pour l'indice de différenciation génétique F_{st} , le logiciel FreeNa (Chapuis et Estoup, 2007) est utilisé avec la correction ENA pour les allèles nuls. Le logiciel Arlequin, en utilisant l'estimation de la F_{st} de Slatkin (1995) : $F_{st} [F_{st} / (1 - F_{st})]$ entre populations à l'intérieur de chaque clade, est utilisé pour le calcul de la probabilité (p -value) est aussi calculée pour évaluer le niveau de signification des valeurs obtenues.

2.3.3. Structure des populations

Les individus ont été rassemblés en groupes sur la base de leurs génotypes multilocus en utilisant la méthode d'inférence bayésienne dans le logiciel STRUCTURE 2.3.3 (Pritchard *et al.*, 2000). Le nombre répétitions est égal à 100,000 et le nombre de simulations de la chaîne de Markov Monte Carlo (MCMC) égal à 100 000 avec le modèle qui permet la mixture.

L'analyse a été effectuée pour un nombre de groupes (K) variant de 1 à 10. La valeur optimale de (K) représentative des données a été déterminée avec la méthode du Delta K décrite par Evanno *et al.*, (2005) en utilisant STRUCTURE HARVESTER (Earl et VonHoldt, 2012). La courbe de Log P(X|K) est examinée pour les différentes valeurs de K afin de détecter l'aspect le plus stable.

Pour vérifier la consistance des résultats, une série de 20 répétitions d'analyses indépendantes est faite pour chaque valeur de K. Les résultats sont visualisés sous DISTRUCT 1.1 (Rosenberg, 2004). Les individus avec des valeurs de q entre 0,1 et 0,9 représentent une introgression et sont de ce fait assignés à deux 2 groupes au minimum.

Les résultats de STRUCTURE sont bien connus pour être fortement dépendants de la taille de l'échantillon pour chaque groupe (Kalinowsky, 2011). Par conséquent, les données du macro-échantillonnage sont prises en compte dans un premier temps ensuite, les données du micro-échantillonnage sont ajoutées tout en examinant la consistance des résultats à chaque fois.

Enfin, l'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) (Excoffier *et al.*, 1992) est effectuée dans Arlequin, en utilisant les valeurs Fst comme distance génétique avec 10,000 permutations pour chaque série. Les données microsatellites du macro-échantillonnage sont utilisées afin de déterminer le pourcentage de la variance expliquée par la plante-hôte (cèdre / pin) et par le clade mitochondrial (ENA / pityocampa) de chaque population préalablement obtenue par l'analyse SAMOVA pour K = 2.

TROISIEME CHAPITRE

RESULTATS

1. Données recueillies sur les pontes

Les données temporelles des éclosions sont regroupées dans le tableau 4.

Pour l'ensemble des sites prospectés, le début des éclosions a été noté au cours du mois de juillet entre le 5^e et le 21^e jour pour les populations considérées. La durée des émergences des colonies contrôlées s'est étalée sur 24 jours pour la population de CR (Chrèa) et 44 jours celle de Bouarfa (BF).

Tableau 4 : Durées des éclosions des populations étudiées

Sites	Date de la première éclosion	Date de la dernière éclosion	Durée d'éclosion (jours)
Tlémcen (TL)	19/07/2012	16/08/2012	29
Theniet El Had (TE)	21/07/2012	15/08/2012	26
Bouarfa (BF)	07/07/2012	19/08/2012	44
Chrèa (CR)	16/07/2012	08/08/2012	24
Batna (BP)	05/07/2012	15/08/2012	42
Chélia (CL)	18/07/2012	13/08/2012	27

Les données recueillies des mensurations et de la quantification des catégories des pontes examinées sont regroupées dans le tableau 5.

Tableau 5 : Données numériques concernant les variables continues étudiées

Variables considérées	Sites de pin d'Alep		
	Tlémcen (TL)	Bouarfa (BF)	Batna (BP)
Moyenne de la longueur des pontes (mm)	20 ± 4,29	26,46 ± 3,83	21,68 ± 6,18
	(15 - 30)	(20 - 35)	(10 - 35)
Moyenne du nombre d'œufs non-éclos/ponte	67,67 ± 62,99	7,55 ± 5,75	4,33 ± 2,64
	(1 - 167)	(1 - 20)	(2 - 11)
Moyenne du nombre d'œufs éclos/ponte	75,55 ± 61,58	176,49 ± 35,32	117,09 ± 41,85
	(0 - 182)	(94 - 283)	(46 - 194)
Moyenne du nombre total d'œufs/ponte	122 ± 31,18	187,32 ± 35,36	130,68 ± 40,97
	(72 - 186)	(112 - 308)	(60 - 198)
Moyenne du nombre d'œufs parasités/ponte	5,85 ± 5,31	6,76 ± 9,31	10,64 ± 7,3
	(1 - 25)	(0 - 33)	(2 - 25)
Pourcentage d'éclosion (%)	61,93	94,21	89,6
Variables	Sites du cèdre de l'Atlas		
	Theniet El Had (TE)	Chrèa (CR)	Chélia (CL)
Moyenne de la longueur des pontes (mm)	25,79 ± 6,10	23,2 ± 6,46	29,52 ± 6,44
	(11,22 - 39,46)	(13,73 - 37,82)	(15,47 - 47,52)
Moyenne du nombre d'œufs non-éclos/ponte	48,59 ± 35,35	48,04 ± 48,94	35,32 ± 30,31
	(0 - 118)	(0 - 204)	(0 - 163)
Moyenne du nombre d'œufs éclos/ponte	109,78 ± 54,55	149,46 ± 67,06	142,34 ± 56,07
	(3 - 222)	(5 - 280)	(8 - 238)
Moyenne du nombre total d'œufs/ponte	187,76 ± 51,11	220,96 ± 59,53	190,90 ± 47,34
	(111 - 286)	(126 - 342)	(82 - 281)
Moyenne du nombre d'œufs parasités/ponte	29,38 ± 27,80	23,46 ± 35,93	13,24 ± 16,91
	(0 - 110)	(0 - 150)	(0 - 98)
Pourcentage d'éclosion (%)	58,47	67,64	74,56

Les valeurs entre les parenthèses représentent les valeurs extrêmes

La valeur la plus élevée de la longueur des pontes est observée pour la population en provenance de Chélia (47,52 mm) tandis que la plus faible valeur est de (10 mm) observée pour la population Batna (BP). La valeur moyenne la plus basse de la longueur des pontes est de l'ordre de 20mm (Tlémcen (TL)) et la plus conséquente (29,52 mm) est celle notée chez la population Chélia (CL). La valeur la moins importante du nombre des œufs non-éclos (0) est notée dans les populations de cèdre (Theniet El Had (TE), Chréa (CR) et Chélia (CL)) tandis que la valeur la plus élevée (204) est reportée pour la population de Chréa (CR). Pour la valeur de la moyenne la plus élevée (67,67) pour ce paramètre est notée dans la population de Tlémcen (TL) et la plus faible (4,33) est donnée pour la population de Batna (BP).

Le nombre le moins élevé (0) ainsi que la moyenne la plus faible du nombre d'œufs éclos (75,55) sont notés dans la population Tlémcen (TL). La population Bouarfa (BF) se caractérise par la valeur du nombre et de la moyenne les plus importantes avec respectivement de 283 et de 176,49 œufs éclos/ponte.

L'examen des données de la population de Chréa (CR) met en évidence une moyenne maximale de (220,96) ainsi qu'une valeur conséquente de 342 œufs/ponte. La moyenne la moins élevée du total d'œufs par ponte (122) est celle de la population Tlémcen (TL). Le nombre le plus faible de 60 œufs/ponte est noté pour la population de Batna (BP).

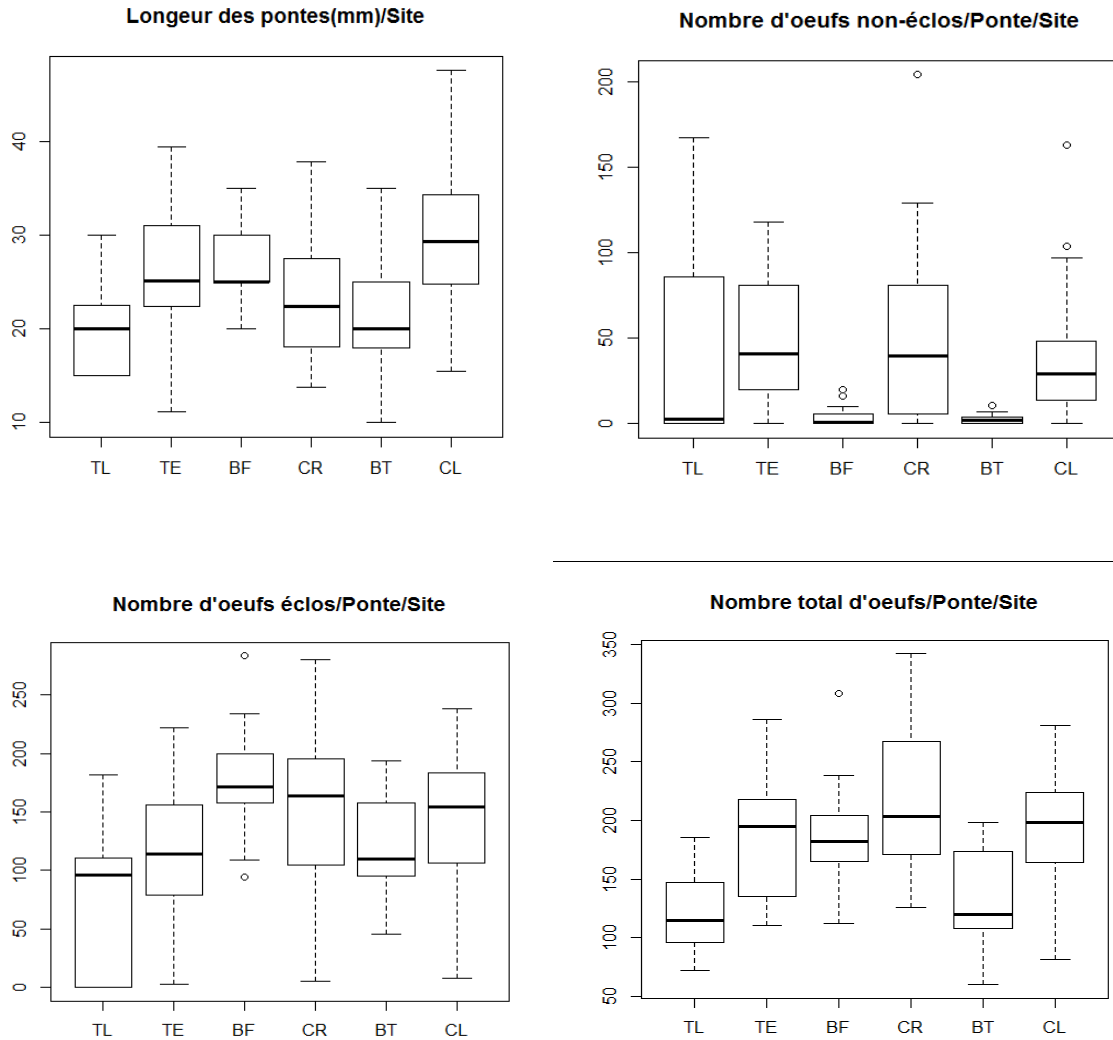
La moyenne la plus faible d'œufs parasités par ponte est observée dans la population de Tlémcen (TL) (5,85) tandis que la moyenne la plus élevée (29,38) est celle de Theniet El Had (TE). La population de Chréa (CR) donne le nombre le plus important (150) d'œufs parasités par ponte contrairement aux populations de Theniet El Had (TE), Bouarfa (BF), Chréa (CR) et Chélia (CL) qui marquent une valeur nulle pour ce paramètre.

Pour les populations considérées, le pourcentage d'éclosion se limite à (58,47 %) pour la population de Theniet El Had (TE) contrairement à la population de Bouarfa (BF) qui représente la valeur la plus élevée pour ce paramètre (94,21 %).

2. Statistiques des variables retenues

2.1. Données paramétriques

Les moyennes des valeurs mesurées ainsi que les écarts interquartiles par population et par variable sont représentés dans la figure 12.



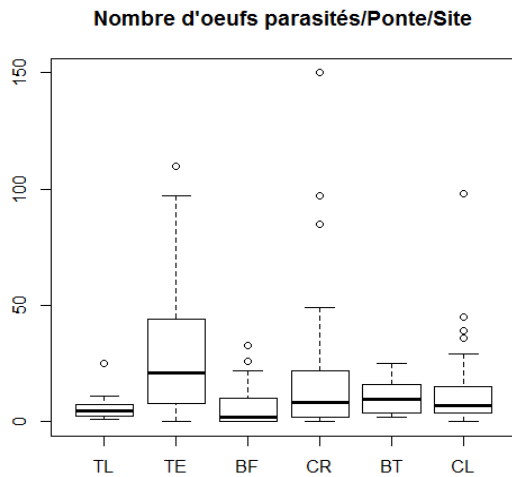


Figure 12 : Données paramétriques représentées par population pour les différentes variables quantitatives étudiées

2.1.1. Analyse fréquentielle des longueurs des pontes

2.1.1.1. Cas du clade *Pityocampa*

L'analyse fréquentielle des longueurs des pontes pour les populations du clade *Pityocampa* a mis en évidence 5 classes pour les lots récoltés dans les 3 sites prospectés (Fig. 13).

Les données recueillies mettent en évidence une différence très hautement significative entre les lots testés ($p = 0,0001$).

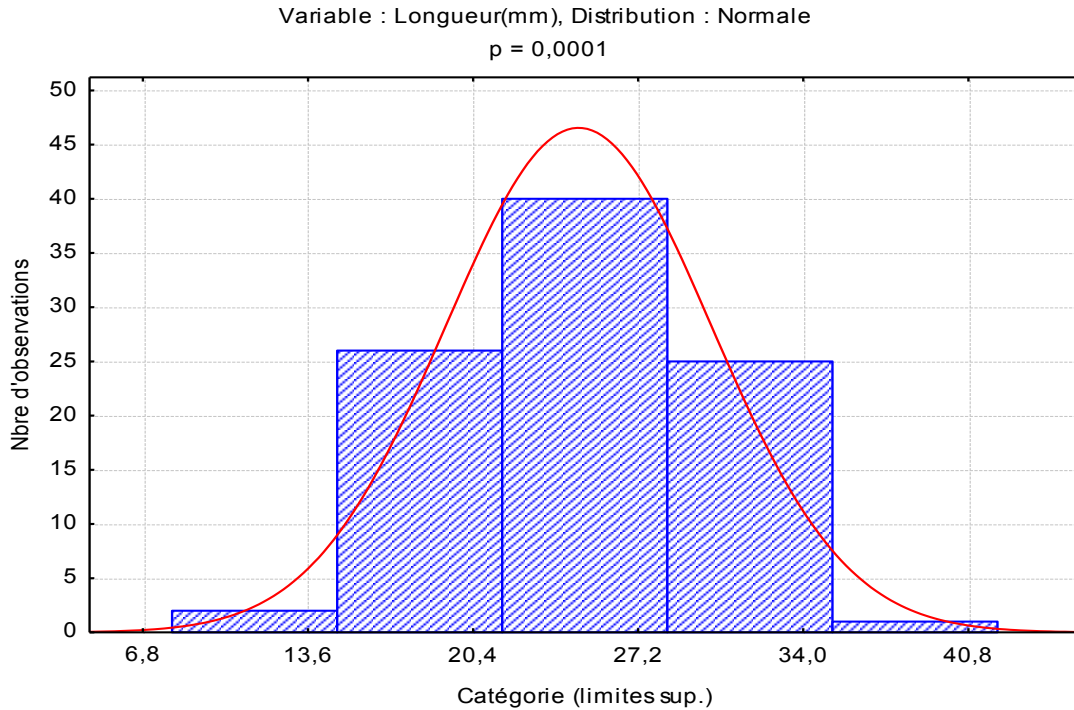


Figure 13 : Analyse fréquentielle des longueurs des pontes pour le clade Ouest (*Pityocampa*)

L'analyse fréquentielle a été effectuée afin de regrouper les catégories des femelles pondueuses en classes en fonction de la longueur des pontes en provenance des populations du clade *pityocampa*. Les catégories les plus représentées sont celle des longueurs comprises entre 14,8 et 21,6mm (28%) ainsi que 21,6 et 28,4 mm avec 43% de l'échantillon testé (Tableau 6).

Tableau 6 : Synthèse des données fréquentielles des catégories des longueurs des pontes des populations du clade *Pityocampa*

Variable : Longueur (mm), Distribution : Normale. p = 0,0001				
Longueur (mm)	Observé	Cumulé	Pourcentage	% Cumulé
<= 14,8	2	2	2,12	2,12
21,6	26	28	28	30,12
28,4	40	68	43	73,12
35,2	25	93	26	99,12
< Infini	1	94	0,88	100

2.1.1.2. Cas du clade ENA

L'analyse fréquentielle des longueurs des pontes pour les populations du clade ENA laisse apparaître 5 classes pour les lots récoltés dans les 3 sites prospectés (Fig. 14). La différence est très hautement significative entre les lots testés ($p = 0,0001$).

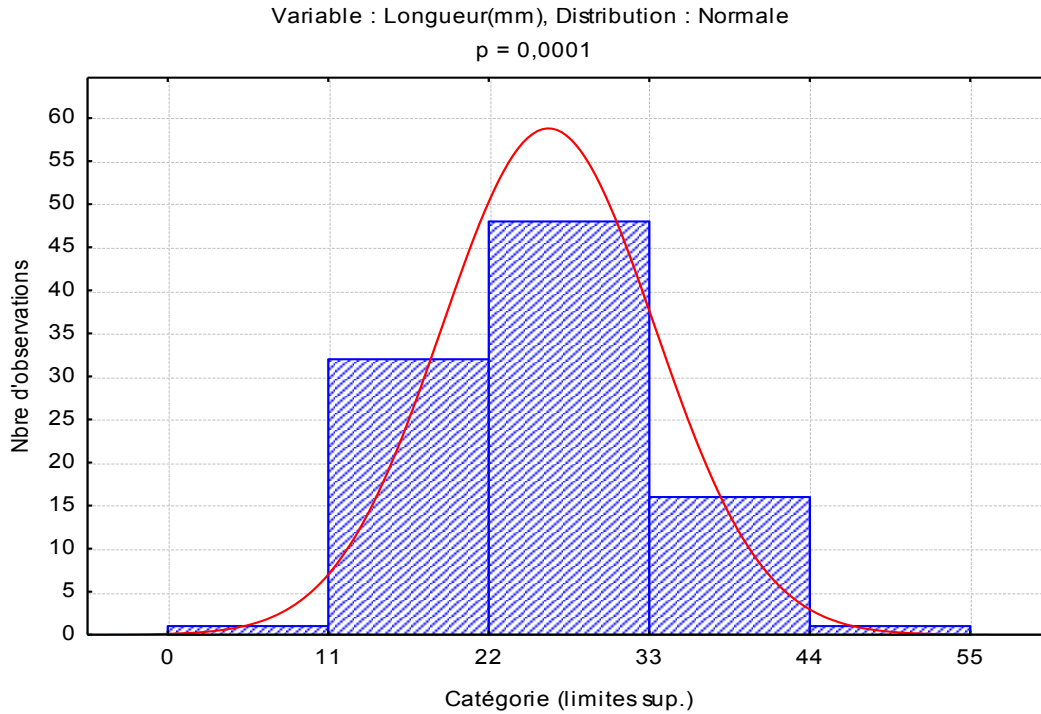


Figure 14 : Analyse fréquentielle des longueurs des pontes pour le clade Est (ENA)

L'analyse fréquentielle a été réalisée afin de regrouper en classes les catégories des longueurs des pontes pour les populations du clade ENA. Les deux catégories les plus représentées sont celle des longueurs comprises entre 11 et 22mm (33%) ainsi que celle des longueurs entre 22 et 33mm avec un pourcentage de 43% de l'échantillon testé (Tableau 7).

Tableau 7 : Synthèse des données fréquentielles des catégories des longueurs des pontes des populations du clade ENA

Variable : Longueur (mm), Distribution : Normale. p = 0,0001				
Longueur (mm)	Observé	Cumul	Pourcentage	% Cumulé
<= 11	1	1	1,02	1,02
22	32	33	33	34,02
33	48	81	49	83,02
44	16	97	16,33	99,35
< Infini	1	98	0,65	100

2.1.2. Analyse fréquentielle du nombre total d'œufs par ponte

2.1.2.1. Cas du clade *Pityocampa*

L'analyse fréquentielle du nombre total d'œufs par pontes pour les populations du clade *Pityocampa* a fait ressortir 5 classes pour les lots récoltés dans les 3 sites prospectés (Fig. 15). L'analyse des données recueillies révèle une différence très hautement significative entre les lots testés ($p = 0,0001$).

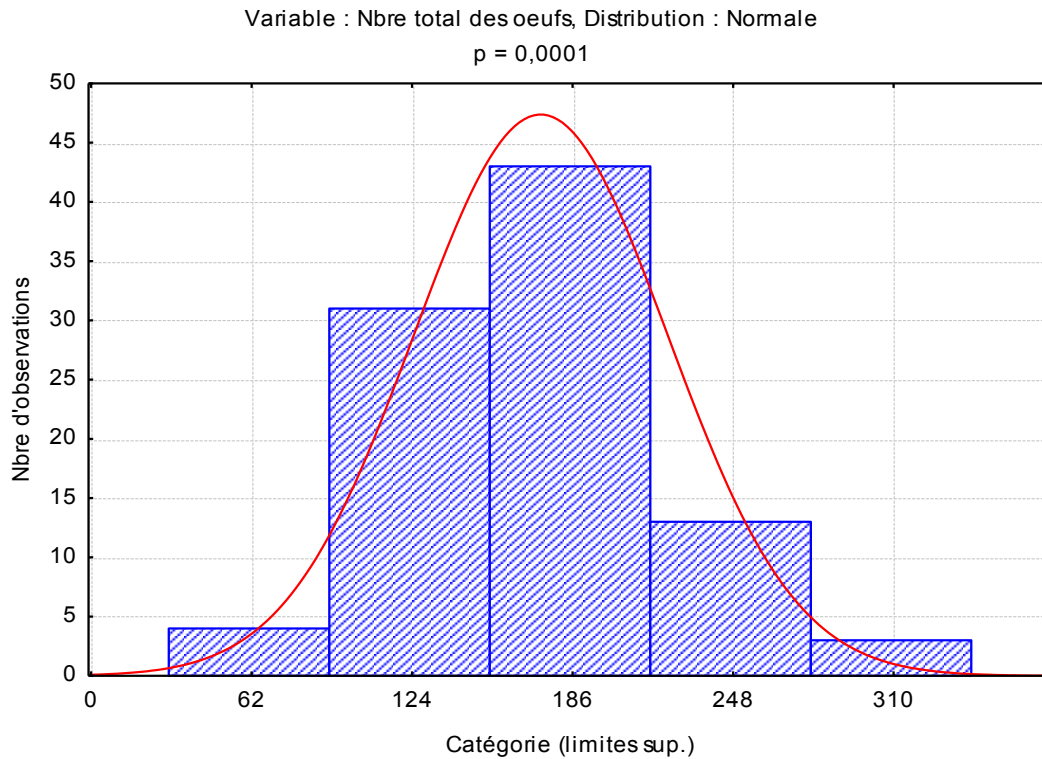


Figure 15 : Analyse fréquentielle du nombre d’œufs par ponte pour le clade Ouest (*Pityocampa*)

L’analyse fréquentielle a été effectuée afin de regrouper les catégories de pontes en classes en fonction de leur nombre total d’œufs pour les populations du clade *pityocampa*. Les catégories les plus représentées sont celle des pontes avec 92 et 154 œufs, avec 32,98%, ainsi que celle avec 154 et 216 œufs par ponte avec 45,75% (Tableau 8).

Tableau 8 : Synthèse des données fréquentielles des catégories du nombre d’œufs total par ponte des populations du clade *Pityocampa*

Variable : Nbre total des oeufs, Distribution : Normale. p = 0,0001				
Total œufs	Observé	Cumulé	Pourcentage	% Cumulé
≤ 92	4	4	4,25	4,25
154	31	35	32,98	37,23
216	43	78	45,75	82,98
278	13	91	13,83	96,81
< Infini	3	94	3,19	100

2.1.2.2. Cas du clade ENA

L'analyse fréquentielle du nombre total d'œufs par pontes pour les populations du clade ENA a fait ressortir 5 classes pour les lots récoltés dans les 3 sites prospectés (Fig. 16). L'analyse des données recueillies révèle une différence hautement significative entre les lots testés ($p = 0,005$).

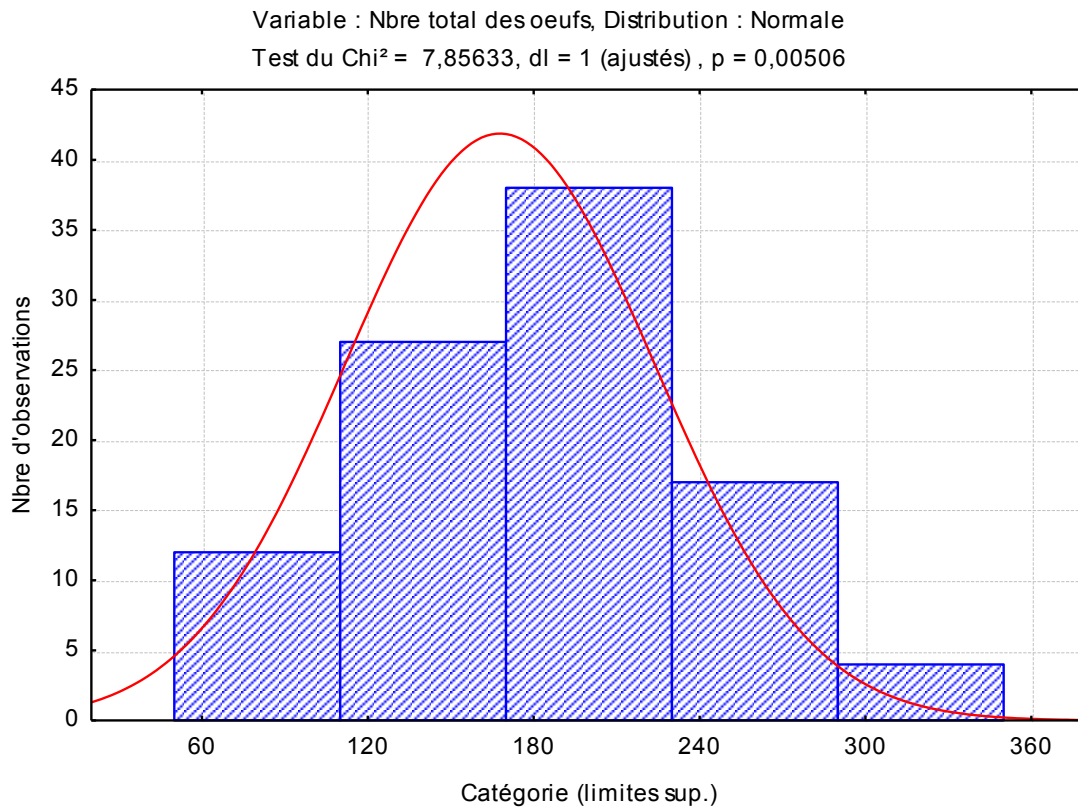


Figure 16 : Analyse fréquentielle du nombre d'œufs par ponte pour le clade Est (ENA)

L'analyse fréquentielle a été effectuée afin de regrouper les catégories en classes en fonction de leur nombre total d'œufs pour les populations du clade ENA. Les catégories les plus représentées sont celle des pontes avec 110 et 170 œufs (27,55%) ainsi que celle avec 170 et 230 œufs par ponte avec 38,78% (Tableau 9).

Tableau 9 : Synthèse des données fréquentielles des catégories du nombre d'œufs total par ponté des populations du clade ENA

Variable : Nbre total des oeufs, Distribution : Normale. p = 0,005				
Total œufs	Observé	Cumulé	Pourcentage	% Cumulé
<= 110	12	12	12,25	12,25
170	27	39	27,55	39,80
230	38	77	38,78	78,58
290	17	94	17,35	95,93
< Infini	4	98	4,07	100

2.1.3. Comparaison des moyennes par ANOVA

La différence entre les populations, groupées en fonction de leur région géographique, est significative pour la longueur des pontes ($p = 0,0112$) et hautement significative ($p = 0,0011$) pour le nombre d'œufs non-éclos (Tableau 10). La différence est très hautement significative ($p < 0,001$) pour le nombre d'œufs éclos ainsi que pour le nombre total d'œufs par ponté entre les 3 groupes régionaux. Pour le nombre d'œufs parasités, la différence est non significative ($p = 0,0628$) entre les 3 groupes régionaux. Les données recueillies restent comparables

Pour la différence entre les populations en provenance de pin d'Alep, elle est très hautement significative ($p < 0,001$) pour la longueur des pontes et pour le nombre d'œufs non-éclos. La différence est significative ($p = 0,0227$) pour le nombre d'œufs éclos.

Aucune signification n'est observée ni pour le nombre total d'œufs par ponté ($p = 0,1514$) ni pour le nombre d'œufs parasités par ponté ($p = 0,3217$).

L'analyse de la variance entre les populations du cèdre de l'Atlas révèle une différence très hautement significative ($p < 0,001$) pour la longueur des pontes.

La différence est non significative ($p = 0,1799$) pour le nombre d'œufs non-éclos. Pour le nombre d'œufs éclos, le nombre total d'œufs par ponté et le nombre d'œufs parasités, les différences sont significatives avec des valeurs respectives de ($p = 0,0119$; $p = 0,0265$ et $p = 0,0162$).

Le groupement des populations en fonction de la plante-hôte fait ressortir des différences très hautement significatives ($p < 0,001$) pour la longueur des pontes, le nombre d'œufs non-éclos, le nombre total d'œufs par ponte et le nombre d'œufs parasités par ponte. La différence est non significative ($p = 0,9041$) pour le nombre d'œufs éclos.

A l'échelle des localités, la comparaison de la population de pin d'Alep Tlémcen (TL) à celle du cèdre de l'Atlas Theniet El Had (TE) permet de noter une différence très hautement significative ($p < 0,001$) pour la longueur des pontes, le nombre total d'œufs par ponte et le nombre d'œufs parasités.

La différence est significative ($p = 0,0350$) pour le nombre d'œufs éclos et est non significative ($p = 0,5233$) pour le nombre d'œufs non-éclos entre les 2 sites.

Dans la partie centrale de l'échantillonnage, la différence entre les populations Bouarfa (BF) et Chréa (CR) est très hautement significative ($p < 0,001$) pour le nombre d'œufs non-éclos. Les différences sont hautement significatives pour le nombre total d'œufs ($p = 0,0066$) et pour le nombre d'œufs parasités par ponte ($p = 0,0087$). La différence est significative ($p = 0,0147$) pour la longueur des pontes et le nombre d'œufs éclos ($p = 0,0417$).

En comparant les populations Batna (BP) et Chélia (CL) de la région est de l'échantillonnage, une différence très hautement significative ($p < 0,001$) est observée pour la moyenne de la longueur des pontes, le nombre d'œufs non-éclos et le nombre total d'œufs par ponte.

Tableau 10 : Synthèse des ANOVA pour les variables considérées

Variabes	Groupes constitués	F calculées	Valeurs de <i>p</i>
Longueur des pontes (mm)	Entre régions (Est) ;(Center) ;(Ouest) : (TL-TE) ;(BF-CR) ;(BP-CL)	4,5964	0,0112*
Nombre d'œufs non-éclos		6,9982	0,0012**
Nombre d'œufs éclos		22,9236	0,0001***
Nombre total d'œufs/ponte		8,3092	0,0003***
Nombre d'œufs parasités		2,8087	0,0628
Longueur des pontes (mm)	Entre populations de pin TL ; BF ; BP	14,4996	0,0001***
Nombre d'œufs non-éclos		11,2788	0,0001***
Nombre d'œufs éclos		3,9767	0,0228*
Nombre total d'œufs/ponte		1,9354	0,1514
Nombre d'œufs parasités		1,1511	0,3218
Longueur des pontes (mm)	Entre populations de cèdre TE ; CR ; CL	9,2611	0,0002***
Nombre d'œufs non-éclos		1,7423	0,1799
Nombre d'œufs éclos		4,6134	0,0119*
Nombre total d'œufs/ponte		3,7511	0,0266*
Nombre d'œufs parasités		4,2769	0,0163*
Longueur des pontes (mm)	Pin vs. Cèdre totalité des données (TL-BF-BP) ;(TE ; CR ; CL)	13,2456	0,0004***
Nombre d'œufs non-éclos		31,9408	0,0001***
Nombre d'œufs éclos		0,0146	0,9041
Nombre total d'œufs/ponte		31,8154	0,0001***
Nombre d'œufs parasités		18,3068	0,0001***
Longueur des pontes (mm)	Pin vs. Cèdre Populations de l'Ouest (TL vs. TE)	14,1798	0,0004***
Nombre d'œufs non-éclos		0,4126	0,5233
Nombre d'œufs éclos		4,6706	0,0351*
Nombre total d'œufs/ponte		27,4433	0,0001***
Nombre d'œufs parasités		13,9353	0,0005***

Tableau 10 (suite) : Synthèse des ANOVA pour les variables considérées

Variabes	Groupes constitués	F calculées	Valeurs de <i>p</i>
Longueur des pontes (mm)	Pin vs. Cèdre Populations du Centre (BF vs. CR)	6,3034	0,0147*
Nombre d'œufs non-éclos		29,4918	0,0001***
Nombre d'œufs éclos		4,3239	0,0418*
Nombre total d'œufs/ponte		7,8874	0,0067**
Nombre d'œufs parasités		7,3422	0,0087**
Longueur des pontes (mm)	Pin vs. Cèdre Populations de l'Est (BP vs. CL)	23,1432	0,0001***
Nombre d'œufs non-éclos		24,7760	0,0001***
Nombre d'œufs éclos		3,5725	0,0629
Nombre total d'œufs/ponte		26,7361	0,0001***
Nombre d'œufs parasités		0,4790	0,4912
<i>Valeurs en gras : signification statistique</i>			

2.1.4. Coefficient de corrélation de Pearson (R)

Le tableau 11 résume les valeurs significatives (> 0,4) du coefficient de Pearson (R). Ces valeurs concernent le nombre d'œufs éclos par ponte en relation avec le nombre d'œufs non-éclos, le nombre d'œufs éclos par ponte et le nombre total d'œufs par ponte ainsi que l'altitude en relation avec la plante-hôte. L'ensemble des observations est pris en considération indépendamment du site d'étude.

Les valeurs marquées par un (+) signifient que la corrélation est modérée ; la marque (++) renvoie à une forte corrélation et (+++) signifie que la corrélation est très forte.

Les valeurs de probabilité du test de Student inférieures à 0,001 signifient que les variables sont très hautement significativement corrélées ; des valeurs entre 0,001 et 0,01 indiquent une corrélation hautement significative. Les valeurs comprises entre 0,01 et 0,05 révèlent une corrélation significative.

Les valeurs de R, selon Evans (1996), permettent de constater que le nombre d'œufs non-éclos et le nombre d'œufs éclos par ponte sont modérément corrélés ; le nombre d'œufs éclos est fortement corrélé avec le nombre total d'œufs par ponte et que l'altitude et la plante-hôte sont très fortement corrélées.

La corrélation dans les trois paires de variables ($P < 0,001$) est très hautement significative, ceci confirme l'absence de l'effet du hasard pour les valeurs de R obtenues.

Tableau 11 : Valeurs du coefficient de Pearson avec la probabilité de Student correspondantes pour les paires de variables considérées pour l'ensemble des données

Variable 1	Variable 2	Nombre d'observations	Valeur de R	Valeur de p
Nombre d'œufs non-éclos/Ponte	Nombre d'œufs éclos/Ponte	192	- 0,5072+	0,0005***
Nombre d'œufs éclos/Ponte	Nombre total d'œufs/Ponte	192	0,6307++	0,0001***
Altitude (m)	Plante-hôte	192	0,8143+++	0,0001***

Le tableau 12 rassemble les valeurs significatives du coefficient de Pearson (R) par paires de variables par site d'étude.

Tableau 12 : Valeurs du coefficient de Pearson et valeurs de probabilité de Student correspondantes pour les paires de variables considérées par site

Sites	Variables corrélées	Nombre d'observations	Valeurs de R	Valeurs de <i>p</i>
Chrèa (CR)	Nombre d'œufs non-éclos/Ponte- Nombre total d'œufs/Ponte	26	0,4253+	0,027*
Chélia (CL)	Nombre d'œufs éclos/Ponte- Nombre d'œufs parasités/Ponte	50	0,4414+	0,0012**
Chrèa (CR)	Nombre d'œufs éclos/Ponte- Nombre total d'œufs/Ponte	26	0,4568+	0,0166*
Chrèa (CR)	Nombre d'œufs non-éclos/Ponte- Nombre d'œufs éclos/Ponte	26	0,4601+	0,0157*
Theniet El Had (TE)	Nombre total d'œufs/Ponte- Nombre d'œufs parasités/Ponte	37	0,4618+	0,0035**
Chélia (CL)	Nombre d'œufs non-éclos/Ponte- Nombre d'œufs éclos/Ponte	50	0,4751+	0,0004***
Chrèa (CR)	Nombre d'œufs éclos/Ponte- Nombre d'œufs parasités/Ponte	26	0,4828+	0,0107*
Bouarfa (BF)	Longueur de la ponte (mm)- Nombre d'œufs éclos/Ponte	37	0,5283+	0,0007***
Theniet El Had (TE)	Nombre d'œufs éclos/Ponte- Nombre total d'œufs/Ponte	37	0,5468+	0,0004***
Bouarfa (BF)	Longueur de la ponte (mm)- Nombre total d'œufs/Ponte	37	0,5475+	0,0004***
Theniet El Had (TE)	Nombre d'œufs non-éclos/Ponte- Nombre d'œufs éclos/Ponte	37	0,5581+	0,0003***

Tableau 12 (suite) : Valeurs du coefficient de Pearson et valeurs de probabilité de Student correspondantes pour les paires de variables considérées par site

Sites	Variables corrélées	Nombre d'observations	Valeurs R	Valeurs P
Tlémcen (TL)	Longueur de la ponte (mm)- Nombre d'œufs éclos/Ponte	20	0,6373++	0,0019**
Chélia (CL)	Nombre d'œufs éclos/Ponte- Nombre total d'œufs/Ponte	50	0,7226++	0,0001***
Batna (BP)	Longueur de la ponte (mm)- Nombre d'œufs éclos/Ponte	22	0,7678++	0,0001***
Batna (BP)	Longueur de la ponte (mm)- Nombre total d'œufs/Ponte	22	0,7987++	0,0001***
Tlémcen (TL)	Longueur de la ponte (mm)- Nombre total d'œufs/Ponte	20	0,8201+++	0,0001***
Tlémcen (TL)	Nombre d'œufs non-éclos/Ponte- Nombre d'œufs éclos/Ponte	20	0,8624+++	0,0001***
Bouarfa (BF)	Nombre d'œufs éclos/Ponte- Nombre total d'œufs/Ponte	37	0,9493+++	0,0001***
Batna (BP)	Nombre d'œufs éclos/Ponte- Nombre total d'œufs/Ponte	22	0,9812+++	0,0001***

2.1.5. Test Khi-2

Le tableau 13 résume les pourcentages des classes de la longueur des pontes utilisées dans les tests d'indépendance du Khi-2.

Tableau 13 : Classes de la longueur des pontes et pourcentage par site
en fonction de la plante-hôte

Population en provenance du pin d'Alep des zones – semi-arides					
Tlémcen (TL)		Bouarfa (BF)		Batna (BP)	
Classes (mm)	Pourcentages (%)	Classes (mm)	Pourcentages (%)	Classes (mm)	Pourcentages (%)
15 - 18	30	20 - 23	13,51	10 - 15	22,73
18 - 21	45	23 - 26	45,95	15 - 20	36,36
21 - 24	0	26 - 29	5,41	20 - 25	22,73
24 - 27	20	29 - 32	29,73	25 - 30	13,64
27 - 30	5	32 - 35	5,41	30 - 35	4,55
Population en provenance du Cèdre de l'Atlas					
TE (Theniet El Had)		CR (Chrèa)		CL (Chélia)	
Classes (mm)	Pourcentages (%)	Classes (mm)	Pourcentages (%)	Classes (mm)	Pourcentages (%)
11,22 - 16,87	10,81	13,73 - 18,55	30,77	15,47 - 21,88	12
16,87 - 22,52	16,22	18,55 - 23,37	30,77	21,88 - 28,29	34
22,52 - 28,16	35,14	23,37 - 28,18	19,23	28,29 - 34,70	30
28,16 - 33,81	27,03	28,18 - 33,00	11,54	34,70 - 41,11	20
33,81 - 39,46	10,81	33,00 - 37,82	7,69	41,11 - 47,52	4

Dans un premier temps, l'hypothèse nulle (H_0) de l'existence d'une relation entre la longueur des pontes et la région géographique a été vérifiée par le test du khi-2 (tableau 14).

Tableau 14 : Classes de longueur des pontes par région

Classes	Régions		
	Ouest	Centre	Est
1	20,41	22,14	17,36
2	30,61	38,36	35,18
3	17,57	12,32	26,36
4	23,51	20,63	16,82
5	7,91	6,55	4,27

Les résultats obtenus montrent que l’hypothèse nulle pour la paire de variables (longueur des pontes - région géographique) est rejetée à un intervalle de confiance de 95% ($\chi^2 = 0,3404$; $ddl = 8$) avec une valeur de $p = 0,999$, c’est à dire que la répartition des valeurs de la longueur des pontes est indépendante de la région géographique.

Dans un deuxième temps, l’hypothèse nulle (H_0) de l’existence d’une relation entre la longueur des pontes et la plante-hôte a été vérifiée par le test du χ^2 (tableau 15).

Tableau 15 : Classes de longueur des pontes par plante-hôte

Classes	Plantes-hôtes	
	Pin	Cèdre
1	22,080	17,860
2	42,437	26,995
3	9,378	28,122
4	21,122	19,522
5	4,984	7,501

Les résultats obtenus pour la seconde paire de variables (longueur des pontes - plante-hôte) montrent que l’hypothèse nulle est rejetée au seuil de 95% de confiance ($\chi^2 = 0,0079$; $ddl = 4$) avec une valeur de probabilité $p = 0,999$, c’est à dire que la répartition des valeurs de la longueur des pontes ne dépend pas de la plante-hôte.

2.1.6. Représentation multidimensionnelle

La figure 17 illustre la représentation des individus (pontes) par population considérée et l'évolution du nombre d'œufs éclos/ponte en fonction du nombre total d'œufs. Une ligne partant de l'origine (0 ; 0) représente la limite de fécondité entre populations. Elle se base sur la relation qui définit la fécondité comme étant le nombre d'œufs éclos égal à la moitié du total des œufs par ponte. La flèche sur le graphe symbolise le gradient de fécondité.

Deux groupes sont définis dans le graphe : le groupe 1 rassemble les individus féconds et le groupe 2 les individus dont la fécondité est diminuée. Les populations Bouarfa (BF) et Batna (BP) sont présentes exclusivement dans le groupe 1 tandis que les individus des autres populations sont présents dans les deux groupes.

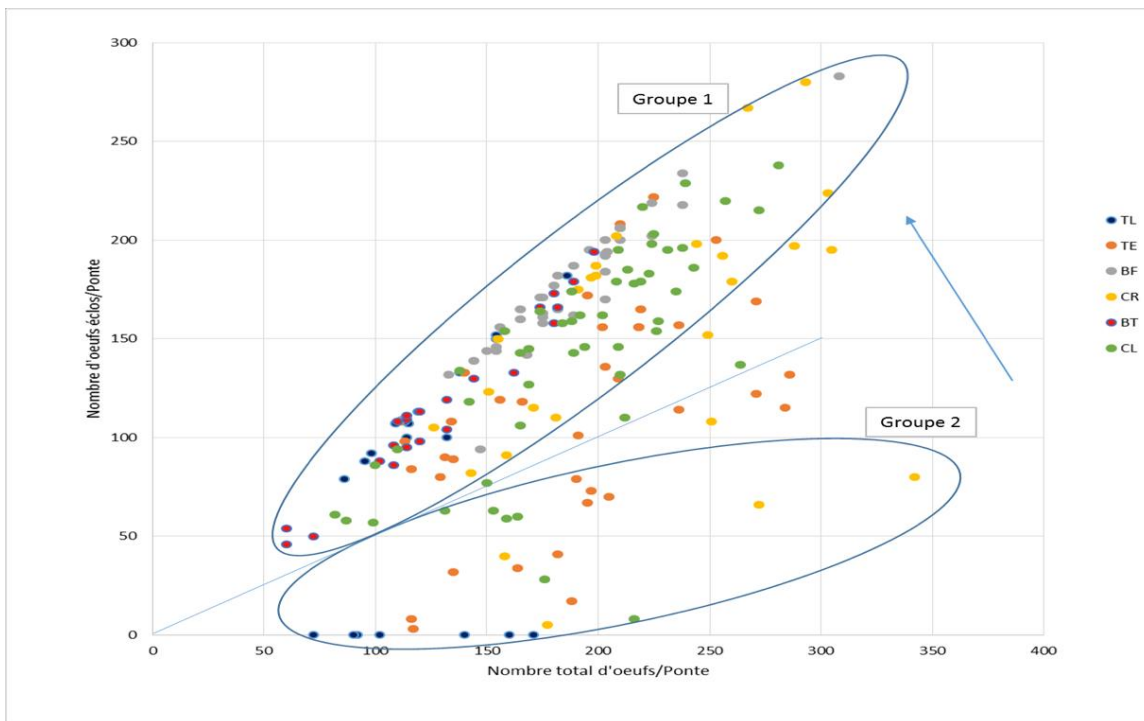


Figure 17 : Distribution des valeurs du nombre d'œufs éclos/ponte en fonction du nombre total d'œufs/ponte

La figure 18 représente la répartition des pontes pour le nombre d'œufs éclos en fonction d'œufs non-éclos par ponte.

Le groupe 1 rassemble les individus dont le nombre d'œufs éclos est supérieur à 2 fois le nombre d'œufs non-éclos.

Les individus des populations Bouarfa (BF) et Batna (BP) sont présents dans le groupe 1 proches de l'axe des ordonnées symbolisant une forte viabilité des pontes.

Les individus de la population Tlémcen (TL) exposent une stratégie contradictoire étant présents dans les deux groupes à la fois et proches des deux axes respectifs.

Le reste des individus des autres populations est reparti entre les deux groupes.

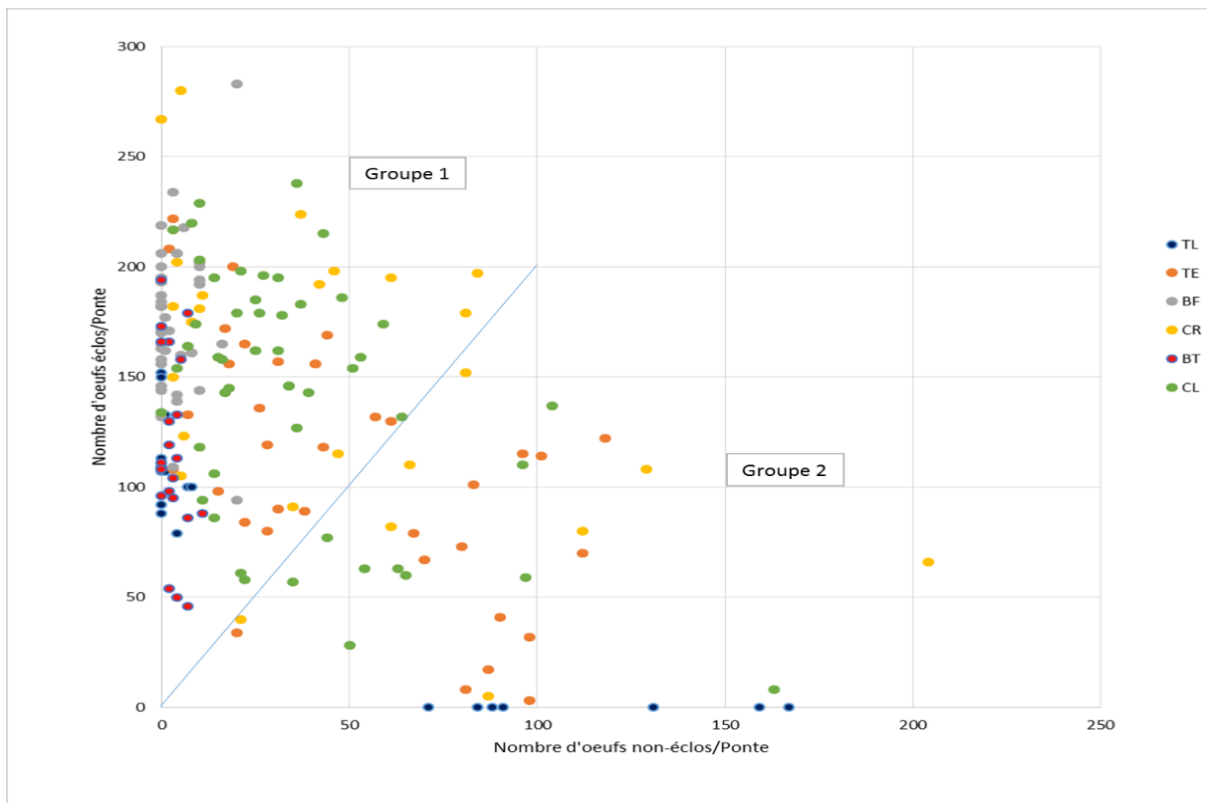


Figure 18 : Distribution des valeurs du nombre d'œufs éclos/ponte en fonction du nombre d'œufs non-éclos/ponte

La figure 19 laisse apparaître deux groupes d'individus avec une ligne médiane qui marque la limite entre les individus pour lesquels le ratio des œufs éclos à celui des œufs parasités est strictement supérieur à 1 (groupe 1) et ceux pour lesquels le ratio des œufs éclos à celui des œufs parasités est strictement inférieur à 1 (groupe 2) ; il est à noter que les individus de la population Tlémcen (TL) appartenant au groupe 2 ont un nombre d'œufs éclos égal à 0, Les populations Bouarfa (BF) et Batna (BP) ne sont présentes que dans le groupe 1 contrairement aux individus des autres populations qui se retrouvent dans les deux groupes à la fois.

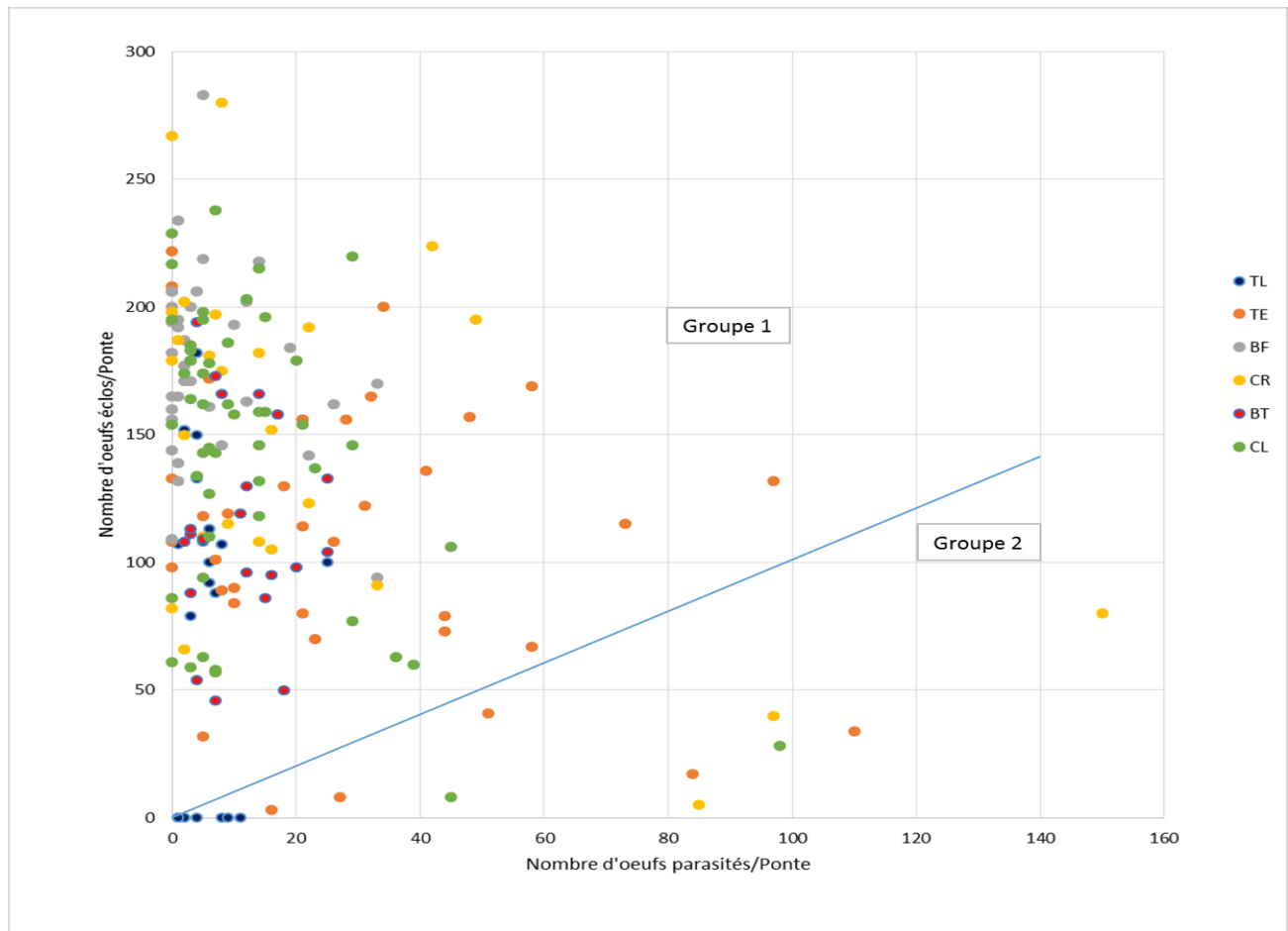


Figure 19 : Distribution des valeurs du nombre d'œufs éclos/ponte en fonction du nombre d'œufs parasités/ponte

2.1.7. Analyse en composantes principales des variables

2.1.7.1. Intra-population

La figure 20 illustre l'analyse en composantes principales des variables pour la population Tlémcen (TL). Les deux premiers axes expliquent ensemble 81,21 % de la variation totale avec une participation relative des variables dans l'explication de l'inertie de l'ordre de 55,88 % pour le premier axe et de 25,33 % pour le deuxième. La variable (lp) est positivement corrélée à l'axe 1 tandis que les variables (oe) et (to) lui sont opposées ; la variable (op) est positivement corrélée à l'axe 2.

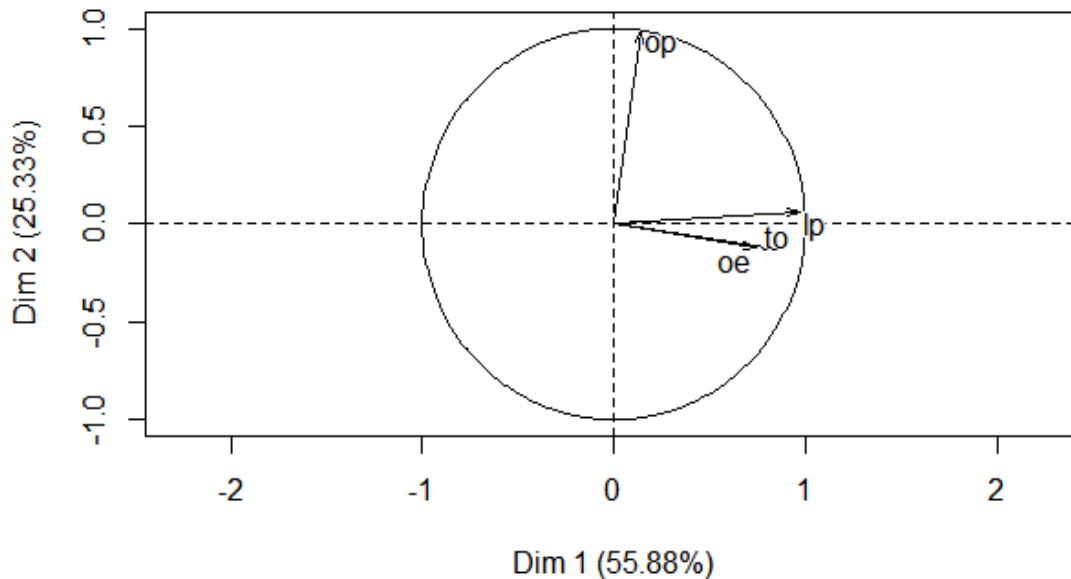


Figure 20 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour la population de Tlémcen (TL)

La figure 21 donne les résultats de l'analyse en composantes principales des variables pour la population Theniet El Had (TE). Les deux premiers axes expliquent ensemble 74,13 % de la variation totale avec une participation relative des variables dans l'explication de l'inertie de l'ordre de 42,98 % pour le premier axe et de 31,15 % pour le deuxième. La variable (to) est fortement et positivement corrélée à l'axe 1 contrairement à (oe) et (lp) qui se trouvent opposées à celui-ci. Le nombre d'œufs parasités par ponte est positivement corrélé à l'axe 2

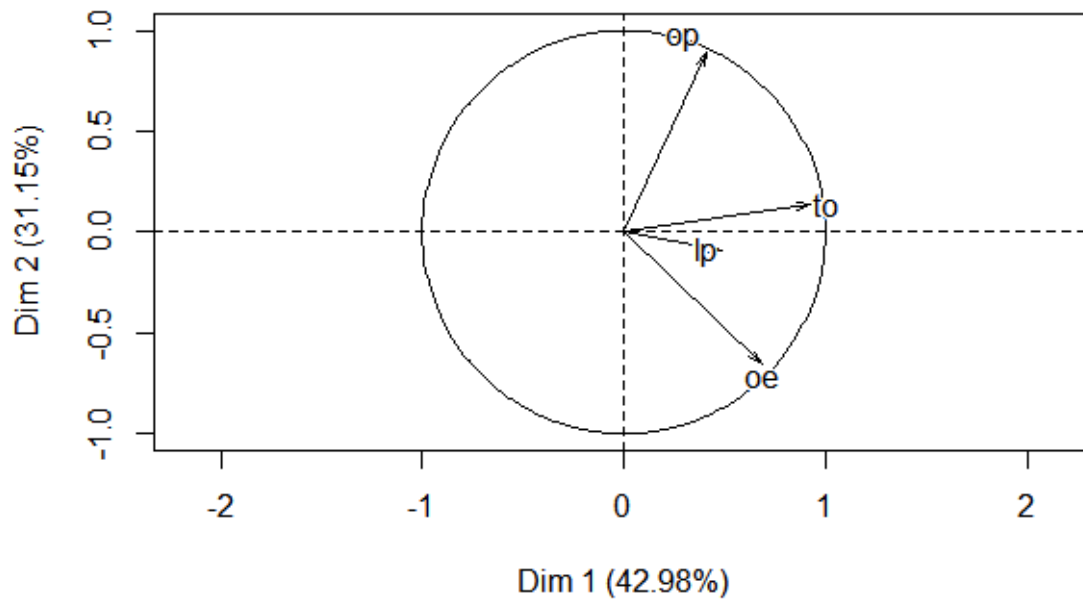


Figure 21 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour la population de Theniet El Had (TE)

La figure 22 donne les résultats de l'analyse en composantes principales des variables pour la population Bouarfa (BF). Les deux premiers axes expliquent ensemble 86,65 % de la variation totale avec une participation relative des variables dans l'explication de l'inertie de l'ordre de 59,42 % pour le premier axe et de 27,23 % pour le deuxième. Les variables (to) et (lp) forment un groupe positivement corrélé à l'axe 1. La variable (oe) est opposée à l'axe 1 tandis que la variable (op) est opposée à l'axe 2 de l'ACP.

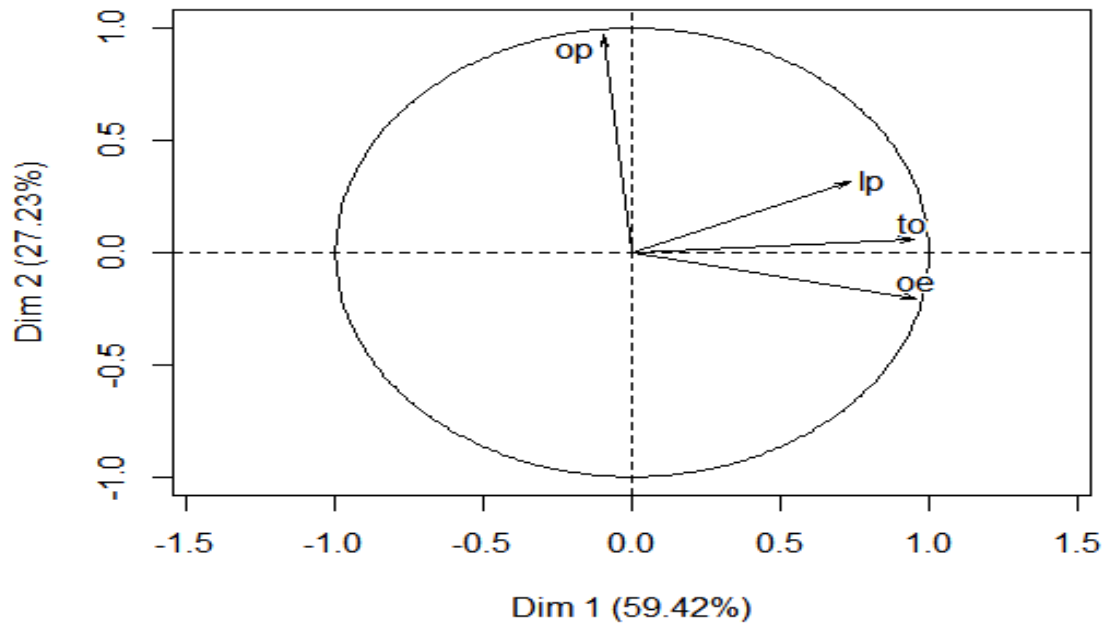


Figure 22 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour la population de Bouarfa (BF)

La figure 23 donne les résultats de l'analyse en composantes principales des variables pour la population Chréa (CR). Les deux premiers axes expliquent ensemble 76,9 % de la variation totale avec une participation relative des variables dans l'explication de l'inertie de l'ordre de 44,16 % pour le premier axe et de 32,74 % pour le deuxième. La distribution des variables autour des axes de l'ACP est fortement comparable à celle observée dans la population Theniet El Had (TE) avec une extension de la distribution des valeurs observées plus positive avec l'axe 2 en raison de l'effet de séparation induit par la variable (op).

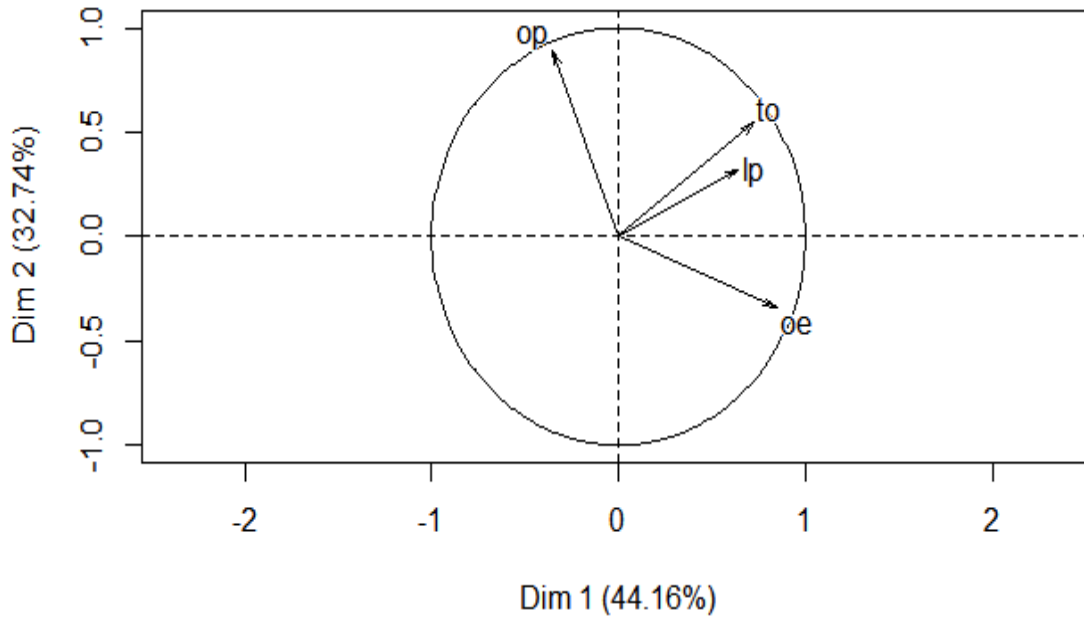


Figure 23 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour la population de Chréa (CR)

La figure 24 donne les résultats de l'analyse en composantes principales des variables pour la population Batna (BP). Les deux premiers axes expliquent ensemble 93,33 % de la variation totale avec une participation relative des variables dans l'explication de l'inertie de l'ordre de 67,58 % pour le premier axe et de 25,75 % pour le deuxième. La distribution des variables considérées est comparable à celles des deux populations précédentes (Bouarfa (BF) et Chréa (CR)) avec une différence pour la variable (op) qui se retrouve positivement corrélée à l'axe 2 dans la population (Batna (BP)).

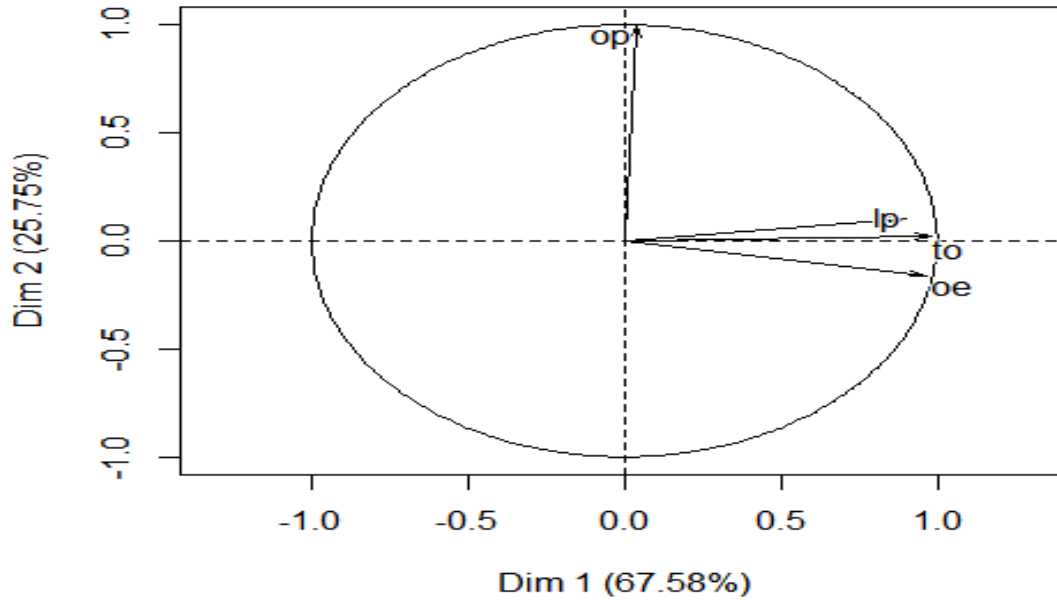


Figure 24 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour la population de Batna (BP)

La figure 25 donne les résultats de l'analyse en composantes principales des variables pour la population Chélia (CL). Les deux premiers axes expliquent ensemble 76,6 % de la variation totale avec une participation relative des variables dans l'explication de l'inertie de l'ordre de 47,60 % pour le premier axe et de 29 % pour le deuxième. La variable (to) est positivement corrélée à l'axe 1 et forme un seul groupe avec (oe) qui se trouve opposé à l'axe 1. Les variables (lp) et (op) sont opposées l'une à l'autre par rapport à l'axe 2 avec une corrélation négative de (lp) avec celui-ci ce qui provoque un effet de distribution négatif sur l'axe 2 et par conséquent une distribution plus homogène des valeurs observées autour du centre de l'ACP.

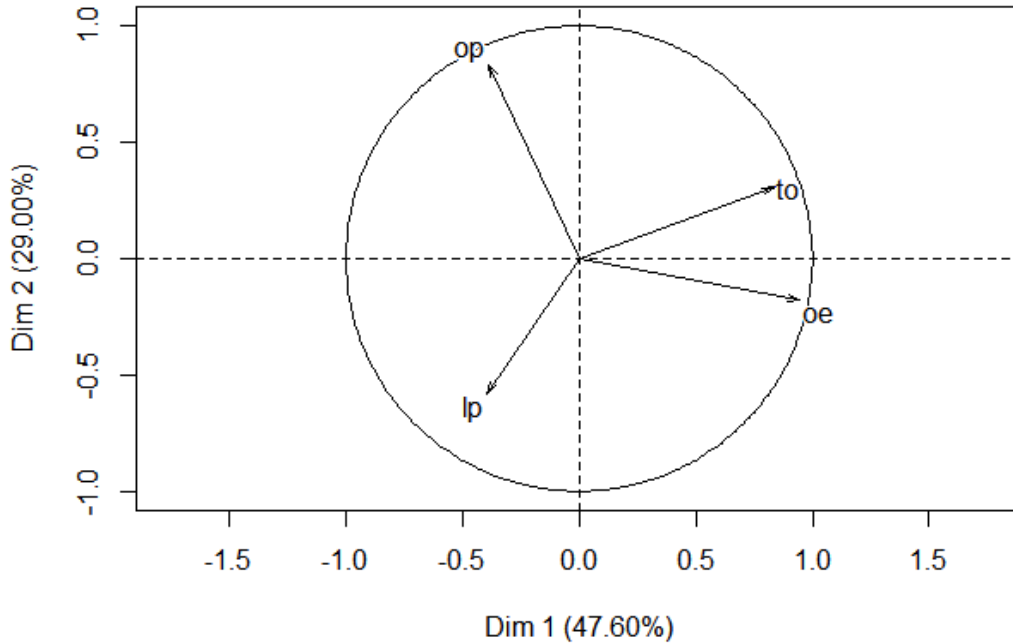


Figure 25 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour la population de Chélia (CL)

2.1.7.2. Par plante-hôte

La figure 26 illustre l'analyse en composantes principales des variables pour les populations de pin (Tlémcen (TL), Bouarfa (BF) et Batna (BP)). Les deux premiers axes expliquent ensemble 82,42 % de la variation totale avec une participation relative des variables dans l'explication de l'inertie de l'ordre de 61,75 % pour le premier axe et de 20,67 % pour le deuxième. Les variables (to), (lp) et (oe) sont fortement et positivement corrélées avec l'axe 1. La variable (alt) est négativement corrélée à l'axe 2 et participe négativement à l'extension de la distribution des valeurs observées. La variable (op) participe avec un effet positif sur la distribution des observations sur l'axe 2 et augmente ainsi la variance observée au sein des populations de pin.

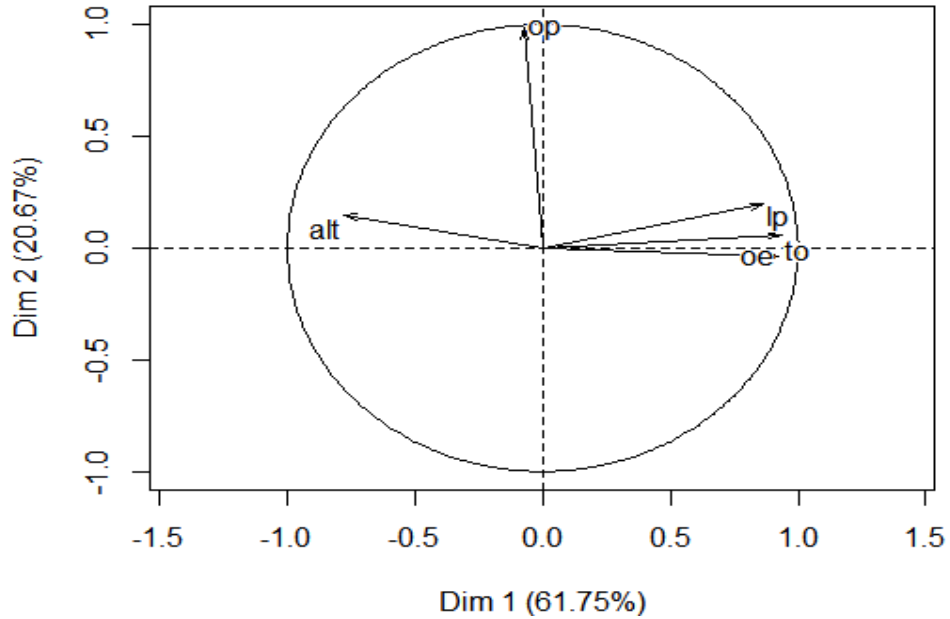


Figure 26 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour l'ensemble des populations de pin

La figure 26 illustre l'analyse en composantes principales des variables pour les populations de cèdre (Theniet El Had (TE), Chréa (CR) et Chélia (CL)). Les deux premiers axes expliquent ensemble 63,9 % de la variation totale avec une participation relative des variables dans l'explication de l'inertie de l'ordre de 33,34 % pour le premier axe et de 30,56 % pour le deuxième. Les variables (lp) et (alt) forment un seul groupe avec une faible participation à l'inertie totale. La variable (oe) est celle qui explique la majeure partie de l'inertie et est positivement corrélée à l'axe 1. La variable (to) est positivement corrélée à l'axe 2. La variable (op) est relativement celle qui participe le moins à l'explication de la variance observée.

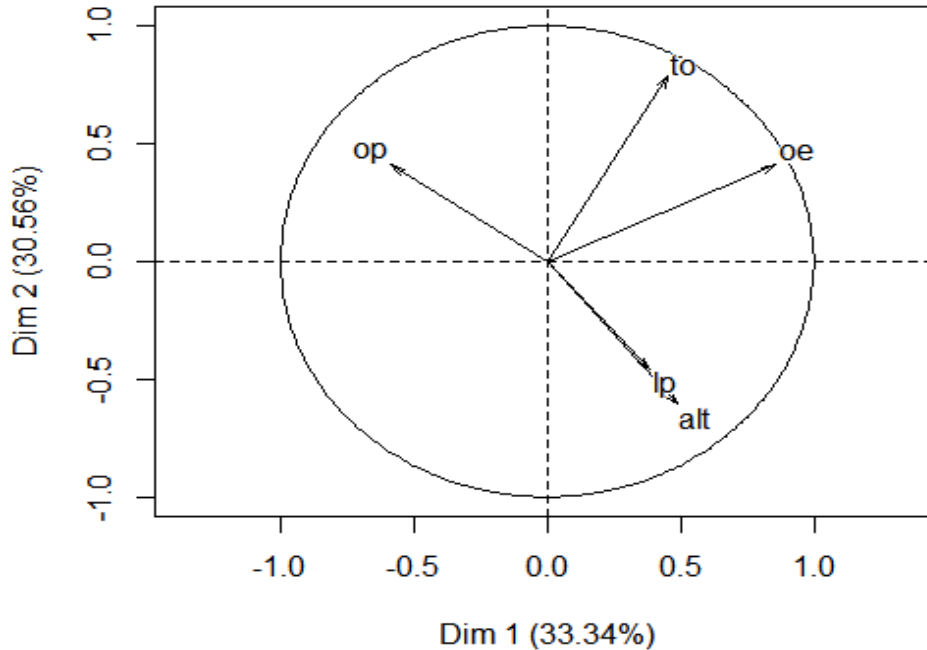


Figure 27 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour l'ensemble des populations du cèdre de l'Atlas

2.1.7.3. Par région géographique

La figure 26 illustre l'analyse en composantes principales des variables des populations en provenance de l'ouest du pays (Tlémcen (TL) et Theniet El Had (TE)). Les deux premiers axes expliquent ensemble 74,48 % de la variation totale avec une participation relative des variables dans l'explication de l'inertie de l'ordre de 55,87 % pour le premier axe et de 18,61 % pour le deuxième. Les variables (lp) et (to) sont positivement corrélées à l'axe 1 et forment un seul groupe tandis que les variables (ph) et (alt), formant un autre groupe, sont opposées à l'axe 1. La variable (oe) est positivement corrélée à l'axe 2.

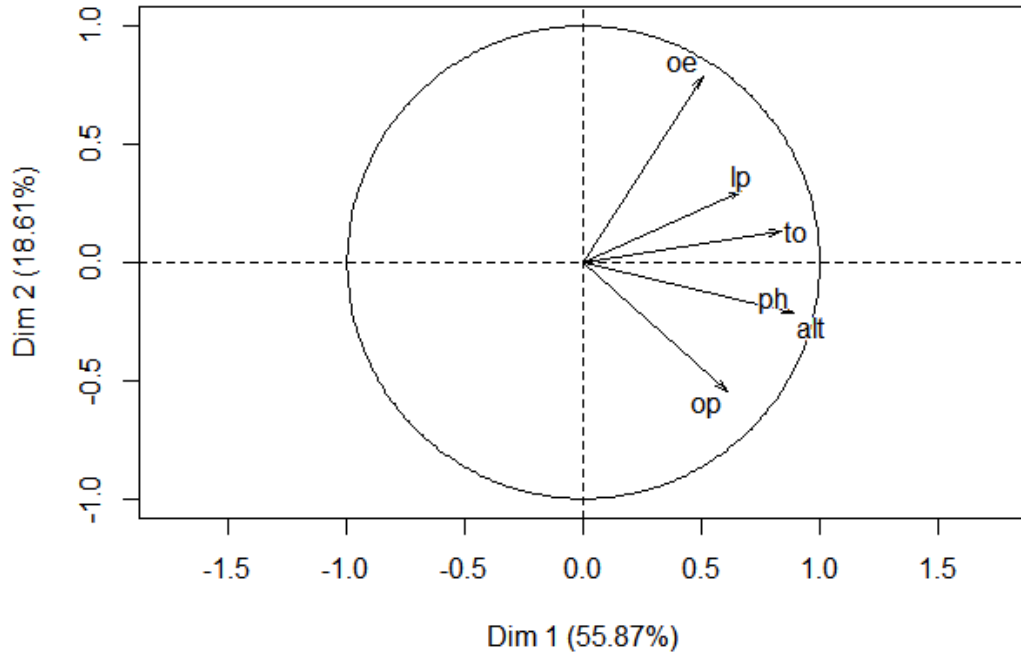


Figure 28 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour les populations de la région Ouest

La figure 26 illustre l'analyse en composantes principales des variables des populations en provenance du centre du pays (Bouarfa (BF) et Chréa (CR)). Les deux premiers axes expliquent ensemble 72,1 % de la variation totale avec une participation relative des variables dans l'explication de l'inertie de l'ordre de 43,42 % pour le premier axe et de 28,68 % pour le deuxième. Les variables (ph) et (alt) appartiennent au même groupe est sont positivement corrélées à l'axe 1. La variable (op) est opposée à l'axe 1. La variable (to) est positivement corrélée à l'axe 2 et le groupe des variables (lp) et (oe) sont opposées à celui-ci.

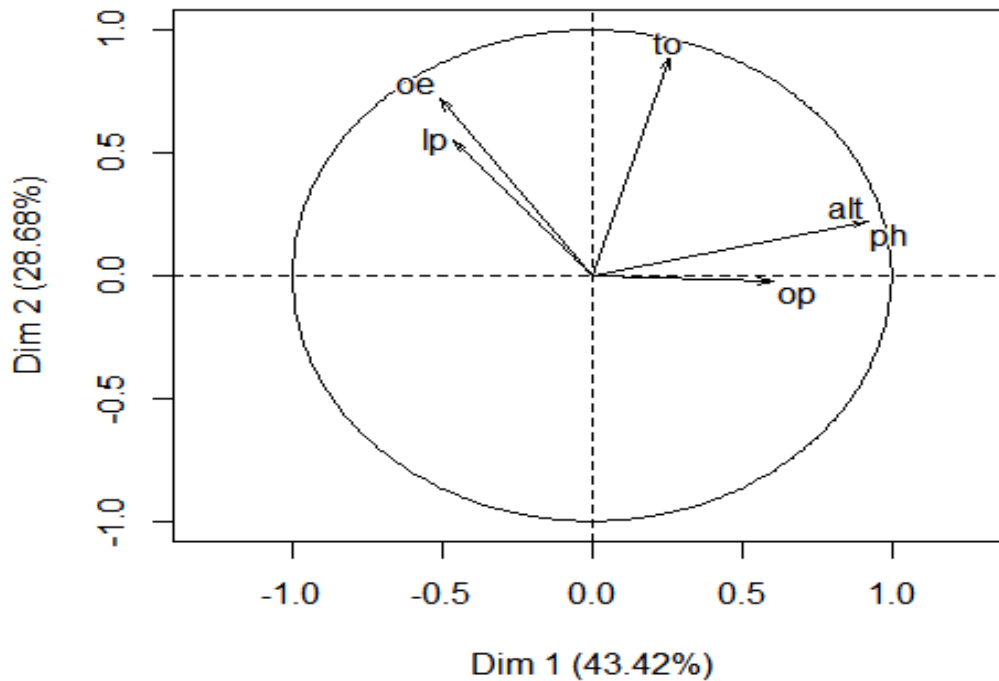


Figure 29 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour les populations de la région centre

La figure 26 donne les résultats de l'analyse en composantes principales des variables des populations en provenance de l'est du pays (Batna (BP) et Chélia (CL)). Les deux premiers axes expliquent ensemble 73,08 % de la variation totale avec une participation relative des variables dans l'explication de l'inertie de l'ordre de 49,08 % pour le premier axe et de 24 % pour le deuxième. Les variables (ph), (alt) et (lp) forment un seul groupe positivement corrélé à l'axe 1 tandis que (to) lui est opposé. La variable (op) est positivement corrélée à l'axe 2 et la variable (oe) est négativement opposée à celui-ci.

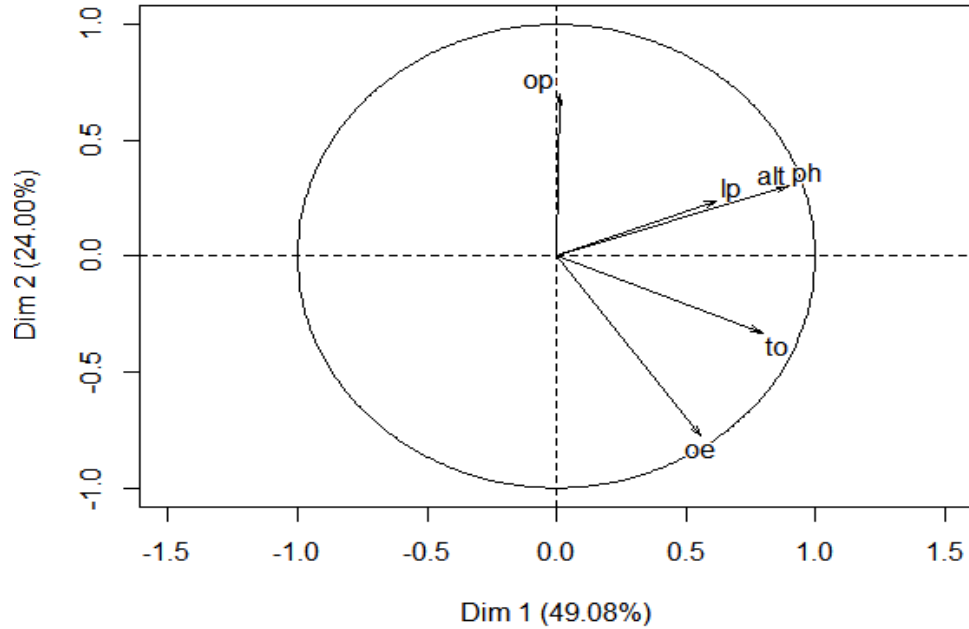


Figure 30 : Analyse en composantes principales des variables étudiées pour les populations de la région est

2.1.8. Classification ascendante hiérarchique des individus

L'ensemble des individus de la population Tlémcen (TL) s'organise en 2 groupes formés chacun de 2 sous groupes formés de 3 à 9 individus (Fig. 31).

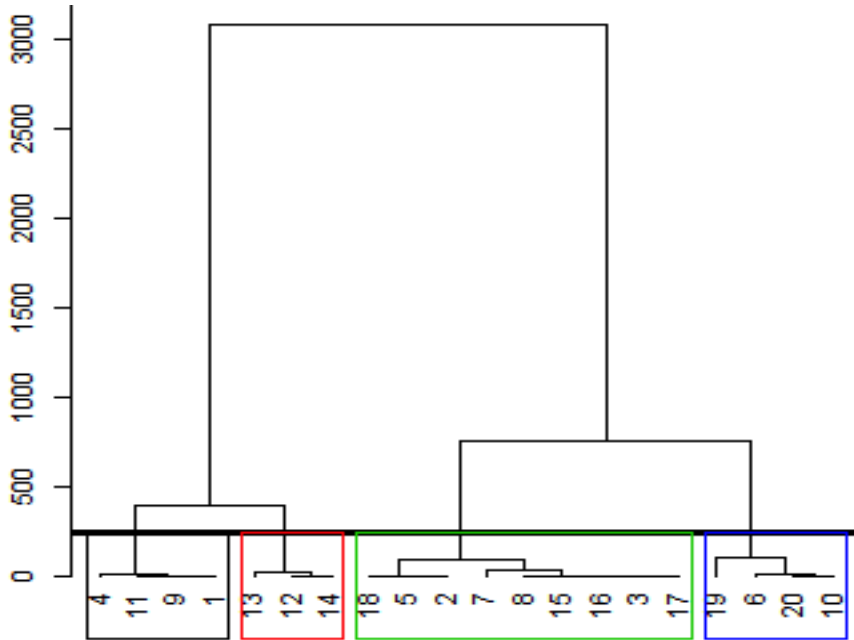


Figure 31 : Classification ascendante hiérarchique des pontes de la population de Tlemcen (TL)

La figure 32 fait ressortir la dispersion des individus de la population Theniet El Had (TE) en 2 groupes ; le premier étant formé d'un seul sous-groupe avec 17 individus. Le deuxième groupe est formé par 2 sous-groupes composés de 10 individus chacun.

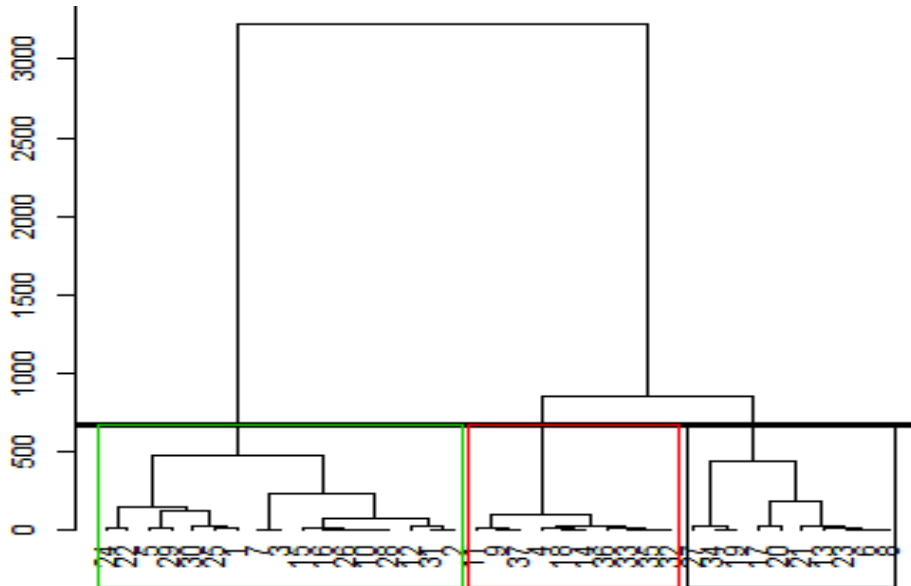


Figure 32 : Classification ascendante hiérarchique des pontes de la population de Theniet El Had (TE)

La population Bouarfa (BF) laisse apparaître 2 groupes formés de 2 sous-groupes chacun. Il importe de remarquer que l'un des sous-groupes ne renferme qu'un seul individu (Fig. 33).

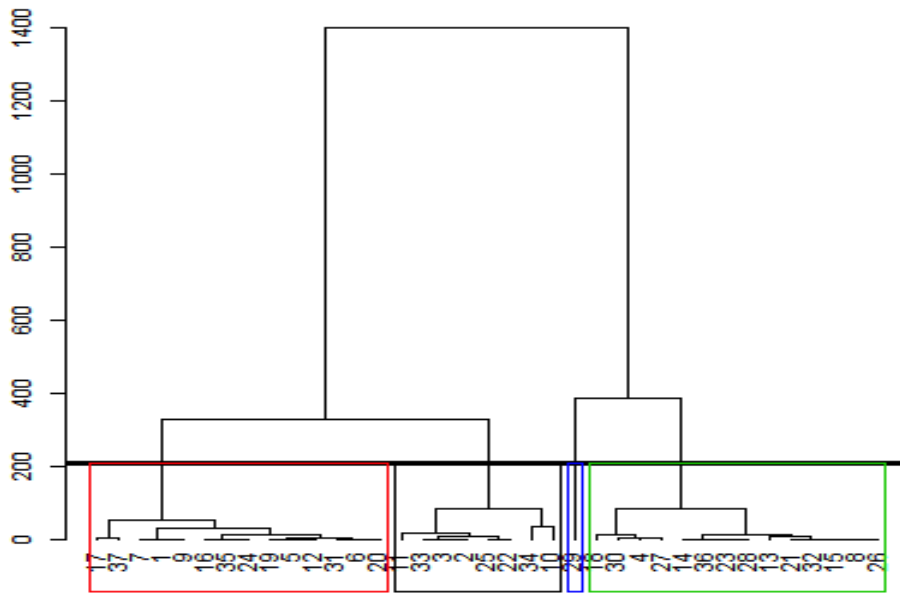


Figure 33 : Classification ascendante hiérarchique des pontes de la population de Bouarfa (BF)

La figure 34 met en évidence la grande diversité des individus de la population Chréa (CR) qui se compose de 2 groupes ; le premier referme 2 sous-groupes et le deuxième laisse apparaître 4 sous-groupes avec un nombre d'individus compris entre 1 et 8.

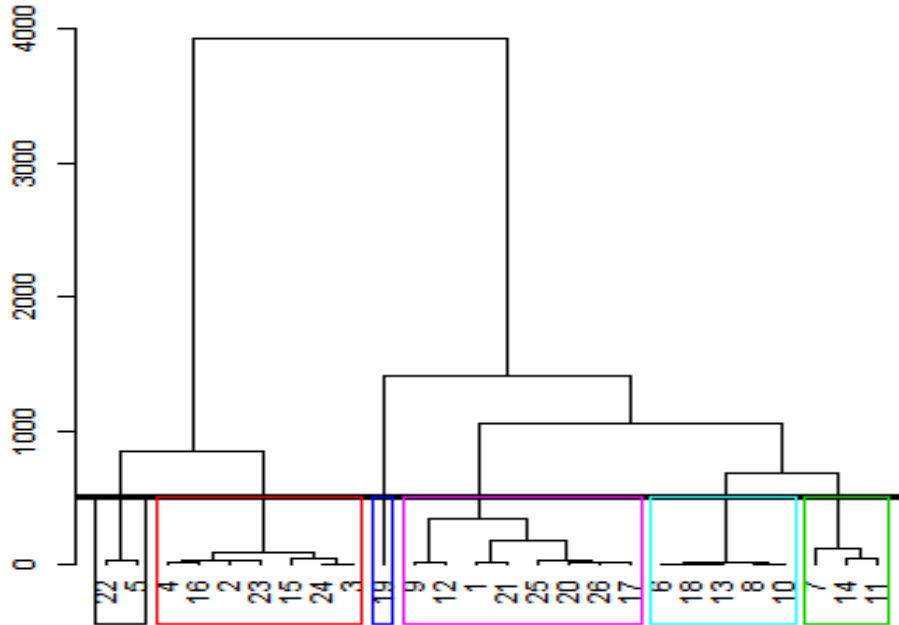


Figure 34 : Classification ascendante hiérarchique des pontes de la population de Chréa (CR)

La distribution des individus dans la population de Batna (BP) est fortement comparable à celles de Theniet El Had (TE) et de Chélia (CL) avec 3 groupes chacune (Fig 35).

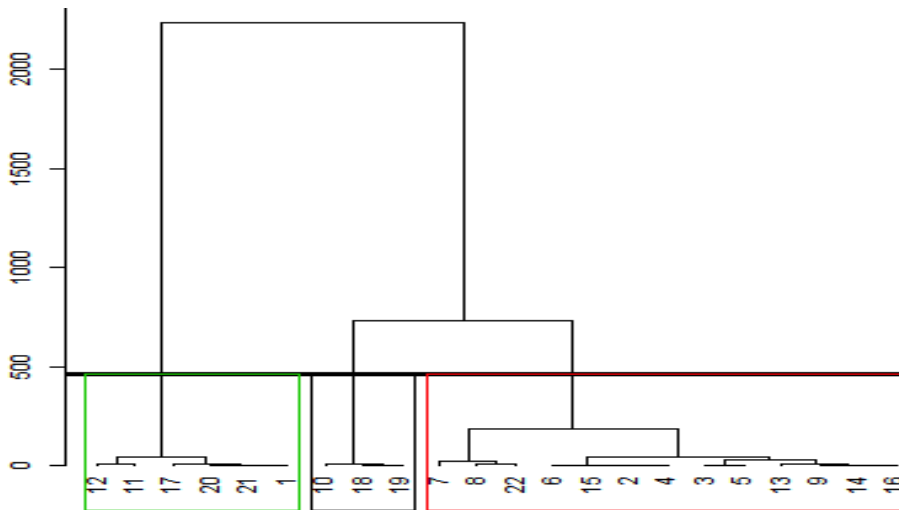


Figure 35 : Classification ascendante hiérarchique des pontes de la population de Batna (BP)

La figure 36, qui donne le regroupement des individus de la population Chélia (CL), fait ressortir 3 sous-groupes organisés en 2 groupes plus ou moins homogènes.

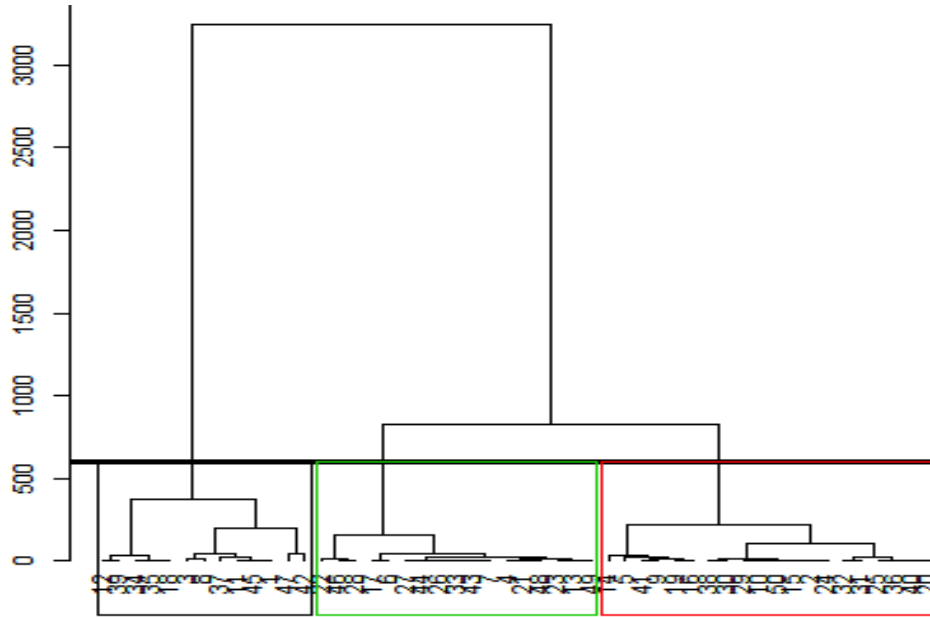


Figure 36 : Classification ascendante hiérarchique des pontes de la population de Chélia (CL)

2.2. Données génétiques

2.2.1. L'ADN mitochondrial

Au total 24 haplotypes ont été obtenus après l'alignement des fragments d'une longueur 648 Pb à partir de 140 individus.

Plusieurs populations donnent des valeurs basses pour la diversité génétique (Hd) principalement les populations de la partie est de l'échantillonnage, tandis que les valeurs les plus élevées ont été obtenues dans les populations Oued Djer (OD), Chréa (CR), Senalba (SE) et Moudjbara (MO) (Tableau 16).

Les valeurs les plus élevées de la diversité nucléotidique (π) ont été trouvées dans les populations Oued Djer (OD) ($\pi = 0,0233$) et Senalba (SE) ($\pi = 0,0017$).

Dans la région sud-est du pays, la population Batna (BP) est la seule à donner une valeur différente égale à zéro (Tableau 16).

Tableau 16 : Diversité génétique et haplotypique pour les données de l'ADN mitochondrial

Populations	N	<i>Hd</i>	π
Tlémcen (TL)	9	0,417 +/- 0,191	0,0010 +/- 0,0010
Mostaganem (MOS)	10	0,000 +/- 0,000	0,0000 +/- 0,0000
El Bayadh (EB)	8	0,464 +/- 0,200	0,0008 +/- 0,0008
Theniet El Had (TE)	8	0,429 +/- 0,169	0,0007 +/- 0,0008
Oued El Belaa (OB)	10	0,200 +/- 0,154	0,0003 +/- 0,0005
Oued Djer (OD)	10	0,511 +/- 0,164	0,0233 +/- 0,0129
Chrèa (CR)	9	0,583 +/- 0,183	0,0010 +/- 0,0010
Senalba (SE)	10	0,533 +/- 0,180	0,0017 +/- 0,0014
Moudjbara (MO)	6	0,533 +/- 0,172	0,0008 +/- 0,0009
Tikdjda (TK)	7	0,286 +/- 0,196	0,0004 +/- 0,0006
Sétif Ain Meassaoud (SAM)	9	0,000 +/- 0,000	0,0000 +/- 0,0000
Sétif Ain El Kebira (SAE)	10	0,000 +/- 0,000	0,0000 +/- 0,0000
El Eulma (EH)	10	0,000 +/- 0,000	0,0000 +/- 0,0000
Batna (BP)	8	0,000 +/- 0,000	0,0000 +/- 0,0000
Chélia (CL)	8	0,464 +/- 0,200	0,0008 +/- 0,0008
El Kala (KA)	8	0,000 +/- 0,000	0,0000 +/- 0,0000

Le réseau haplotypique ainsi que l'arbre phylogénétique (Fig. 37 et 38) confirment que les haplotypes trouvés correspondent à ceux notés par Kerdelhué *et al.*, (2009), avec 14 haplotypes appartenant au clade *pityocampa* (P1-P14) et 10 haplotypes appartenant au clade ENA (E1-E10). Les deux clades sont géographiquement localisés avec les haplotypes *pityocampa* notés dans la partie ouest du pays tandis que les haplotypes ENA se localisent à l'est (Fig. 37b).

Une zone de contact bien localisée, grâce à la présence d'haplotypes des deux clades, a été identifiée dans la partie nord autour de la population Oued Djer (OD) dans l'Atlas tellien. Les autres populations contiennent des haplotypes d'un des deux clades *pityocampa* ou ENA.

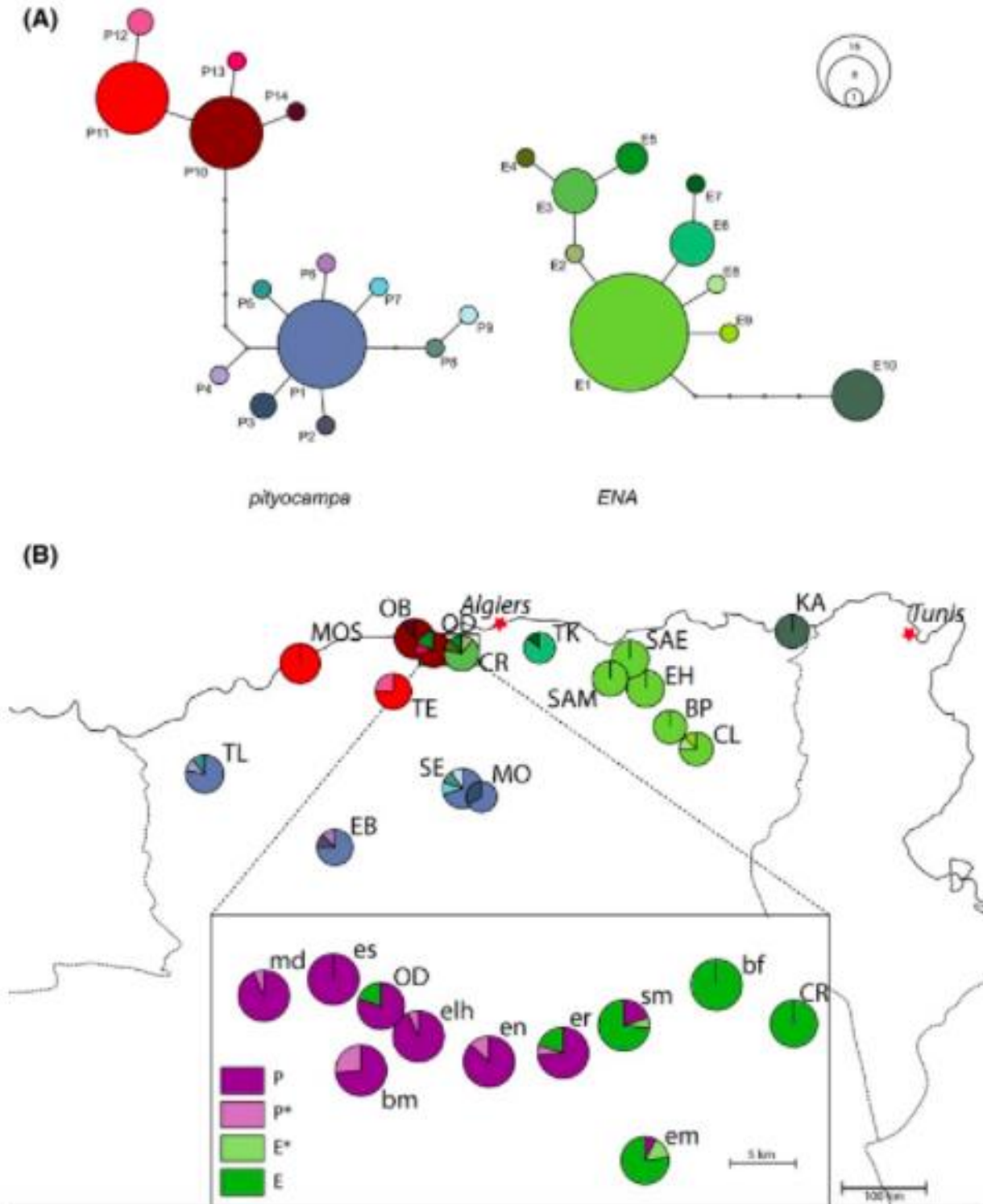


Figure 37 : Réseau haplotypique des deux clades (*pityocampa* et *ENA*) construit à partir des données d'ADN mitochondrial (fragment de 648 Pb du gène tRNA-Leu-cox2)

En utilisant l'alignement de l'ensemble des 24 haplotypes, le réseau haplotypique montre que le clade *pityocampa* est divisé en deux sous-clades. Le premier groupe rassemble la plupart des haplotypes localisés dans la partie nord-ouest du pays (Oued El Belaa (OB), Oued Djer (OD), Mostaganem (MOS) et Theniet El Had (TE)).

Ce groupe contient deux haplotypes essentiellement (P10 et P11) ainsi que trois autres haplotypes rares différents par une seule étape mutationnelle. Le deuxième sous-clade correspond aux populations de la partie sud-ouest du pays (Tlémcen (TL), El Bayadh (EB), Senalba (SE) et Moudjbara (MO)). Une structure en étoile est observée dans ce groupe avec un seul haplotype (P1) et 8 autres haplotypes, avec de faibles fréquences, différents de 1 à 3 étapes mutationnelles de (P1). Les deux sous-clades *pityocampa* sont séparés par 7 étapes mutationnelles ; ils sont notés dans différentes régions (i.e., aucun site ne contient des individus des deux sous-clades) (Fig. 37A). Le clade ENA a aussi une structure en étoile avec la présence d'un seul haplotype majeur (E1) et 9 autres haplotypes rares. L'haplotype (E10) est différent des autres haplotypes, du même groupe, par 5 étapes mutationnelles et est trouvé dans les individus de la population de l'extrême est (El Kala (KA)). Enfin, pour les deux clades, les haplotypes avec des fréquences basses sont des haplotypes spécifiques aux populations auxquels ils appartiennent (Fig. 37A).

Après la réduction de la séquence de données à une longueur de 341 Pb, telles qu'utilisées dans Kerdelhué *et al.*, (2009), le réseau haplotypique et l'arbre phylogénétique montrent que les haplotypes *pityocampa* trouvés au nord de l'Afrique sont bien distincts mais très proches des haplotypes préalablement notés au nord du Maroc, tandis que la plupart des haplotypes identifiés au sud de l'Algérie, dans la présente étude, sont similaires à ceux préalablement trouvés au sud du Maroc. D'une manière intéressante, les haplotypes P8 et P9 ont été définis comme étant liés à ce clade ; ils sont séparés des autres haplotypes par deux étapes mutationnelles (Fig. 38).

Pour le clade ENA, les haplotypes trouvés ne constituent pas des sous-groupes homogènes. La plupart des haplotypes sont liés à ceux préalablement notés au nord de l'Afrique, à l'exception d'E10, repéré dans la population El Kala (KA), qui est lié à 3 des 4 haplotypes exposés par Kerdelhué *et al.*, (2009).

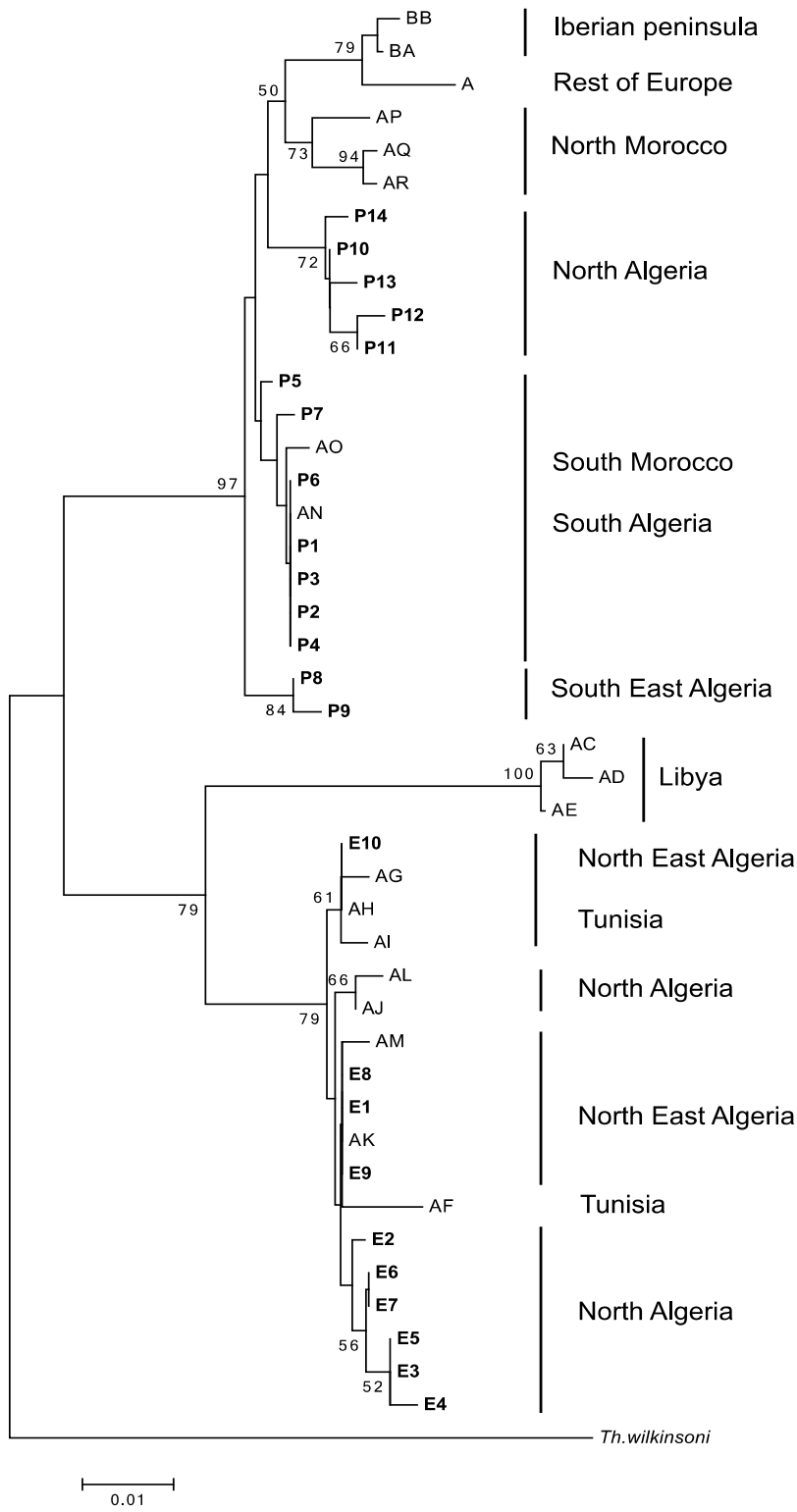


Figure 38 : Arbre phylogénétique des haplotypes obtenus et confronté à ceux de Kerdelhué *et al.*, 2009. *Ttl. wilkinsoni* est un groupe de contrôle

Le temps de séparation entre les clades *pityocampa* et ENA a été estimé à 6,5 millions d’années très similaire à celui trouvé par Kerdelhué *et al.*, (2009) soit 6,7 millions d’années. Pour le sous-clade *pityocampa* trouvé au nord-ouest, le temps de séparation est de l’ordre de 1,5 millions d’années.

L’analyse spatiale de la variance moléculaire SAMOVA donne une valeur de F_{CT} , i.e. (la proportion de la variance génétique totale relative à la différenciation entre groupes de populations) égale à 8 (K=8) (Tableau 17).

Tableau 17 : Résultats d’analyse SAMOVA en fonction des clades étudiés

K	Group composition		Fct
	<i>pityocampa</i>	ENA	
2	(TL,MOS,OB, OD ,EB,SE,MO,TE)	(TK,CR,BP,CL,EH,SAE,SAM,KA)	0,879*
3	(MOS,OB, OD ,TE)(TL,EB,SE,MO)	(TK,CR,BP,CL,EH,SAE,SAM,KA)	0,921*
4	(MOS,OB, OD ,TE)(TL,EB,SE,MO)	(TK,CR,BP,CL,EH,SAE,SAM)(KA)	0,934*
5	(MOS,OB,TE)(TL,EB,SE,MO)(OD)	(TK,CR,BP,CL,EH,SAE,SAM)(KA)	0,940*
6	(MOS,OB,TE)(TL,EB,SE,MO)(OD)	(CR)(TK,BP,CL,EH,SAE,SAM)(KA)	0,944*
7	(MOS,TE)(OB)(TL,EB,SE,MO)(OD)	(CR,TK)(BP,CL,EH,SAE,SAM)(KA)	0,947*
8	(MOS,TE)(OB)(TL,EB,SE,MO)(OD)	(CR)(TK)(BP,CL,EH,SAE,SAM)(KA)	0,951*
9	(MOS,TE)(OB)(TL,EB)(SE)(MO)(OD)	(CR,TK)(BP,CL,EH,SAE,SAM)(KA)	0,945*
10	(MOS,TE,OB)(TL,EB,SE)(MO)(OD)	(CR)(TK)(BP)(CL)(EH,SAE,SAM)(KA)	0,939*

Pour chacun des groupes homogènes, la valeur D de Tajima et la valeur Fs de Fu ont été estimées et testées. Les deux tests se sont révélés significativement négatifs pour le groupe de populations El Bayadh (EB)-Moudjbara (MO)-Senalba (SE)-Tlémcen (TL) au sein du clade *pityocampa* et pour le groupe des populations Chréa (CR) et Sétif Ain Meassaoud (SAM)-Sétif Ain El Kebira (SAE)-El Eulma (EH)-Batna (BP)-Chélia (CL) au sein du clade ENA. L’analyse des divergences s’est révélée consistante avec le modèle de l’expansion soudaine pour tous les groupes SAMOVA à l’exception de Oued Djer (OD) et El Kala (KA) (Tableau 18).

Tableau 18 : Résultats des tests de neutralité sur la base des résultats de l'analyse SAMOVA
(K = 8)

Clade	Groupes SAMOVA	<i>D</i>	<i>F_s</i>	<i>SCE</i>
<i>pityocampa</i>	MOS-TE	-0.53	-0.01	0.32077
	EB-MO-SE-TL	-2.06**	-6.48**	0.00044
	OB	-1.11	-0.34	0.33101
ENA	CR	-1.51	-1.89*	0.02385
	TK	-1.00	-0.09	0.24889
	SAM-SAE-EH-BP-CL	-1.48*	-2.89**	0.00007
	KA	0.00	-	0.00000**

SCE : somme des carrés des écarts.

Oued Djer (OD) a été exclue en raison de l'origine mixte des individus.

P* < 0,05 ; *P* < 0,01.

Les individus de la zone de contact mitochondrial amplifiés pour le fragment des gènes *cox1-tRNA^{Leu}-cox2* ont été assignés à l'un des deux clades de l'étude. Les résultats de la PCR ont montrés que les populations de l'Ouest (*md*, *es*, *bm*, *elh* et *en*) appartiennent au clade *pityocampa*, Les populations du centre (*er*, *sm* et *em*) se composent d'individus appartenant aux deux clades et que la population de l'extrême ouest (*bf*) appartienne au clade ENA. Cependant, 12 individus appartenant aux populations *md*, *bm*, *elh*, *en*, *er*, *sm* et *em* n'ont pas été définitivement assignés à un des deux clades car étant amplifiés par les deux marqueurs spécifiques de chaque clade. Ces individus ont été amplifiés avec 4 autres individus de l'un des deux clades pris pour control.

2.2.2. Les microsatellites

Deux loci (Thapit09 et Thapit17) ont donné des valeurs élevées de l'estimation des pourcentages d'allèles nuls pour les populations analysées (Tableau 19) et donc ils ont été éliminés. Les 9 autres loci ont montré des pourcentages d'allèles nuls entre populations compris entre 0,68% et 5,65%.

Tableau 19 : Estimation des pourcentages d'allèles nuls pour l'ensemble des loci utilisés

Locus	Nombre total d'allèles	% Allèles Nuls
Thpit7	18	1,61
Thpit 8	21	2,29
Thpit9	17	24,65
Thpit10	10	3,56
Thpit11	8	5,65
Thpit12	5	3,10
Thpit13	37	1,65
Thpit15	40	0,68
Thpit16	21	1,57
Thpit17	3	19,36
Thpit18	6	4,12

La moyenne du nombre d'allèles par locus a été notée presque similaire entre les sites étudiés, allant de 3,3 à 4,2 (Tableau 20). Les déviations de l'équilibre de Hardy-Weinberg n'ont pas été testées en raison du faible nombre d'individus par population.

Tableau 20 : Indices de la diversité génétique pour les données microsatellites

Populations	N	Ae	Ra	He	Ho	%NA
Tlémcen (TL)	9	3,1	6,0	0,682	0,664	3,06
Mostaganem (MOS)	8	2,2	4,3	0,550	0,458	6,49
El Bayadh (EB)	10	3,0	5,8	0,671	0,700	1,59
Theniet El Had (TE)	8	3,0	4,8	0,662	0,694	0,29
Oued El Belaa (OB)	10	3,1	4,7	0,674	0,667	2,13
Oued Djer (OD)	10	2,8	4,9	0,642	0,644	2,27
Chrèa (CR)	9	2,7	5,0	0,635	0,566	4,30

Tableau 20 (suite) : Indices de la diversité génétique pour les données microsatellites

Populations	N	Ae	Ra	He	Ho	%NA
Senalba (SE)	10	2,8	6,3	0,644	0,656	1,91
Moudjbara (MO)	10	2,6	5,3	0,622	0,611	1,91
Tikdjda (TK)	8	2,5	4,3	0,602	0,601	3,14
Sétif Ain Meassaoud (SAM)	10	2,3	4,4	0,564	0,533	2,04
Sétif Ain El Kebira (SAE)	9	2,8	4,6	0,639	0,667	1,62
El Eulma (EH)	9	2,9	5,0	0,654	0,630	2,74
Batna (BP)	7	2,3	4,0	0,570	0,460	7,06
Chélia (CL)	9	2,9	5,1	0,649	0,649	0,93
El Kala (KA)	5	3,3	4,1	0,694	0,711	3,63

Les valeurs F_{st} , par paire de populations, ont été calculées avec le logiciel FreeNA en utilisant la correction ENA pour les allèles nuls selon (Chapuis & Estoup, 2007). Les valeurs obtenues sont regroupées dans le tableau 21. Le niveau de signification de la différenciation est important entre les populations du nord-ouest (Mostaganem (MOS), Theniet El Had (TE), Oued El Belaa (OB), Oued Djer (OD), Chréa (CR) et Tikdjda (TK)) et celles de la partie est (Sétif Ain Meassaoud (SAM), Sétif Ain El Kebira (SAE) El Eulma (EH), Batna (BP), Chélia (CL) et El Kala (KA)) avec des valeurs de F_{st} comprises entre 0,137 et 0,231. Le niveau de signification de la différenciation entre la population El Kala (KA) et les autres populations a été trouvé important avec des valeurs de F_{st} comprises entre 0,127 et 0,202.

Tableau 21 : Valeurs Fst par paire de populations du macro-échantillonnage (a)
et micro-échantillonnage (b)

	TL	MOS	EB	TE	OB	OD	CR	SE	MO	TK	SAM	SAE	EH	BP	CL
a)															
MOS	0.121														
EB	0.027	0.177													
TE	0.107	0.057	0.156												
OB	0.079	0.076	0.136	0.055											
OD	0.063	0.099	0.076	0.082	0.054										
CR	0.156	0.122	0.183	0.032	0.111	0.127									
SE	0.065	0.123	0.028	0.144	0.124	0.065	0.179								
MO	0.050	0.136	0.045	0.153	0.129	0.080	0.199	0.002							
TK	0.150	0.088	0.193	0.060	0.133	0.135	0.050	0.176	0.192						
SAM	0.137	0.172	0.098	0.188	0.195	0.171	0.231	0.070	0.089	0.186					
SAE	0.123	0.173	0.110	0.188	0.171	0.173	0.208	0.100	0.110	0.153	0.023				
EH	0.106	0.164	0.068	0.178	0.176	0.139	0.193	0.047	0.058	0.157	0.022	0.026			
BP	0.108	0.173	0.083	0.187	0.167	0.137	0.213	0.055	0.052	0.186	0.024	0.055	0.015		
CL	0.099	0.161	0.094	0.168	0.160	0.149	0.197	0.072	0.057	0.173	0.035	0.034	0.028	-0.021	
KA	0.162	0.179	0.163	0.186	0.202	0.167	0.175	0.140	0.178	0.159	0.182	0.161	0.127	0.159	0.152

	<i>md</i>	<i>es</i>	<i>bm</i>	<i>elh</i>	<i>en</i>	<i>er</i>	<i>sm</i>	<i>em</i>
b)								
<i>es</i>		-0.008						
<i>bm</i>		-0.003	0.004					
<i>elh</i>		0.009	-0.003	0.001				
<i>en</i>		0.019	0.007	0.012	0.015			
<i>er</i>		0.018	0.022	0.009	0.020	0.030		
<i>sm</i>		-0.003	-0.002	0.002	0.002	0.005	-0.001	
<i>em</i>		0.032	0.036	0.023	0.029	0.024	0.005	0.007
<i>bf</i>		0.020	0.031	0.019	0.037	0.030	0.012	0.005

3. Structure génétique des populations

Un ensemble de 4 groupes distribués sur 2 niveaux hiérarchiques ont été définis. Au niveau le plus élevé de la structure des populations, l'ensemble des individus ont été assignés en 2 groupes (Fig. 39A).

Un groupe contient les individus collectés dans la partie nord-ouest du pays appartenant aux populations Mostaganem (MOS), Theniet El Had (TE), Oued El Belaa (OB), Oued Djer (OD), Chréa (CR), Tikdjda (TK) ainsi que les populations du micro-échantillonnage et les individus de la population El Kala (KA) avec un niveau de mélange (<40%) avec le second groupe.

Le deuxième groupe rassemble les individus de la partie est du pays Sétif Ain Meassaoud (SAM), Sétif Ain El Kebira (SAE), El Eulma (EH), Batna (BP), Chélia (CL), El Kala (KA) ainsi que les individus de la partie sud du pays (El Bayadh (EB), Senalba (SE), Moudjbara (MO)) qui sont partiellement mélangés avec le premier groupe. La plupart des individus de la population Tlémcen (TL), à l'exception d'un seul qui a été assigné au second groupe, ont montré un assignement mélangé (<60% pour un des groupes) ; la population Tlémcen (TL) a été exclue pour la deuxième batterie d'analyse.

La deuxième série d'analyses hiérarchiques, a mis en évidence une division des deux groupes en deux autres sous-groupes. Les individus appartenant au groupe des populations du nord-ouest ont été divisés en un premier sous-groupe composé par les populations Oued El Belaa (OB), Oued Djer (OD) ainsi que celles du micro-échantillonnage et un deuxième sous-groupe composé des populations Theniet El Had (TE), Chréa (CR), Tikdjda (TK) et Mostaganem (MOS) (Fig.39B).

Les individus des populations *em* et *bf* ainsi que les individus de la population Mostaganem (MOS) montrent un assignement mélangé entre les deux sous-groupes.

Le second groupe est divisé en un premier sous-groupe comprenant les populations du sud (El Bayadh (EB), Senalba (SE) et Moudjbara (MO)) et la population de l'extrême est El Kala (KA) et un deuxième sous-groupe composé les individus des populations Sétif Ain Meassaoud (SAM), Sétif Ain El Kebira (SAE), El Eulma (EH), Batna (BP) et Chélia (CL), avec un aspect mélangé avec le premier sous-groupe des individus des populations Batna (BP) et Chélia (CL) (Fig. 39C).

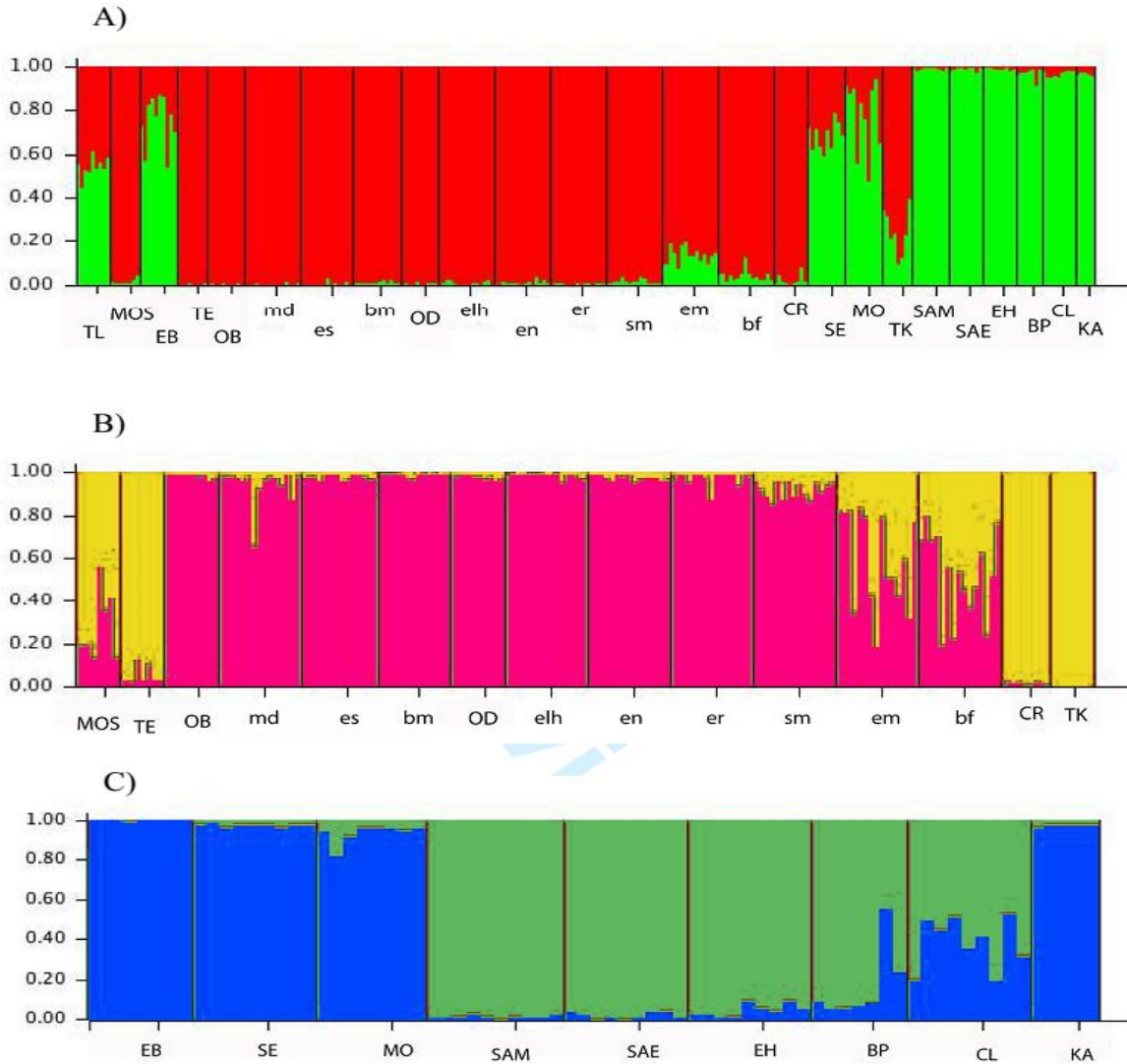


Figure 39 : Résultats de l’assignement des individus pour les données microsatellites groupées par population $K = 2$. A) L’ensemble des données, B) Populations du nord-ouest du pays et C) Populations du sud et de l’est du pays.

L’analyse de la variance moléculaire AMOVA présentée dans le tableau 22 révèle une faible variance avec une différence significative (2,97% $P < 0,05$) entre les clades mitochondriaux (*pityocampa* et ENA), cette différence est d’autant plus significative quand les populations sont groupées en fonctions des groupes définis par l’analyse SAMOVA (10,82%, $P < 0,001$). Pour le groupement des populations en fonction de la plante-hôte, le pourcentage de la variance est faible mais significatif (3,5%, $P < 0,05$).

Tableau 22 : Données de l'analyse AMOVA pour les données microsatellites divisées en fonction des résultats SAMOVA pour les valeurs K = 2 et K = 8 pour les groupes de populations par plante-hôte

	Composition de la variance		Pourcentage de variation	
Totalité des données				
Entre populations	0.391	Va	12.21	***
Intra-population	2.812	Vb	87.79	***
ADN mito. : Groupes SAMOVA pour K = 2 (pityocampa/ENA)				
Entre groupes	0.097	Va	2.97	*
Entre populations intra-groupes	0.345	Vb	10.61	***
Intra-populations	2.813	Vc	86.43	***
ADN mito. : Groupes SAMOVA pour K = 8				
Entre groupes	0.352	Va	10.82	***
Entre populations intra-groupes	0.092	Vb	2.82	***
Intra-populations	2.812	Vc	86.36	***
Plante-hôte : Cèdre (CR,TE,TK,CL)/Pin (MOS,EB,OB,OD,SE,MO,SAM,SAE,EH,BP,KA)				
Entre groupes	0.115	Va	3.5	*
Entre populations intra-groupes	0.346	Vb	10.58	***
Intra-populations	2.812	Vc	85.92	***

* $P < 0,05$; ** $P < 0,001$.

QUATRIEME CHAPITRE

DISCUSSIONS

1. Interprétation des données paramétriques

L'analyse fréquentielle des longueurs des pontes par clade montre une distribution des valeurs sur une étendue plus réduite, (13,6mm) pour 71% du clade *Pityocampa* comparée à celle du clade ENA (22mm) pour 82% du groupe.

Les limites des classes (14,8 et 28,4 mm) les plus représentées dans le clade *Pityocampa* sont inférieures de celles obtenues par Bouchou et Chakali (2014) avec 17,75 mm pour la population en provenance de Tlémcen et de 36,8 mm comme limite supérieure dans la population Theniet El Had (TE). Pour le clade ENA, les limites inférieure (11 mm) et supérieure (33mm) des catégories de classes les plus représentées sont inférieures à celles obtenues par Bouchou et Chakali (2014) avec 16,4 mm dans la population issue de Chréa et 36 mm pour la population Chélia (CL).

L'analyse fréquentielle du nombre total d'œufs par ponte au sein du clade *Pityocampa*, pour la limite inférieure (92 œufs) des classes les plus représentées, donne un résultat comparatif à celui obtenu par Bouchou et Chakali (2014) avec 95 œufs dans la population de Tlémcen (TL). Le même constat est fait pour la limite supérieure de la présente étude (216 œufs) et celle de Bouchou et Chakali (2014), avec 224 œufs, obtenue pour la population de Theniet El Had (TE)). A l'intérieur du clade ENA, la limite inférieure des classes du nombre d'œufs total par ponte est quasiment la même pour la présente étude (110) et celle de Bouchou et Chakali (2014) avec 112 œufs dans la population de Batna (BP). Cependant, la limite supérieure obtenue par Bouchou et Chakali (2014), pour le total des œufs par ponte, est de l'ordre de 310 (dans la population de Chréa (CR)) tandis que celle obtenue dans cette étude est égale à 290 œufs.

La comparaison, entre les sites au sein d'une même région (Tlémcen (TL) vs. Theniet El Had (TE) ; Bouarfa (BF) vs. Chréa (CR) et Batna (BP) vs. Chélia (CL)), des moyennes de la longueur des pontes montre que les populations de chenilles sur cèdre de l'Atlas donnent des pontes significativement plus longues que celles des populations en provenance des pinèdes. Ceci peut être expliqué par l'effet de l'altitude vu que les plantations de cèdre se retrouvent à des altitudes plus importantes que celles du pin d'Alep. Ces résultats confirment ceux obtenus par Imbert (2012) avec des valeurs plus significatives (24,27 - 34,55 mm en moyenne). Les mêmes observations ont été reportées par Bouchou et Chakali (2014) quand les longueurs des pontes ont été comparées entre deux plantations de pin à 1055 et 1306 mètres d'altitude.

Pour les populations issues de pin, la moyenne et les valeurs du nombre d'œufs non-éclos par ponte sont moins importants dans la population de l'est (Batna (BP)) comparées à celles de la population de l'ouest (Tlémcen (TL)). Ceci signifie que la stratégie de reproduction des populations de chenilles processionnaires, sur pin, est différente en fonction de la région climatique considérée. Le même constat est réalisé, pour la moyenne d'œufs non-éclos par ponte, pour les populations de cèdre. En effet, il semble qu'il existe une corrélation positive entre la moyenne des températures estivales et le nombre d'œufs non-éclos ce qui implique des pourcentages faibles d'œufs non-éclos dans les régions les moins chaudes (Roques *et al.*, 2015). Dans notre cas, il existe un mode selon lequel le nombre d'œufs non-éclos va en diminuant d'est en ouest indépendamment de la plante-hôte.

La moyenne du nombre d'œufs éclos par ponte diffère significativement dans toutes les analyses ANOVA excepté entre les plantations de pin et de cèdre pour l'ensemble des données échantillonnées ($p = 0,941$) et entre les populations de pin et de cèdre en provenance de l'est du pays ($p = 0,0629$). Ceci montre qu'il n'existe pas de corrélation entre la fécondité de l'insecte et la plante-hôte sauf dans les régions où les conditions climatiques, particulièrement la température, sont favorables (Bouchou et Chakali, 2014).

De plus, les vols relativement tardifs observés dans la population de Tlémcen (TL) peuvent expliquer le fait que le nombre ainsi que la moyenne d'œufs éclos par ponte soient les moins élevés (Démolin et Millet, 1981).

Le nombre total d'œufs par ponte est plus élevé chez les populations évoluant sur le cèdre de l'Atlas comparé à celui des populations de pin, que ce soit pour le total des données ou pour les données groupées par région, avec une différence significative tandis qu'il n'existe aucune différence pour ce paramètre entre les populations de pin ($p = 0,1514$). Ceci signifie que l'insecte arrive à maintenir un certain niveau de ses populations sur pin même avec une faible production d'œufs par ponte, indépendamment des conditions climatiques. Cette stratégie semble être efficace surtout lorsqu'on compare les pourcentages d'éclosion entre les populations de pin et celles de cèdre dans une même région, ceux observés sur pins sont supérieurs à ceux du cèdre. La combinaison des observations de la moyenne du nombre total d'œufs par ponte et le pourcentage d'éclosion permet de conclure que l'insecte a développé une stratégie de reproduction plus efficace sur pin que sur cèdre. Cette stratégie se base sur la production de moins d'œufs avec un pourcentage d'éclosion plus élevé.

Seules les populations de pins montrent une corrélation positive très hautement significative entre la longueur des pontes et le nombre total d'œufs par ponte comme il a été constaté par divers auteurs (Bouchou et Chakali, 2014 ; Sebti et Chakali, 2014).

La moyenne du nombre d'œufs parasités permet de dire que le parasitisme est plus important dans les populations de cèdre que dans celles de pin. Ceci explique directement les faibles pourcentages d'éclosion observés dans les populations de cèdre comparativement à celles de pin par région. Il est important de souligner la présence de deux parasitoïdes actifs, à savoir *Baryscapus servadeii* et *Ooencyrtus pityocampa*. L'espèce *Trichogramma embryophagum* a été rencontrée uniquement sur les pontes récoltées en cédraies prospectées.

En termes de valeurs moyennes, le nombre d'œufs parasités par ponte laisse constater un mode spécifique : le parasitisme parmi les populations de pin augmente au fur et à mesure que l'on se dirige vers l'est du pays tandis qu'il diminue dans les populations de cèdre dans le même sens.

Ceci peut être partiellement expliqué par le maintien d'un équilibre des niveaux de populations des parasitoïdes par région sur toute l'aire de répartition des chenilles processionnaires. Ceci est clairement observé dans cette étude, par l'absence de différences entre les moyennes du nombre d'œufs parasités par ponte ni pour les régions géographiques ($p = 0,0628$) ni pour les populations de pin entre elles ($0,3218$).

Selon la figure 17, qui donne la distribution du nombre d'œufs éclos en fonction du nombre total d'œufs par ponte, l'absence des populations Bouarfa (BF) et Batna (BP) du groupe 2 (faible éclosion) suppose que la stratégie de reproduction adoptée se base sur la production de plus de 100 œufs par ponte pour un pourcentage d'éclosion supérieur à 89%. En effet, le rapport de la moyenne du nombre d'œufs éclos par ponte à celui du total d'œufs par ponte tend vers 9 : 10 (soit 0,9) pour ces deux populations. Au-delà du seuil de 210 œufs par ponte, seules les populations de cèdre (Theniet El Had (TE), Chréa (CR) et Chélia (CL)) sont représentées avec 3 individus de la population Bouarfa (BF).

Sur la figure 18 et parmi les populations de pin, la distribution des valeurs du nombre d'œufs éclos en relation avec le nombre d'œufs non-éclos par ponte permet de dire que les populations de pin Bouarfa (BF) et Batna (BP) sont marquées par une efficacité reproductive élevée avec un rapport inférieur à 1 : 4 (soit un œuf non-éclos pour 4 œufs éclos pour une même ponte) contrairement à la population de Tlémcen (TL) dont 7 individus (soit 37%) donnant un rapport de 1 (c'est à dire aucune éclosion). De manière intéressante, pour cette même population (Tlémcen (TL)), 7 individus donnent un rapport d'œufs non-éclos aux œufs éclos proche de 0 (soit éclosion de l'ensemble des œufs de la ponte). Cette observation reflète une importante amplitude entre les individus les plus performants (féconds) et les moins performants. Cependant, les populations de cèdre exhibent une distribution homogène qui aboutit à un équilibre entre le nombre du double d'œufs éclos et celui des œufs non-éclos par ponte.

Si nous considérons la figure 19, relative à la distribution du nombre d'œufs éclos en fonction du nombre d'œufs parasités, les individus des populations Bouarfa (BF) et Batna (BP) ne sont présents que dans le groupe 1 dont la sensibilité au parasitisme est la plus importante, tandis que les individus des autres populations sont distribués dans les deux groupes. Le balayage de la biséctrice à partir de l'axe des abscisses sur le graphe donne l'ordre des populations les moins tolérantes aux plus résistantes au parasitisme comme suit : Tlémcen (TL), Chréa (CR), Theniet El Had (TE), Chélia (CL), Batna (BP) et Bouarfa (BF).

L'analyse en composantes principales des variables par population donne des valeurs explicatives importantes comprises entre 74,13 et 93,33 % ce qui signifie que l'ensemble des variables étudiées expliquent fortement les différences observées entre les individus d'une même population pour le paramètre fécondité. Les variables qui contribuent le plus dans l'inertie totale à l'intérieur d'une même population sont la longueur des pontes (lp), le nombre total des œufs pondus (to) et le nombre d'œufs éclos. La variable op (nombre d'œufs pondus par ponte) forme un groupe isolé et est positivement corrélée à l'axe 2 dans 4 des cas considérés. Cette variable contribue assez faiblement à l'explication de la variance intra-population.

L'analyse en composantes principales des variables par plante-hôte donne une corrélation opposée avec l'axe 2 pour la variable nombre d'œufs parasités par ponte (op) aussi bien pour les groupes des populations en provenance du pin que pour celles en provenance du cèdre. Les autres variables donnent des corrélations divergentes ; le nombre d'œufs éclos (oe) est opposé à l'axe 1 pour les populations du pin tandis qu'il lui est positivement corrélé pour les populations du cèdre. La variable total d'œufs par ponte (to) participe significativement dans l'explication de la variance observée dans le premier groupe (populations de pin) tandis qu'elle n'explique qu'un faible taux de celle-ci dans le deuxième groupe (populations de cèdre). La longueur des pontes (lp), opposée à l'axe 1, se retrouve dans le même groupe que l'altitude dans les populations de cèdre tandis que ces deux variables sont très éloignées l'une de l'autre sur l'axe 1 avec une corrélation positive de la longueur des pontes dans le groupe des populations de pin. L'altitude contribue faiblement dans l'inertie totale mais avec un effet significatif sur la dispersion des deux plante-hôte à des altitudes différentes.

L'analyse en composantes principales des variables par région géographique montre une forte corrélation entre l'altitude (alt) et la plante-hôte (hp) qui sont positivement corrélées à l'axe 1. La variable nombre d'œufs éclos (oe) est celle qui explique le moins la variance observée pour le paramètre fécondité. La longueur des pontes (lp) contribue positivement dans l'inertie totale dans la région ouest et la région est étant donné qu'elle soit positivement corrélée à l'axe 1.

La classification ascendante hiérarchique des individus par population fait ressortir une variance plus importante (6 sous-groupes) dans la population du cèdre de la région centrale (Chrèa (CR)) contrairement aux populations du cèdre des régions ouest et est qui expriment un mode de distribution plus homogène et moins varié avec 3 sous-groupes chacune. Ceci peut être expliqué par le mouvement des populations depuis les limites ouest et est vers le centre. Un autre mode de dispersion est observé pour les populations de pin qui ont plus de variance au fur et à mesure que l'on se dirige vers l'ouest.

2. Analyse des données génétiques

2.1. L'ADN mitochondrial

Les résultats des données génétiques de la présente étude complètent ceux préalablement obtenus par d'autres auteurs dans les autres pays du pourtour méditerranéen notamment (Kerdelhué *et al.*, 2009).

L'ensemble de l'aire de distribution de la processionnaire dans le nord de l'Algérie a été couvert par l'échantillonnage et les individus obtenus ont servi de matériel pour la comparaison de deux méthodes d'analyses génétiques.

L'analyse de l'ADN mitochondrial a permis d'identifier une zone de contact entre les deux clades *Pityocampa* et ENA avec une localisation géographique bien claire. D'une manière intéressante, les résultats des marqueurs microsatellites ne correspondent pas complètement avec ceux de l'ADN mitochondrial, ce qui soulève la question du statut taxonomique des deux clades et la voie de distribution de l'espèce.

La distribution allopatrique des deux clades mitochondriaux correspond à l'aire géographique occupée par les populations de l'insecte pendant la dernière ère glaciaire qui a poussé les populations à se réfugier dans les montagnes du sud du Maroc (le haut et le moyen Atlas) et le sud de l'Algérie (Atlas saharien) pour le clade *pityocampa* et dans les montagnes de Tunisie pour le clade ENA clade. Ceci est confirmé par l'arbre phylogénétique proposé par Kerdelhué *et al.*, (2009).

La zone de contact mitochondrial, allant depuis la région de Cherchell sur la côte méditerranéenne jusqu'à l'Atlas saharien au sud, est assez étroite avec presque pas de chevauchement entre les deux clades comme il a été montré par l'analyse de la structure des populations du micro-échantillonnage. Une remarque intéressante dans ce sens concerne les populations d'animaux à faible dispersion entre l'est et l'ouest du Maghreb, comme mentionné par Kerdelhué *et al.*, (2009). Cependant, la période estimée de la différenciation de chaque taxon, qui revient à 0,018 et 15 millions d'années, peut être expliqué par un ensemble d'évènements géologiques et climatiques (Guiller et Madec, 2010).

Pour la division des deux clades, la jonction d'évènements géologiques (l'apparition de l'Atlas tellien et le changement climatique du tertiaire) constitue une explication possible étant donné que la distribution des papillons dépend souvent des barrières géographiques (Kerdelhué *et al.*, 2009).

Un autre évènement biogéographique majeur semble avoir contribué fortement à la différenciation entre les sous-clades du nord-ouest et du sud-est du clade *Pityocampa* en Algérie. Comme il a été estimé grâce à l'horloge moléculaire, la division entre les deux sous-clades s'est réalisée il y a environ 15 millions d'années, au début d'une période plus froide et plus sèche dans la région du nord de l'Afrique (Beukema *et al.*, 2010) ; ceci a abouti à la fragmentation de l'aire de dispersion des plantes-hôtes et de ce fait, l'isolation des populations de chenilles processionnaires dans les hauteurs des montagnes sur les Atlas tellien et saharien. Un mode similaire de fragmentation remontant à la même période a été reportée pour d'autres espèces animales à l'ouest de la méditerranée par (Carranza & Arnold, 2003 ; Zangari *et al.*, 2006 et Stöck *et al.*, 2008), et spécifiquement par Rousselet *et al.*, (2010).

La comparaison des haplotypes donnés par Kerdelhué *et al.*, (2009) a révélé que les haplotypes de *Pityocampa* identifiés au sud de l'Algérie se groupaient ensemble en association avec ceux du sud du Maroc, ce qui laisse suggérer que la distribution passée continue de la plante-hôte depuis l'Atlas saharien et le moyen et le haut Atlas. Inversement, la discontinuité de la distribution de la plante-hôte le long de la cote depuis le Maroc jusqu'à l'Algérie explique l'existence de deux sous-clades bien structurés au nord du Maroc et au nord de l'Algérie.

A l'est du Maghreb, les haplotypes du clade ENA n'exposent pas une distribution bien structurés des sous-clades, bien que les haplotypes de l'est de l'Algérie semblent être plus associés à ceux de la Tunisie. Ce mode peut être dû, à la fois, à une continuité dans la distribution de la plante-hôte à l'est du Maghreb et à l'absence de barrières affectant la structure génétique du clade. Le vide observé sur le réseau haplotypique entre l'haplotype de la population El Kala (KA) et le reste des haplotypes du clade ENA peut être la conséquence du manque d'informations génétiques et non pas la discontinuité dans la distribution de la plante-hôte entre les populations de ce clade. Les limites géographiques des sous-clades ENA trouvés par Kerdelhué *et al.*, (2009) restent à tracer.

Les oscillations climatiques et les changements dans les aires de distribution de la plante-hôte à la fin du Pléistocène (environ 110 000 années plutôt) peut avoir influencé aussi bien les populations vu la structure en étoile trouvée dans les deux clades et les valeurs négatives des tests de neutralité pour les populations du sud, ce qui laisse suggérer un effet « bottleneck » suivi par une expansion rapide. Les hauteurs des montagnes ont servi de lieu de refuge pendant les périodes les plus chaudes, comme il a été constaté pour les populations en altitude moyenne à l'ouest de l'Europe (Rousselet *et al.*, 2010). Les populations de papillons cherchent leur milieu favorable en parcourant les versants des montagnes plutôt qu'en se répartissant selon le transect nord-sud comme il a été observé entre le Maroc et l'Europe à travers le détroit de Gibraltar (Kerdelhué *et al.*, 2009).

Enfin, la fragmentation de l'aire de répartition de la plante-hôte a certainement dû influencer la structure génétique, comme il a été suggéré par l'analyse SAMOVA, bien que cette supposition ait besoin de plus de données pour être testée.

D'autre part, la structure génétique, telle que révélée par l'analyse de l'ADN mitochondrial, n'est pas fonction de la plante-hôte ce qui confirme les résultats obtenus par d'autres auteurs ayant travaillé sur des insectes déprédateurs de différentes essences de pins (Kerdelhué *et al.*, 2006 ; Rousselet *et al.*, 2010).

Les résultats de la présente étude, concernant l'importante densité des populations de chenilles processionnaires sur le cèdre de l'Atlas dans les montagnes d'Algérie, sont la conséquence du changement de comportement des groupements de populations de pins vers une dispersion sur des altitudes plus importantes (Sbabdji & Kadik, 2011).

La présence de ce genre de groupements de végétations durant les périodes glaciaires a constitué un milieu favorable au développement et l'installation des populations de chenilles même après qu'elles aient limité leur répartition à des altitudes plus basses (Rousselet *et al.*, 2010).

2.2. Les microsattellites

Les analyses microsattellites, réalisées sur la base de l'assignement bayésien des individus, ont révélé un mode de variabilité génétique similaire à celui obtenu avec les marqueurs mitochondriaux, bien que moins prononcés. Les populations de nord-ouest (Mostaganem (MOS), Theniet El Had (TE), Oued El Belaa (OB), Oued Djer (OD), Chréa (CR) et Tikdjda (TK)) avec toutes les populations de la zone de contact forment un groupe génétiquement homogène au même titre que celui formé par les populations de l'est (Sétif Ain Messaoud (SAM), Sétif Ain El Kebira (SAE), El Eulma (EH), Batna (BP), Chélia (CL), El Kala (KA)).

La subdivision entre le groupe du nord-ouest et celui de l'est contraste avec une différenciation moins claire pour les populations du sud-ouest (Tlémcen (TL), El Bayadh (EB), Senalba (SE), Moudjbara (MO)). En effet, les individus de ces populations montrent une structure mixte entre les deux groupes précédents. L'analyse hiérarchique à l'intérieur de chaque groupe montre d'avantage de division. Pour les populations du nord-ouest, les individus sont différents selon qu'ils proviennent de la côte (Oued El Belaa (OB), Oued Djer (OD) et toutes les populations du micro-échantillonnage) ou de peuplements vivant en haute altitude (Theniet El Had (TE), Chréa (CR), Tikdjda (TK)), bien que Mostaganem (MOS), population côtière, soit reliée à ce dernier sous-groupe.

Ce mode peut être le résultat d'une adaptation à l'élévation ou bien même à la plante-hôte, étant donné que les individus collectés en haute altitude proviennent tous des peuplements de cèdre ; un effort d'échantillonnage est nécessaire pour compléter les résultats obtenus.

Un mode plus complexe a été révélé par les populations de l'est qui montrent une similarité de structure avec le groupe du sud-ouest (El Bayadh (EB), Senalba (SE), Moudjbara (MO)). Ces populations forment, avec la population de l'extrême est El Kala (KA), un groupe à part, différent des populations du nord-est (Sétif Ain Messaoud (SAM), Sétif Ain El Kebira (SAE), El Eulma (EH) et Batna (BP)). Ceci peut être dû à la connexion partielle, consolidée par le barrage vert, de la plante-hôte entre l'Atlas saharien et les montagnes du sud-est du pays (Aurès) (Sahraoui, 1995). Cette hypothèse peut être expliquée par la fréquence élevée d'individus de la population de l'extrême ouest Tlémcen (TL) qui montrent une structure mixte, ce qui peut être le résultat d'un contact récent entre les groupes du nord-ouest et du sud-ouest.

Malgré le faible nombre d'individus par population échantillonnée, les valeurs du coefficient de différenciation génétique F_{st} sont fiables. Elles sont élevées entre les populations du nord-ouest, du sud-ouest et du nord-est ($F_{st}=0,186$ entre Tikdjda (TK) et Sétif Ain Messaoud (SAM) ou Batna (BP), $F_{st}=0,199$ entre Chréa (CR) et Senalba (SE) et $F_{st}=0,231$ entre Chréa (CR) et Sétif Ain Messaoud (SAM)), ce qui montre que les sous-groupes sont toujours bien différenciés, avec des valeurs F_{st} comparables à celles obtenus par (Kerdelhué *et al.*, 2006) pour les populations géographiquement distantes ou phénologiquement asynchrones (Santos *et al.*, 2007, 2012) dans les populations d'Europe. Cette différenciation peut refléter un flux de gènes limité en raison de la présence de barrières géographiques qui aboutissent à la fragmentation de la dispersion de la plante-hôte.

Pour les populations du nord-ouest, comme précédemment discuté, la plante-hôte semble influencer partiellement la structure génétique nucléaire. Une association, faible mais significative, de la variance génétique en fonction de la plante-hôte a été décelée, contrairement aux résultats des marqueurs mitochondriaux.

Cependant, ce résultat peut être biaisé car les populations sur cèdre dérivent d'un continuum géographique (l'Atlas tellien). L'échantillonnage de populations à partir de cèdre dans d'autres régions d'Algérie et du Maroc peut donner davantage de clarifications.

2.3. Comparaison entre l'ADN mitochondrial et les microsatellites

La comparaison entre les principaux groupes génétiquement identifiés avec les microsatellites et ceux des marqueurs mitochondriaux (les clades *Pityocampa* et ENA) montre un manque de concordance entre les marqueurs utilisés. Cette remarque reste vraie aussi bien à l'échelle du micro-échantillonnage (zone de contact mitochondrial) qu'à une échelle géographique plus large.

Une discordance des résultats entre les marqueurs mitochondriaux et nucléaires a été reportée dans plusieurs autres études, et est souvent expliquée par plusieurs facteurs allant de l'introgession adaptative à la disparité démographique et le flux de gènes asymétrique basé sur le sexe (Toews & Brelsford, 2012).

Pour cette étude, cette discordance peut être liée à la dispersion inégale des sexes, avec des males qui se déplacent sur des distances plus importantes que les femelles, comme déjà observé dans d'autres populations de *T. pityocampa* et *T. wilkinsoni* (Salvato *et al.*, 2002 et 2005 ; Simonato *et al.*, 2007), ce qui résulte à un flux de gènes nucléaire plus important que celui transmis par les mitochondries.

De plus, l'introgession des organelles d'ADN, indépendamment du sexe, est asymétrique et souvent elle va depuis les individus endémiques vers les intrus (Currat *et al.*, 2008 ; Petit & Excoffier, 2009). Dans le cas de la présente étude, une asymétrie légère a été détectée dans les populations du nord Chréa (CR) et Tikdjda (TK), appartenant au clade ENA, tandis qu'elles se retrouvent groupées avec les populations du nord-ouest pour les marqueurs nucléaires.

Une asymétrie opposée, pour des individus des populations du sud-ouest avec un ADN mitochondrial *pityocampa*, qui se retrouvent associés aux populations de l'est une fois analysés par les marqueurs nucléaires.

Ceci peut être le résultat d'une asymétrie démographique opposée (i.e. différentes tailles de population) (Toews et Brelsford, 2012) entre les populations du nord et celles du sud de l'Algérie ce qui a été probablement provoquée par l'effet anthropique (l'installation du barrage vert).

La différence entre ces deux types de marqueurs est moins forte lorsque le rôle de la plante-hôte est pris en considération dans le façonnage de la structure génétique, comme il a été montré par le pourcentage élevé de la variance génétique expliquée par les groupes mitochondriaux.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La stratégie de reproduction de *T. pityocampa* dans la forêt algérienne n'est pas basée sur un mode précis. Le but du défoliateur est de maintenir les niveaux de ses populations à des seuils satisfaisants afin de tirer le maximum de bénéfice des ressources alimentaires disponibles et de s'adapter aux changements des différents facteurs environnementaux particulièrement la température.

La stratégie de reproduction de l'insecte étudié s'articule autour de sa capacité à produire un nombre d'œufs conséquent et significatif. Plusieurs éléments manquent pour une meilleure compréhension du comportement de ce genre de Lépidoptères dans son habitat naturel.

La plante-hôte semble avoir un effet significatif qui détermine l'attitude reproductive de l'insecte, sans pour autant affecter les niveaux de ses populations.

Le niveau de résistance des populations au parasitisme est différent ; les populations de la région ouest, qui appartiennent au clade *Pityocampa*, sont les plus recherchées par les parasites.

Les populations de la chenille processionnaire sur cèdre semblent se diriger vers les forêts du centre du pays (Chrèa) depuis les limites ouest et est, tandis que celles qui se développent sur pin se dirigent principalement vers l'ouest, c'est à dire une prédominance du clade ENA sur le clade *Pityocampa*.

La caractérisation de la diversité génétique des populations de l'insecte constitue un élément clé à la compréhension de la stratégie de reproduction adoptée selon les diverses conditions climatiques, dans la mesure où elle renseigne sur les différences génomiques permettant une plus grande efficacité adaptative.

La comparaison des marqueurs mitochondriaux et nucléaires souligne une localisation géographique importante des populations de chenilles processionnaires dans la limite sud de son aire de répartition. Ceci est la résultante de la topographie qui affecte les distributions actuelles et futures de ses hôtes.

Cette localisation est marquée par une zone de rencontre entre les deux clades appelée zone de contact qui constitue une aire d'échange potentiel de matériel génétique.

Les limites de la répartition exacte de la chenille processionnaire en Algérie sont à déterminer à travers des prospections plus localisées et un échantillonnage plus large afin de recueillir une variété de matériel biologique (cocons, papillons, pontes et larves).

Le manque de concordance nette entre les deux types de marqueurs utilisés révèle une introgression en cours entre les deux clades mitochondriaux : *pityocampa* et ENA, malgré les fortes barrières, ce qui laisse suggérer que les deux clades évoqués ne peuvent constituer des taxons distincts.

Cette introgression pourrait permettre aux futures populations de bénéficier de l'échange génique en faveur d'une meilleure adaptation aux conditions environnementales (changement climatique plus précisément).

Des études de caractérisation de composantes géniques impliquées dans l'adaptation de l'insecte aux changements climatiques sont à mener sur toute l'aire de sa répartition.

Les différentes populations de *T. pityocampa* sont davantage plus différents génétiquement quand elles sont géographiquement éloignées et inversement. Cette isolation par la distance indique une dispersion spatiale limitée.

Néanmoins, une analyse approfondie des traits morphologiques des populations locales est nécessaire pour la confirmation du statut taxonomique des deux clades.

Sur la base des données recueillies, le projet et le rôle du barrage vert doivent être le centre d'intérêt d'efforts futurs en vue de la compréhension de l'ampleur de l'influence anthropique sur le flux de gènes entre les populations animales isolées.

En effet, la diversité des régions de provenance des plants de pin utilisés pour la constitution du barrage vert et l'étendue de ce dernier sur une distance importante a résulté à la mise en contact des populations de chenilles processionnaires préalablement éloignées les unes des autres.

Les plans de lutte à prévoir doivent se baser sur l'interruption du continuum des peuplements forestiers hôtes de la chenille processionnaire par des essences sur lesquelles ses populations ne peuvent se développer.

La constitution d'une structure de veille et de surveillance des attaques de chenilles processionnaires permettra d'évaluer précocement le niveau des dégâts et de les contenir par des méthodes appropriées (élimination à vue, traitements chimiques et perturbation phénoménale).

D'avantage de données concernant la morphologie, l'écologie et génétique, sur plusieurs années, sont indispensables à une meilleure compréhension du comportement et une caractérisation génétique plus exacte des populations de chenilles vivant dans les forêts d'Algérie.

Un échantillonnage plus conséquent et plus localisé en combinaison avec des méthodes d'analyse génétique appropriées contribueront positivement à la définition des limites géographiques de la zone de contact entre les clades algériens.

La colonisation, lente mais continue, par les populations de chenilles processionnaires des latitudes de plus en plus importantes nous amène à poser la question sur la capacité de ce défoliateur à s'étendre au-delà de la limite sud de sa distribution actuelle.

La question sur l'effet anthropique dans la colonisation et l'installation de l'insecte dans des écotypes nouveaux reste posée et nécessite des travaux plus poussés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agenjo, J., (1941). Monografía de la Familia Thaumetopoeidae (Lep.). EOS, Revista Española de Entomología, 17, 69–130.

Amigues, S., (Ed. & Trans.). (2006). Théophraste, Recherches sur les plantes. Paris : Les Belles Lettres, 397 p.

Barata, M., Harris, D. J., Castilho, R., and Mouton, P. L. F., (2008). Comparative phylogeography of northwest African *Natrix maura* (Serpentes: Colubridae) inferred from mtDNA sequences. African Zoology, 43(1), 1-7.

Barbaro, L., (2008). Les oiseaux insectivores prédateurs de la processionnaire du pin. In : *Colloque Insectes et Changement Climatique*. En ligne : Micropolis, Aveyron (FRA), 15 nov. 2008. (www.inra.fr/projet_urticlim/reunions/micropolis).

Barbaro, L., and Battisti, A., (2011). Birds as predators of the pine processionary moth (Lepidoptera: Notodontidae). Biological Control, 56, 107–114.

Battisti, A., (1988). Host-plant relationships and population dynamics of the pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermu ¨ller). Journal of Applied Entomology, 105, 393–402.

Battisti, A., (1989). Field studies on the behavior of 2 egg parasitoids of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa*. Entomophaga, 34, 29–38.

Battisti A., Stastny M., Netherer S., Robinet C., Schopf A., Roques A., and Larsson S., (2005). Expansion of geographic range in the pine processionary moth caused by increased winter temperatures. Ecological Applications, 15, 2084-2096.

Battisti, A., Holm, G., Fagrell, B., and Larsson, S., (2011). Urticating hairs in arthropods: their nature and medical significance. *Annual Review of Entomology*, 56, 203-220.

Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., and Bonhomme, F., (1996). GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire génome, populations, interactions, CNRS UMR, 5000, 1996-2004.

Ben Faleh, A. R., Granjon, L., Tatard, C., Othmen, A. B., Said, K., and Cosson, J. F., (2012). Phylogeography of the Greater Egyptian Jerboa (*Jaculus orientalis*)(Rodentia: Dipodidae) in Mediterranean North Africa. *Journal of Zoology*, 286(3), 208-220.

Bensasson, D., Zhang, D. X., Hartl, D. L., and Hewitt, G. M. (2001). Mitochondrial pseudogenes: evolution's misplaced witnesses. *Trends in Ecology and Evolution*, 16(6), 314-321.

Benigni, M., and Battisti, A., (1999). Variazioni climatiche e processionaria del pino: adattamenti di un defoliatore a condizioni ambientali mutevoli. *L'Italia Forestale e Montana*, 54, 76–86.

Berretima, W., (2012). Caractéristiques écologiques et biométriques des pontes de la processionnaire dans quelques cédraies de l'Algérie du Nord. Mémoire de master. Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach, 71 pages.

Beukema, W., De Pous, P., Donaire, D., Escoriza, D., Bogaerts, S., Toxopeus, A. G., and Carranza, S., (2010). Biogeography and contemporary climatic differentiation among Moroccan *Salamandra algira*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 101(3), 626-641.

Biliotti, E., (1958). Les parasites et prédateurs de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera). *Entomophaga*, 3(1), 23–24.

Biliotti, E., Démolin, G., Du Merle, P., (1965). Parasitisme de la processionnaire du pin par *Villa quinquefasciata* Wied. Apud Meig. (Diptère, Bombyciliidae). Importance du comportement de ponte du parasite. *Annales des Epiphyties*, 16, 279-288.

Biollaz, F., Bruyndonckx, N., Beuneux, G., Mucedda, M., Goudet, J., and Christe, P. (2010). Genetic isolation of insular populations of the Maghrebian bat, *Myotis punicus*, in the Mediterranean Basin. *Journal of Biogeography*, 37(8), 1557-1569.

Bonnet, C., et Martin, J. C., (2008). Processionnaire du pin. Quand un ravageur forestier devient un problème sanitaire. *Nuis. Parasit. Inf.*, 54, 23-25.

Bouchou, L., (2015). Les parasitoïdes embryonnaires de la processionnaire du pin, *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. et leur importance dans quelques peuplements de pin et de cèdre du Nord de l'Algérie. *Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques, Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach*, 145p.

Bouchou L., and Chakali G., (2014). Egg mass analysis of the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera, Thaumetopoeidae) in Aleppo pine forests in semi-arid area (Djelfa- Algeria). *International Journal of Agricultural Science and Research* 4 (6), 43-52.

Bouchrou, Z. M., (2015). Biométrie et caractéristiques des pontes de la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* sur les essences hôtes, *Cedrus atlantica* Manetti et *Pinus halepensis* Mill. Mémoire de master. Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach, 86 pages.

Bouhot-Delduc, L., (2005). Dynamique des populations de la processionnaire du pin et extension de son aire de colonisation de 1981 à 2004 en France. In *Les Cahier du DSF 1–2005, La santé des forêts (France) en 2003 et 2004*, Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires Rurales, Paris, 6 p.

Buffo, E., Battisti, A., Stastny, M., & Larsson, S., (2007). Temperature as a predictor of survival of the pine processionary moth in the Italian Alps. *Agricultural and Forest Entomology*, 9, 65–72.

Burban, C., Magnoux, E., Rousselet, J., and Kerdelhué, C., (2011). Development and characterization of 13 new microsatellite markers in the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Notodontidae). Molecular Ecology Resources Primer Development Consortium et al.(Eds.), Permanent genetic resources added to Molecular Ecology Resources Database, 1, 185-189.

Cadahia, D., Démolin, G., and Biliotti, E., (1967). *Meteorus versicolor* var. *decoloratus*, nouveau parasite de *Thaumetopoea pityocampa*. Entomophaga, 12,355-361.

Carranza, S., and Arnold, E. N., (2003). History of West Mediterranean newts, *Pleurodeles* (Amphibia: Salamandridae), inferred from old and recent DNA sequences. Systematics and Biodiversity, 1(03), 327-337.

Chapuis, M. P., and Estoup, A., (2007). Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. Molecular Biology and Evolution, 24(3), 621-631.

Clement, M., Posada, D. C. K. A., and Crandall, K. A., (2000). TCS: a computer program to estimate gene genealogies. Molecular Ecology, 9(10), 1657-1659.

Condamine, F. L., Soldati, L., Clamens, A. L., Rasplus, J. Y., and Kergoat, G. J. (2013). Diversification patterns and processes of wingless endemic insects in the Mediterranean Basin: historical biogeography of the genus *Blaps* (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Biogeography, 40(10), 1899-1913.

Cosson, J. F., Hutterer, R., Libois, R., Sara, M., Taberlet, P., and Vogel, P. (2005). Phylogeographical footprints of the Strait of Gibraltar and Quaternary climatic fluctuations in the western Mediterranean: a case study with the greater white-toothed shrew, *Crocidura russula* (Mammalia: Soricidae). Molecular Ecology, 14(4), 1151-1162.

Curat, M., Ruedi, M., Petit, R. J., and Excoffier, L., (2008). The hidden side of invasions : massive introgression by local genes. Evolution, 62(8), 1908-1920.

De Jong, H., (1998) In search of historical biogeographic patterns in the western Mediterranean terrestrial fauna. *Biological Journal of the Linnean Society*, 65, 99–164.

Démolin, G., (1962). Comportement des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* au cours des processions de nymphose. *Comptes Rendus de l'Académie des sciences*, 254, 733–744.

Démolin, G., (1963). Les 'miroirs' urticants de la processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.). *Revue de Zoologie Agricole et Appliquée*, 10–12, 107–114.

Démolin, G., (1969). Comportement des adultes de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. Dispersion spatiale, importance écologique. *Annales des Sciences Forestières*, 26, 89–102.

Démolin, G., (1971). Incidences de quelques facteurs agissant sur le comportement social des chenilles de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera) pendant la période des processions de nymphose. Répercussion sur l'efficacité des parasites. *Annales de Zoologie, Ecologie Animale* (Special issue 'La lutte biologique en forêt- colloque de Pont-a-Mousson- 12–14 Novembre 1969), 33–56.

Démolin, G., (1990). Réflexions générales sur la diapause et les diapauses renforcées chez la processionnaire du pin, *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. In *Les Colloques de l'INRA 52- Cycles saisonniers chez les invertébrés*, Dourdan, France, 20–22 February 1990 (Oral communication, unpublished).

Démolin G., et Millet A., (1981). Essais insecticides contre la processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.). Action comparative de différentes spécialités commerciales de Bactospeine, Dipel, Thuricide et Dimilin. *Ann. Sci. Forest* (on line) **38** (3), 389-404. ([Http://www.afs-journal.org/](http://www.afs-journal.org/))(On May 2013).

Démolin, G., Martin, J. C., et Lavanceau, P., (1993). Lutte contre la processionnaire du pin. L'évolution des insecticides à base de *Bacillus thuringiensis*. *Phytoma*, 452, 13–16.

Démolin, G., Abgrall, J. F., et Bouhot-Delduc, L., (1996). Evolution de l'aire de la processionnaire du pin en France. Les cahiers du DSF 1–1996, La santé des forêts en 1995. Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires Rurales, Paris, 26–28.

Dempster, A. P., Laird, N. M., and Rubin, D. B., (1977). Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B*, 1-38.

DGF (Direction générale des forêts), (2004). Programme d'action national sur la lutte contre la désertification. 104 p.

Drummond, A. J., and Rambaut, A., (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7(1), 214.

Duby, C., et Robin, S., (2006). *Analyse en Composantes Principales*. Ed. Inst. nati. agro. Paris, Grignon, 54 p.

Du Merle, P., (1969). Le complexe parasitaire hypogé de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera). *Boletín del Servicio de Plagas Forestales*, 13, 131-132.

Dupanloup, I., Schneider, S., and Excoffier, L., (2002). A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology*, 11(12), 2571-2581.

Earl, D. A. and VonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2), 359-361.

El Mokhefi M., Chakali G., Zamoum M., Bensidi A., and Battisti A., 2015. Detail of the Past and Situation of the Pine Processionary Moths, *Thaumetopoea pityocampa* and *T. wilkinsoni*, in North Africa and Asia Minor. In: Roques A (Ed) *Processionary moths and climate change: an update*. Springer-Quae, Dordrecht/Versailles, pp133-134.

Evanno, G., Regnaut, S., and Goudet, J., (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8), 2611-2620.

Evans J.D., (1996). *Straight forward statistics for the behavioral sciences*. Pacific Grove, CA: Brooks/Cole Publishing.

Excoffier, L., Smouse, P. E., and Quattro, J. M., (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2), 479-491.

Excoffier, L., and Lischer, H. E., (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564-567.

Fonseca, M. M., Brito, J. C., Paulo, O. S., Carretero, M. A., and Harris, D. J., (2009). Systematic and phylogeographical assessment of the *Acanthodactylus erythrurus* group (Reptilia: Lacertidae) based on phylogenetic analyses of mitochondrial and nuclear DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 51(2), 131-142.

Fritz, U., Harris, D. J., Fahd, S., Rouag, R., Martínez, E. G., Casalduero, A. G., and Hundsdörfer, A. K., (2009). Mitochondrial phylogeography of *Testudo graeca* in the Western Mediterranean: old complex divergence in North Africa and recent arrival in Europe. *Amphibia-Reptilia*, 30(1), 63-80.

Fu, Y. X., and Li, W. H., (1993). Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics*, 133(3), 693-709.

Gachi M, (1996). La chenille processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. Conférence journées d'études en protection des forêts. C.F.T.A.S. Jijel. 17 pp.

Géri, C., (1980). Application des méthodes d'études démécologiques aux insectes défoliateurs forestiers. Cas de *Diprion pini* L. (Hyménoptère, Diprionidae). Dynamique des populations de la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* (Lépidoptère, Thaumetopoeidae) dans l'île de Corse. Doctorat d'Etat, Université Paris Sud, Orsay, France, 289 p.

Géri, C., (1983a). Répartition et évolution des populations de la processionnaire du pin, *Thaumetopoea pityocampa* Schiff, (Lep., Thaumetopoeidae) dans les montagnes corses. I. Régimes d'apparition de l'insecte et dynamique des populations. *Acta Oecologica, Oecologia Applicata*, 4, 247–268.

Géri, C., (1983b). Dynamique de la processionnaire du pin dans la vallée de Niolo en Corse au cours des cycles 1965–1966, 1967–1968, 1969–1970. Rôle de certains caractères du milieu forestier. *Annals of Forest Sciences*, 40, 123–156.

Gonzalez-Cano, J. M., (1981). Predacion de procesionaria del pino por vertebrados en la zona de Mora de Rubielos (Teruel). *Boletin de la Estacion Central de Ecologia*, 10, 53–77.

Grivet, D., Climent, J., Zabal-Aguirre, M., Neale, D. B., Vendramin, G. G., and González-Martínez, S. C., (2013). Adaptive evolution of Mediterranean pines. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 68(3), 555-566.

Guerrero, A., Camps, F., Coll, J., Riba, M., Einhorn, J., Descoins, C., and Lallemand, J. Y., (1981). Identification of a potential sex pheromone of the processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera, otodontidae). *Tetrahedron Letters*, 22, 2013–2016.

Guiller, A., and Madec, L., (2010). Historical biogeography of the land snail *Cornu aspersum*: a new scenario inferred from haplotype distribution in the Western Mediterranean basin. *BMC Evolutionary Biology*, 10(1), 18.

-
- Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., and Gascuel, O., (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59(3), 307-321.
- Habel, J. C., Meyer, M., El Mousadik, A., and Schmitt, T., (2008). Africa goes Europe: The complete phylogeography of the marbled white butterfly species complex *Melanargia galathea*/*M. lachesis* (Lepidoptera: Satyridae). *Organisms Diversity and Evolution*, 8(2), 121-129.
- Habel, J. C., Dieker, P., and Schmitt, T., (2009). Biogeographical connections between the Maghreb and the Mediterranean peninsulas of southern Europe. *Biological Journal of the Linnean Society*, 98(3), 693-703.
- Habel, J. C., Lens, L., Rödder, D., and Schmitt, T., (2011). From Africa to Europe and back: refugia and range shifts cause high genetic differentiation in the Marbled White butterfly *Melanargia galathea*. *BMC Evolutionary Biology*, 11(1), 215.
- Hoch, G., Toffolo, E. P., Netherer, S., Battisti, A., and Schopf, A., (2009). Survival at low temperature of larvae of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* from an area of range expansion. *Agricultural and Forest Entomology*, 11(3), 313-320.
- Hodar, J. A., Zamora, R., and Castro, J., (2002). Host utilisation by moth and larval survival of pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa* in relation to food quality in three *Pinus* species. *Ecological Entomology*, 27, 292–301.
- Horn, A., Roux-Morabito, G., Lieutier, F., and Kerdelhué, C., (2006). Phylogeographic structure and past history of the circum-Mediterranean species *Tomicus destruens* Woll. (Coleoptera: Scolytinae). *Molecular Ecology*, 15(6), 1603-1615.
- Huchon H., et Démolin G., (1970). La bio-écologie de la processionnaire du pin. Dispersion potentielle - Dispersion actuelle. *Rev. For. Fr. n° "La lutte biologique en forêt"*, 220-234.

Huchon, H., et Démolin, G., (1971). La bioécologie de la processionnaire du pin. Dispersion potentielle – Dispersion actuelle. *Phytoma*, 23, 11–20

Husemann, M., Schmitt, T., Zachos, F. E., Ulrich, W., and Habel, J. C., (2014). Palaeartic biogeography revisited: evidence for the existence of a North African refugium for Western Palaeartic biota. *Journal of Biogeography*, 41(1), 81-94.

Imbert C.E., (2012). Expansion d'un ravageur forestier sous l'effet du réchauffement climatique : la processionnaire du pin affecte-t-elle la biodiversité entomologique dans les zones nouvellement colonisées ?. *Thèse Doctorat. Université d'Orléans. INRA, Orléans, 197 p.*

Kalinowski, S. T., (2011). The computer program STRUCTURE does not reliably identify the main genetic clusters within species: simulations and implications for human population structure. *Heredity*, 106(4), 625-632.

Kaliontzopoulou, A., Pinho, C., Harris, D. J., and Carretero, M. A., (2011). When cryptic diversity blurs the picture: a cautionary tale from Iberian and North African *Podarcis* wall lizards. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103(4), 779-800.

Kerdelhué, C., Magnoux, E., Lieutier, F., Roques, A., and Rousselet, J., (2006). Comparative population genetic study of two oligophagous insects associated with the same hosts. *Heredity*, 97(1), 38-45.

Kerdelhué, C., Zane, L., Simonato, M., Salvato, P., Rousselet, J., Roques, A., and Battisti, A., (2009). Quaternary history and contemporary patterns in a currently expanding species. *BMC Evolutionary Biology*, 9(1), 220.

Kimoto T., et Duthie-Holt M., (2006). Guide des insectes forestiers exotiques. Ed. ACIA, Canada, 12p.

Kiriakoff, S. G., (1970). Lepidoptera Familia Thaumetopoeidae. In P. Wytzman (Ed.), *Genera insectorum* (pp. 1–54). Anvers: SPRL Mercurius.

Le Houérou, H. N., (1997). Climate, flora and fauna changes in the Sahara over the past 500 million years. *Journal of Arid Environments*, 37(4), 619-647.

Le Houérou, H. N., (2009). *Bioclimatology and biogeography of Africa* (p. 240). New York: Springer.

Martin, J. C., et Bonneaux, X., (2006). *Bacillus thuringiensis* 30 ans de lutte contre les chenilles défoliatrices en forêt. *Phytoma*, 590, 4–7.

Martin J.C., Bonnet C., et Mazet R., (2007). La processionnaire du pin : vers un contrôle écologique et raisonné. In : Conférence sur l'entretien des espaces verts, jardins, gazons, forêts, zones aquatiques et autres zones non-agricoles. Angers (France).

Masutti, L., and Battisti, A., (1990). *Thaumetopoea pityocampa* (Den. & Schiff.) in Italy. Bionomics and perspectives of integrated control. *Journal of Applied Entomology*, 110, 229–234.

Matthioli, P. A., (1562). *Medici Senensis Commentarii*, in *Libros sex Pedacii Dioscoridis Anazarbei, de Materia Medica, Adjectis qua `m plurimis plantarum & animalium imaginibus, eodem authore*. Vincenzo Valgrisi, Venezia, Italy and Gabriel Coterius, Lyon, France, 707 p. In : A. Roques Ed. *Processionary moths and climate change: an update*. Quae-Springer, Dordrecht, pp 35-38.

Miller S. A., Dykes D. D. and Polesky H. F., (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.*, 16 (3), 1215.

Montoya, R., (1981). *La procesionaria del pino. Plagas de Insectos en las Masas Forestales Españolas*. Madrid: Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación.

Montoya, R., (1984). Description of a new type of trap to catch males of pine processionary. *Boletín de la Estación Central de Ecología*, 13, 99-103.

Nicolas, V., Ndiaye, A., Benazzou, T., Souttou, K., Delapre, A., and Denys, C., (2014). Phylogeography of the North African dipodil (Rodentia: Muridae) based on cytochrome-b sequences. *Journal of Mammalogy*, 95(2), 241-253.

Nicolas, V., Mataame, A., Crochet, P. A., Geniez, P., and Ohler, A., (2015). Phylogeographic patterns in North African water frog *Pelophylax saharicus* (Anura: Ranidae). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 53, 239-248.

Nylander, J. A., Ronquist, F., Huelsenbeck, J. P., and Nieves-Aldrey, J., (2004). Bayesian phylogenetic analysis of combined data. *Systematic Biology*, 53(1), 47-67.

Paiva, M. R., Mateus, E., Santos, M. H., & Branco, M. R., (2011). Pine volatiles mediate host selection for oviposition by *Thaumetopoea pityocampa* (Lep., Notodontidae). *Journal of Applied Entomology*, 135, 195–203

Petit, R. J., and Excoffier, L., (2009). Gene flow and species delimitation. *Trends in Ecology and Evolution*, 24(7), 386-393.

Pimentel, C., & Nilsson, J.-Å., (2007). Response of great tits *Parus major* to an irruption of a pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* population with a shifted phenology. *Ardea*, 95, 191–199.

Pritchard, J. K., Stephens, M., and Donnelly, P., (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.

Richardson, D. M., (2000). *Ecology and biogeography of Pinus*. Cambridge University Press.

-
- Rivière, J., (2011). Les chenilles processionnaires du pin, évaluation des enjeux de santé animale. *Thèse de Médecine Vétérinaire, Maison-Alfort, N° 023, 206 p.*
- Robinet, C., Imbert, C. E., Rousselet, J., Sauvard, D., Garcia, J., Goussard, F., and Roques, A., (2011). Human-mediated long-distance jumps of the pine processionary moth in Europe. *Biological Invasions*, 14(8), 1557-1569.
- Roques A., (Ed) 2015. Processionary moths and climate change: an update. Springer-Quae, Dordrecht/Versailles, pp133-134.
- Rosenberg, N. A., (2004). DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, 4(1), 137-138.
- Rosenzweig, C., Casassa, G., Karoly, D. J., Imeson, A., Liu, C., Menzel, A., Rawlins, S., Root, T. L., Seguin, B., & Tryjanowski, P. (2007). Assessment of observed changes and responses in natural and managed systems. In M. L. Parry et al. (Ed.), *Assessment of observed changes and responses in natural and managed systems. Climate change 2007: Impacts, adaptation and vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (pp. 79–131). Cambridge : Cambridge University Press.
- Rousselet, J., (2011). La chenille processionnaire du pin, *Thaumetopoea pityocampa* ravageur forestier à la nuisance urbaine. Centre de recherche d'Orléans. INRA, 2p.
- Rousselet, J., Zhao, R., Argal, D., Simonato, M., Battisti, A., Roques, A., and Kerdelhué, C., (2010). The role of topography in structuring the demographic history of the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Notodontidae). *Journal of Biogeography*, 37(8), 1478-1490.
- Sahraoui, B., (1995). Bilan critique du barrage vert en Algérie. *Sècheresse* 6: 247-255

Salvato, P., Battisti, A., Concato, S., Masutti, L., Patarnello, T., and Zane, L., (2002). Genetic differentiation in the winter pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa*—*wilkinsoni* complex), inferred by AFLP and mitochondrial DNA markers. *Molecular Ecology*, 11(11), 2435-2444.

Salvato, P., Simonato, M., Zane, L., Patarnello, T., Masutti, L., and Battisti, A., (2005). Do sexual pheromone traps provide biased information of the local gene pool in the pine processionary moth?. *Agricultural and Forest Entomology*, 7(2), 127-132.

Santos, H., Rousselet, J., Magnoux, E., Paiva, M. R., Branco, M., and Kerdelhué, C., (2007). Genetic isolation through time: allochronic differentiation of a phenologically atypical population of the pine processionary moth. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 274(1612), 935-941.

Santos, X., Rato, C., Carranza, S., Carretero, M. A., and Pleguezuelos, J. M., (2012). Complex phylogeography in the Southern Smooth Snake (*Coronella girondica*) supported by mtDNA sequences. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 50(3), 210-219.

Sauvard D., and Yart A., (2015). Morphological, physiological and behavioural adaptation of pine processionary moth in the expanding areas. In: A. Roques Ed. *Processionary moths and climate change: an update*. Quae-Springer, Dordrecht, pp 35-38.

Sbabdji M., (2012). Etude des infestations de la cédraie de Chréa par la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* Schiff : description spatiotemporelle et relations arbre-défoliateur. *Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques, Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach, 115p.*

Sbabdji M., El Hadi O., Haddad A., Kadik B., and Lambs L., (2009). Cedar tree growth (*Cedrus atlantica* Manetti) in Chréa National Park, Algeria, and the influence of defoliation by the pine processionary caterpillar (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.). *Rev. Ecol.* **64** : 323-332.

Sbadjji, M., and Kadik, B., (2011). Effects of Atlas cedar (*Cedrus atlantica*) defoliation on performance of the pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa*). *Journal of Pest Science*, 84(2), 213-217.

Schintlmeister, A., (2013). Notodontidae & Oenosandridae (Lepidoptera). *World catalogue of Insects*, 11, (608 pp.). Leiden: Brill.

Sebti, S., and Chakali G., (2014). Distribution and importance of the pine processionary moth winter nests *Thaumetopoea pityocampa* (Denis and Schiffermüller) (Lepidoptera : Notodontidae) in the forests cedar of the national park of Chr ea (Algeria). *International Journal of Agriculture Science and Research*, 5 (4), 77-84.

Simon, C., Buckley, T. R., Frati, F., Stewart, J. B., and Beckenbach, A. T., (2006). Incorporating molecular evolution into phylogenetic analysis, and a new compilation of conserved polymerase chain reaction primers for animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37, 545-579.

Simonato, M., Mendel, Z., Kerdelhu e, C., Rousselet, J., Magnoux, E., Salvato, P., Roques, A., Battisti, A. and Zane, L., (2007). Phylogeography of the pine processionary moth *Thaumetopoea wilkinsoni* in the Near East. *Molecular Ecology*, 16(11), 2273-2283.

Simonato, M., Battisti, A., Kerdelhu e, C., Burban, C., Lopez-Vaamonde, C., Pivotto, I., and Negrisolo, N., (2013). Host and phenology shifts in the evolution of the social moth genus *Thaumetopoea*. *PloS one*, 8(2), e57192.

Slatkin, M., (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139(1), 457-462.

Snedecor, G. W., and Cochran, W. G., (1980). *Statistical methods, seventh edition*, Ames : Iowa State University Press.

Sousa, P., Harris, D. J., Froufe, E., and Meijden, A. (2012). Phylogeographic patterns of *Buthus scorpions* (Scorpiones: Buthidae) in the Maghreb and South-Western Europe based on CO1 mtDNA sequences. *Journal of Zoology*, 288(1), 66-75.

StatSoft France, (2003). Statistica (Logiciel d'analyse de données), version 6.

Stöck, M., Dubey, S., Klütsch, C., Litvinchuk, S. N., Scheidt, U., and Perrin, N., (2008). Mitochondrial and nuclear phylogeny of circum-Mediterranean tree frogs from the *Hyla arborea* group. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49(3), 1019-1024.

Stuckas, H., Velo-Antón, G., Fahd, S., Kalboussi, M., Rouag, R., Arculeo, M., Marrone, F., Sacco, F., Vamberger, M., and Fritz, U., (2014). Where are you from, stranger? The enigmatic biogeography of North African pond turtles (*Emys orbicularis*). *Organisms Diversity and Evolution*, 14(3), 295-306.

Tajima, F., (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 585-595.

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., and Kumar, S., (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725-2729.

Templeton, A. R., Crandall, K. A., and Sing, C. F., (1992). A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics*, 132(2), 619-633.

Terrab, A., Paun, O., Talavera, S., Tremetsberger, K., Arista, M., and Stuessy, T. F., (2006). Genetic diversity and population structure in natural populations of Moroccan Atlas cedar (*Cedrus atlantica*; Pinaceae) determined with cpSSR markers. *American Journal of Botany*, 93(9), 1274-1280.

Tiberi, R., Niccoli, A., Curini, M., Epifano, F., Marcotullio, M. C., & Rosati, O., (1999). The role of the monoterpene composition in *Pinus* spp. needles, in host selection by the pine processionary caterpillar, *Thaumetopoea pityocampa*. *Phytoparasitica*, 27, 263–272.

Toews D. P., and Brelsford A., (2012). The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. *Mol. Ecol.*, 21, 3907–3930.

Tsankov, G., Mirchev, P., and Matova, M., (2006). Egg parasitoids, rate of parasitism and structure of egg batches of *Thaumetopoea pityocampa* (Den. and Schiff.) (Lep., Thaumetopoeidae) from the region of Ochrid (Republic of Macedonia). *Silva Balcanica*, 7, 77–87.

Vega, J. M., Moneo, I., Garcia-Ortiz, J. C., Sanchez-Palla, P. S., Sanchis, M. E., Vega, J., Gonzalez-Muñoz, M., Battisti, A., and Roques, A., (2011). Prevalence of cutaneous reactions to the pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa*) in an adult population. *Contact Dermatitis*, 64(4), 220–228.

Zahiri, R., Lafontaine, D., Schmidt, C., Holloway, J. D., Kitching, I. J., Mutanen, M., and Wahlberg, N., (2013). Relationships among the basal lineages of Noctuidae (Lepidoptera, Noctuoidea) based on eight gene regions. *Zoologica Scripta*, 42, 488–507.

Zamoum, M., (1998). Données sur la bioécologie, les facteurs de mortalité et la dynamique de populations de *Thaumetopoea pityocampa* Denis et Schiffermuller (Lep. Thaumetopoeidae) dans les pineraies subsahariennes de la région de Djelfa (Algérie). *Thèse de doctorat Rennes I-France*.

Zangari, F., Cimmaruta, R. and Nascetti, G., (2006) Genetic relationships of the western Mediterranean painted frogs based on allozymes and mitochondrial markers: evolutionary and taxonomic inferences (Amphibia, Anura, Discoglossidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 87, 515–536.

Alain Roques *Editor*

Processionary Moths and Climate Change: An Update

Quæ

Éditions Quæ, Paris, Inra, Inistat
www.quæ.com



Springer

Editor

Alain Roques
Zoologie Forestière
INRA, UR 0633
Orleans, France

ISBN 978-94-017-9339-1 ISBN 978-94-017-9340-7 (eBook)

DOI 10.1007/978-94-017-9340-7

Springer Dordrecht Heidelberg New York London

Library of Congress Control Number: 2014951874

Éditions Quæ, R10, 78026 Versailles cedex, France www.quae.com

© Éditions Quæ, 2015

This work is subject to copyright. All rights are reserved by the Publisher, whether the whole or part of the material is concerned, specifically the rights of translation, reprinting, reuse of illustrations, recitation, broadcasting, reproduction on microfilms or in any other physical way, and transmission or information storage and retrieval, electronic adaptation, computer software, or by similar or dissimilar methodology now known or hereafter developed. Exempted from this legal reservation are brief excerpts in connection with reviews or scholarly analysis or material supplied specifically for the purpose of being entered and executed on a computer system, for exclusive use by the purchaser of the work. Duplication of this publication or parts thereof is permitted only under the provisions of the Copyright Law of the Publisher's location, in its current version, and permission for use must always be obtained from Springer. Permissions for use may be obtained through RightsLink at the Copyright Clearance Center. Violations are liable to prosecution under the respective Copyright Law.

The use of general descriptive names, registered names, trademarks, service marks, etc. in this publication does not imply, even in the absence of a specific statement, that such names are exempt from the relevant protective laws and regulations and therefore free for general use.

While the advice and information in this book are believed to be true and accurate at the date of publication, neither the authors nor the editors nor the publisher can accept any legal responsibility for any errors or omissions that may be made. The publisher makes no warranty, express or implied, with respect to the material contained herein.

Printed on acid-free paper

Springer is part of Springer Science+Business Media (www.springer.com)

6 Detail of the Past and Situation of the Pine Processionary Moths, *Thaumetopoea pityocampa* and *T. wilkinsoni*, in North Africa and Asia Minor

6.1 *The Pine Processionary Moth, Thaumetopoea pityocampa, in Algeria*

Mhamed El Mokhefi, Gahdab Chakali, Mohamed Zamoum, Atia Bensidi, and Andrea Battisti

The pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* occurs everywhere there are pine (*Pinus* spp.) and cedar (*Cedrus atlantica*) forests and trees in Algeria (Fig. 3.29). Present elevation range extends to upper timberline, notably on cedar, although it is not clear whether timberline has been reached recently because of global warming or the moth was already present at low density. Certainly the outbreaks observed at high elevation are recent (Sbabdji and Kadik 2011). Definitely its expansion to the south has been facilitated by the large afforestation effort made during the twentieth century and called ‘barrage vert’, i.e. the planting of millions of hectares with Aleppo pine (*Pinus halepensis*) along the Saharian Atlas, a mountain chain dividing the Sahara desert from the coastal area (Zamoum 1998). This expansion has been associated with large-scale pest management, mainly based on *Btk* applications over hundreds thousand hectares every year in the last decades.



Fig. 3.29 Present distribution of *Thaumetopoea pityocampa* in Algeria in relation to the range of conifer species

A recent genetic survey has shown that a population from this southern area belongs to the *pityocampa* clade, i.e. to the populations extending from the Balkan peninsula to the west, including the Iberian peninsula and the north-western Africa, whereas another population located closer to the coast belongs to the ENA clade of *T. pityocampa*, which is centered in Tunisia and extends to north-eastern Africa as well (Cyrenaica) (Kerdelhué et al. 2009, 2014, chapter 4 in this book). It appears likely that the contact area between the two clades is located in Algeria and a project has been started to better clarify the situation. Populations have been sampled all over the country and the results will reveal where the contact area is and the possible consequences of the occurrence of the two clades on the insect pest management.

Genetic differentiation of the pine processionary moth at the southern edge of its range: contrasting patterns between mitochondrial and nuclear markers

M'hamed El Mokhefi¹, Carole Kerdelhué², Christian Burban³, Andrea Battisti⁴, Gahdab Chakali¹ & Mauro Simonato⁴

¹Département de Zoologie Agricole et Forestière, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El-Harrach, 16200 Algiers, Algeria

²INRA, UMR CBGP, F-34988 Montferrier-sur-Lez, France

³BIOGECO, INRA, Univ. Bordeaux, 33610 Cestas, France

⁴Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals, & Environment (DAFNAE), University of Padua, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD), Italy

Keywords

Algeria, *Cedrus*, insects, Maghreb, phylogeography, *Pinus*.

Correspondence

Mauro Simonato, Università di Padova, DAFNAE, Agripolis, viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD), Italy.
Tel: 0039 049 8272811;
Fax: 0039 0498272784;
E-mail: mauro.simonato@unipd.it

Funding Information

University of Padova (Grant/Award Number: senior research grant GRIC12NM68). The work was partly supported by the University of Padova, the URTICLIM project from ANR France, and the PCLIM network (*International research network about the adaptive response of processionary moths and their associated organisms to global change*) funded by the ACCAF program of INRA, France. Genotyping was performed at the Genomic and Sequencing Facility of Bordeaux (grants from the Conseil Regional d'Aquitaine no. 20030304002FA and 20040305003FA and from the European Union, FEDER no. 2003227 and from Investissements d'avenir, Convention attributive d'aide No. ANR-10-EQPX-16-01).

Received: 19 January 2016; Revised: 30 March 2016; Accepted: 1 April 2016

doi: 10.1002/ece3.2194

Introduction

Determining species boundaries in a set of closely related species is essential for biodiversity and evolutionary

Abstract

The pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa*) is an important pest of coniferous forests at the southern edge of its range in Maghreb. Based on mitochondrial markers, a strong genetic differentiation was previously found in this species between western (*pityocampa* clade) and eastern Maghreb populations (ENA clade), with the contact zone between the clades located in Algeria. We focused on the moth range in Algeria, using both mitochondrial (a 648 bp fragment of the tRNA-cox2) and nuclear (11 microsatellite loci) markers. A further analysis using a shorter mtDNA fragment and the same microsatellite loci was carried out on a transect in the contact zone between the mitochondrial clades. Mitochondrial diversity showed a strong geographical structure and a well-defined contact zone between the two clades. In particular, in the *pityocampa* clade, two inner subclades were found whereas ENA did not show any further structure. Microsatellite analysis outlined a different pattern of differentiation, with two main groups not overlapping with the mitochondrial clades. The inconsistency between mitochondrial and nuclear markers is probably explained by sex-biased dispersal and recent afforestation efforts that have bridged isolated populations.

studies as well as for pest management and other areas of applied biology. This task is often complicated by the presence of cryptic species, morphologically not distinguishable (Bickford et al. 2007) although differing in

biologically important traits such as host specificity, phenology, and susceptibility to natural enemies (Hebert et al. 2004; Garros et al. 2006; de Leon and Nadler 2010). Molecular phylogenetic evidence can provide useful information to sort out new taxa among cryptic species (Brower 1996; Pons et al. 2006). The use of maternally inherited mitochondrial genes is useful in this concern although it may prevent a correct classification due to potential introgression, hybridization, and incomplete lineage sorting (Valentini et al. 2009). Thus, empirical evidence of species delimitation should come from concordant genetic partitions across multiple and independent molecular markers.

The winter pine processionary moth is one of the main forest pests in the Mediterranean countries, with larvae feeding across the winter, and adults spreading and reproducing in the summer, after a pupation period in the soil lasting from spring to summer, or for one or more years of prolonged diapause (Battisti et al. 2015; Fig. 1). Larvae are gregarious and develop in a typical silk tent, with a defense system based on urticating setae, which are also harmful to humans and domestic animals (Battisti et al. 2011). The winter pine processionary moth is a complex of two closely related and morphologically very similar species, *Thaumetopoea pityocampa* (Denis and Schiffermüller), and *Thaumetopoea wilkinsoni* (Tams), with *T. pityocampa* found in southern Europe and northern Africa, and *T. wilkinsoni* in the Near East. They diverged at the end of the Miocene (7.5 Mya; Kerdelhué et al. 2009). Both species show a strong phylogeographic

structure (Salvato et al. 2002; Simonato et al. 2007), which seems to be linked to the limited dispersal of female moths (Battisti et al. 2015) and to past climatic events (Kerdelhué et al. 2015).

A further and unexpected genetic structure was found inside *T. pityocampa*, where two very distinct mitochondrial clades were identified, almost as old as the *T. pityocampa/T. wilkinsoni* subdivision (6.7 Mya) (Kerdelhué et al. 2009). The “*pityocampa* clade” sensu stricto was found to occur in Europe and western Maghreb (Morocco and south-western Algeria) whereas the eastern Maghreb populations (“ENA clade”) were limited to eastern North Africa (eastern Algeria, Tunisia, and Libya) (Kerdelhué et al. 2009). The likely geographical limit between the two mitochondrial clades was identified in Algeria (Kerdelhué et al. 2009), but the possible existence of a contact zone was not addressed. Moreover, the nuclear differentiation among moth populations in this region was not considered.

To fill this gap, we conducted a large survey of pine processionary moth populations in Algeria using mitochondrial and nuclear DNA markers. The sampling scheme included the most common native hosts, such as the ubiquitous Aleppo pine (*Pinus halepensis*), the maritime pine (*Pinus pinaster*) localized along the north-eastern coast, and the Atlas cedar (*Cedrus atlantica*) fragmented on mountain tops across the country. The major aims were: (1) to identify the potential contact zone between the two mitochondrial clades, and the underlying genetic structure; (2) to understand if the



Figure 1. Pictorial sketch of the life history of the pine processionary moth *Thaumetopoea pityocampa*. The moths lay their eggs in a batch on the needles during the summer and the larvae spin a silky tent where they spend a long period across the winter. They rest inside during the day and forage during the night. In spring, they leave the tent and form long processions to the ground, where they pupate inside a cocoon about 10 cm deep. The moths emerge from the soil during summer (drawing of Paolo Paolucci).

ENA clade can be supported as an independent taxon, as hypothesized by Simonato et al. (2013), using both mitochondrial and nuclear markers that in previous works provided mostly congruent results (Santos et al. 2007; Simonato et al. 2007; Kerdelhué et al. 2015); and (3) to explore the main drivers of the genetic structure in this area, testing the role of host plant and possible influences of both past climate and recent anthropogenic changes.

Materials and Methods

Insect sampling

A total of 273 individuals of pine processionary moth, collected from July 2012 to August 2013 from 25 forest sites throughout Algeria, were used in this study (Table 1). Two rounds of samplings were performed, a macro-scale sampling to cover all the range in Algeria, followed by a fine-scale sampling focusing on the identified mitochondrial contact zone between the mitochondrial clades. In the macro-scale sampling (Fig. 2), egg-batches were collected at 16 locations (Table 1), covering three forest types where the pine processionary moth

occurs, namely the low to medium elevation stands of Aleppo pine (*P. halepensis*; 11 sites), the high elevation stands of Atlas cedar (*C. atlantica*; four sites), and the coastal stands of maritime pine (*P. pinaster*; one site). Sites were chosen based on accessibility and no major areas where potential host-plant species grow were excluded from the sampling (see distribution maps of the host plants and location of the sampling sites in Fig. 2). Special attention was paid to the area of the so-called Barrage Vert, a belt of afforestation facing the Sahara desert established since 1968 to slow down the desertification process and to improve the local economy (Sahraoui 1995). Aleppo pine was the most frequent tree species used in the 120,000 ha of plantations, which may bridge the mountain forests in north-eastern Algeria to the Saharian Atlas in the south, where moth has considerably increased in density (Zamoum and Démolin 2004; Zamoum et al. 2005). In order to reduce the risk of collecting siblings, each egg-batch was collected from a different tree. Eggs were maintained at room temperature until hatching, after which ten first-instar larvae were transferred to ethanol 70%. One larva per egg batch was further used in genetic analyses. Once the contact zone

Table 1. Sampling localities, ordered west to east, with the indication of the host-plant species (*Ca*, *Cedrus atlantica*; *Ph*, *Pinus halepensis*; *Pp*, *Pinus pinaster*). Macro-scale sampling localities are reported with codes in uppercase, whereas fine-scale sampling localities are reported in lower case.

Locality	Code	Geographical coordinates				Host plant
		Region (cardinal position)	Latitude	Longitude	Elevation (m)	
Tlémcen	TL	(SW)	34°36'48.96"N	1°01'50.56"W	1141	<i>Ph</i>
Mostaganem	MOS	(NW)	36°10'42.58"N	0°24'51.94"E	110	<i>Ph</i>
El bayedh	EB	(SW)	33°35'04.15"N	0°55'48.42"E	1385	<i>Ph</i>
Theniet El Had	TE	(NW)	35°51'19.64"N	2°00'07.33"E	1465	<i>Ca</i>
Oued El Belaa	OB	(SW)	36°36'56.82"N	2°14'24.72"E	59	<i>Ph</i>
Merad	<i>md</i>	(NW)	36°26'13.32"N	2°26'20.54"E	285	<i>Ph</i>
Es-sahel	<i>es</i>	(NW)	36°27'19.78"N	2°30'05.26"E	327	<i>Ph</i>
Boumedfaa	<i>bm</i>	(NW)	36°23'28.88"N	2°31'14.79"E	209	<i>Ph</i>
Oued Djer	OD	(NW)	36°25'28.03"N	2°33'21.03"E	705	<i>Ph</i>
El Hachem	<i>elh</i>	(NW)	36°25'04.39"N	2°34'30.46"E	328	<i>Ph</i>
Ennhaoua	<i>en</i>	(NW)	36°23'49.99"N	2°38'02.34"E	262	<i>Ph</i>
Errayhane	<i>er</i>	(NW)	36°24'06.55"N	2°41'29.87"E	609	<i>Ph</i>
Sidi Madani	<i>sm</i>	(NW)	36°25'25.00"N	2°45'08.20"E	217	<i>Ph</i>
El Hamdania	<i>em</i>	(NW)	36°19'34.53"N	2°45'57.61"E	417	<i>Ph</i>
Bouarfa	<i>bf</i>	(NW)	36°27'04.42"N	2°49'30.43"E	605	<i>Ph</i>
Chr�a	CR	(NW)	36°26'04.15"N	2°53'20.29"E	1453	<i>Ca</i>
Senalba	SE	(SW)	34°38'16.72"N	3°08'03.67"E	1306	<i>Ph</i>
Moudjbara	MO	(SW)	34°30'38.07"N	3°28'53.41"E	1055	<i>Ph</i>
Tikjda	TK	(NE)	36°26'58.54"N	4°07'27.64"E	1500	<i>Ca</i>
Setif Ain Messaoud	SAM	(NE)	36°12'10.97"N	5°16'03.04"E	1034	<i>Ph</i>
Setif Ain Kebira	SAE	(NE)	36°21'56.13"N	5°29'37.07"E	804	<i>Ph</i>
El Hassi	EH	(NE)	36°08'13.91"N	5°48'06.47"E	963	<i>Ph</i>
Batna	BP	(SE)	35°34'02.48"N	6°12'35.73"E	1203	<i>Ph</i>
Ch�lia	CL	(SE)	35°18'08.48"N	6°37'04.17"E	1933	<i>Ca</i>
El Kala	KA	(NE)	36°52'29.23"N	8°10'52.62"E	200	<i>Pp</i>

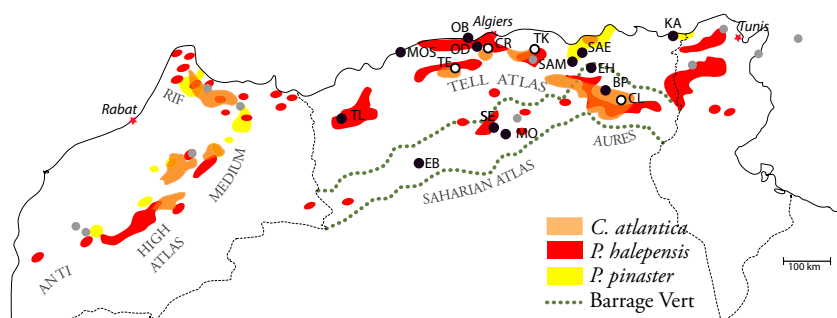


Figure 2. Map of north-west Africa showing native distribution of pine (*Pinus halepensis* and *Pinus pinaster*) and Atlas cedar (*Cedrus atlantica*) with the indication of the macro-scale sampling sites, country capital cities (red stars), and mountain chains (small capital letters). Host tree distribution is shown with colored spots: *P. halepensis* (red), *P. pinaster* (yellow), and *Cedrus atlantica* (orange). Host tree distributions were taken from Desmestrau et al. (1976), Vidakovic (1991) and Quezel (2000). Black circles indicating collection sites are filled on the basis of the host plant: black (*Pinus*) and white (*Cedrus*). In gray, the collection sites from Kerdelhué et al. (2009). The green dotted lines in southern Algeria indicate the approximate limit of the large afforestation project called “Barrage vert”, started in 1968 to stop desertification in the area. Aleppo pine was the most frequently tree species used in the project (Sahraoui 1995; Roques et al. 2015).

between mitochondrial clades was identified (see Results), a fine-scale sampling was carried out to collect larvae from nine sites between OD and CR populations, all in stands of *P. halepensis*. Each larva was taken from a different tent, and each tent chosen from a different tree. Larvae were directly sampled in the field and immediately transferred to ethanol 70%. All ethanol-preserved material was stored at -20°C . Information about sampling sites is given in Table 1.

Genetic analysis

DNA was extracted using a salting-out procedure (Patway et al. 1994). The number of individuals used for mitochondrial and microsatellite analyses is given in Table 2.

For the macro-scale sampling, a mitochondrial fragment of ca. 650 bp, corresponding to the contiguous genes tRNA-Leu and Cytochrome Oxidase II (*cox2*), was amplified using the universal primers C1J2183 and TKN3772 (Simon et al. 2006). Polymerase chain reactions (PCR) were performed in final volumes of 20 μL containing 4 μL of $10 \times$ PCR buffer (Promega, Madison, WI), 2 μL of 25 nmol/L MgCl_2 (Promega), 1 μL of 2 mmol/L dNTPs (Promega), 0.5 U of Taq DNA polymerase (Promega), 1.0 μL of each primer (10 $\mu\text{mol/L}$), and 2 μL of template DNA. Cycling conditions started with an initial step of 96°C for 5 min followed by 35 cycles of 96°C for 1 min, 55°C for 1 min, 72°C for 1 min, and a final extension of 72°C for 5 min. PCR products were then sequenced with the primer TKN3772 at the BMR Genomics sequencing service (Padova, Italy). The sequences were aligned using MEGA version 6 (Tamura et al. 2013), and the final alignment was 648 bp long.

For the fine-scale sampling, a clade-specific PCR was developed and used in order to selectively amplify haplotypes belonging to one of the two mitochondrial clades found, that is the *pityocampa* or the ENA clade (Kerdelhué et al. 2009; and see Results). The primer C1J2183 was used together with alternatively one of the two clade-specific primers designed using Primer3 (<http://primer3.ut.ee/>), namely *hz-tp* ($5'$ -GAACATTGTCCATAGAAAG- $3'$) and *hz-te* ($5'$ -GGCTATTTAGTTCATCCAG- $3'$), amplifying only the haplotypes belonging to either the *pityocampa* or the ENA clade, respectively (Figure S1).

The designed primer pairs amplified fragments of 1467 and 1155 bp for the *pityocampa* and ENA clade, respectively, encompassing a part of the Cytochrome Oxidase I (*cox1*) gene, the tRNA-Leu and *cox2*. Each sample was amplified with both primer combinations. PCR conditions were the same as above except for the extension step, performed at 72°C for 1 min and 30 sec. PCR products were separated by gel electrophoresis using 1% agarose gel and visualized with SYBR Safe (Invitrogen, Carlsbad, CA). A subset of doubtful samples (12 individuals belonging to populations *md*, *bm*, *elh*, *en*, *er*, *sm*, and *em*) was sequenced in order to confirm the identity of the PCR bands, as amplifications were successful using both the *pityocampa* and the ENA-specific primers.

For the microsatellite analysis, eleven loci were used to genotype the samples, namely Thpit7 – Thpit13 and Thpit15 – Thpit18, as described by Burban et al. (2012). Fluorescent PCR products were run and detected on an ABI 3730 automatic sequencer, and allele-calling was performed using the Genemapper v4.0 software (Applied Biosystems, Foster City, CA). Two negative controls were used on each run to ensure that no contamination occurred. Genotyping was performed at the Genotyping and Sequencing facility of Bordeaux.

Table 2. Indices of genetic diversity in the populations analyzed for the mitochondrial and microsatellite datasets in the macro-scale and fine-scale (only microsatellite) sampling.

Macro-scale		mtDNA		Microsatellite					
Pop	<i>N</i>	Hd	π	<i>N</i>	Ae	Ra	He	Ho	%NA
TL	9	0.417 ± 0.191	0.0010 ± 0.0010	9	4.0	4.3	0.683	0.608	8.50
MOS	10	0.000 ± 0.000	0.0000 ± 0.0000	8	2.8	3.4	0.535	0.438	9.38
EB	8	0.464 ± 0.200	0.0008 ± 0.0008	10	3.8	4.2	0.661	0.650	6.27
TE	8	0.429 ± 0.169	0.0007 ± 0.0008	8	3.0	3.7	0.596	0.625	1.16
OB	10	0.200 ± 0.154	0.0003 ± 0.0005	10	2.9	3.7	0.643	0.620	3.95
OD	10	0.511 ± 0.164	0.0233 ± 0.0129	10	3.1	3.8	0.640	0.640	4.21
CR	9	0.583 ± 0.183	0.0010 ± 0.0010	9	2.9	3.6	0.571	0.510	4.29
SE	10	0.533 ± 0.180	0.0017 ± 0.0014	10	4.4	4.2	0.598	0.610	1.71
MO	6	0.533 ± 0.172	0.0008 ± 0.0009	10	3.1	3.7	0.594	0.550	7.19
TK	7	0.286 ± 0.196	0.0004 ± 0.0006	8	2.4	3.3	0.541	0.541	3.84
SAM	9	0.000 ± 0.000	0.0000 ± 0.0000	10	2.8	3.3	0.556	0.490	7.31
SAE	10	0.000 ± 0.000	0.0000 ± 0.0000	9	3.0	3.5	0.612	0.622	5.38
EH	10	0.000 ± 0.000	0.0000 ± 0.0000	9	3.5	3.9	0.631	0.600	6.25
BP	8	0.000 ± 0.000	0.0000 ± 0.0000	7	2.6	3.3	0.540	0.443	7.05
CL	8	0.464 ± 0.200	0.0008 ± 0.0008	9	3.1	3.8	0.605	0.607	1.41
KA	8	0.000 ± 0.000	0.0000 ± 0.0000	5	3.2	3.8	0.624	0.640	5.89

Fine-scale		Microsatellite					
Pop	<i>N</i>	Ae	Ra	He	Ho	%NA	
<i>md</i>	15	3.5	4.0	0.652	0.616	5.98	
<i>es</i>	14	3.2	3.9	0.640	0.686	1.20	
<i>bm</i>	13	3.3	3.9	0.659	0.687	3.47	
<i>elh</i>	15	3.1	3.8	0.640	0.640	4.21	
<i>en</i>	15	3.8	4.1	0.641	0.618	3.85	
<i>er</i>	15	3.4	3.8	0.630	0.640	0.89	
<i>sm</i>	15	3.9	4.1	0.659	0.680	3.09	
<i>bf</i>	15	3.6	4.0	0.599	0.593	2.06	
<i>em</i>	15	4.2	4.1	0.647	0.593	6.47	

N, number of individuals; Hd, haplotype diversity; π , nucleotide diversity; He, expected heterozygosity; Ho, observed heterozygosity; Ra, average of rarefaction-allelic richness; Ae, effective number of alleles per locus; %NA, percentage of null alleles.

Data analysis

mtDNA

Haplotype and nucleotide diversity in each population of the macro-scale sampling was estimated by Arlequin version 3.5 (Excoffier and Lischer 2010). A haplotype parsimony network was reconstructed with all the haplotypes found using TCS 1.21 (Clement et al. 2000) as described by Templeton et al. (1992), with a probability cut-off set at 95%. A phylogenetic tree was then built using a maximum likelihood (ML) method and the most general model of sequence evolution (GTR + I + G) using PhyML 3.0 software (Guindon et al. 2010) with neighbor-joining starting trees and 100 bootstrap replicates. Three sequences, representing the *pityocampa* clade (origin: Moggio, Italy), the ENA clade (Bizerte, Tunisia) and the sister species *T. wilkinsoni*, were retrieved from GenBank (accession numbers HE963112, HE963113 and

HE963116, Simonato et al. 2013) and used as references and outgroups.

The haplotypes found in this study were also compared with haplotypes found in the Iberian peninsula, Algeria, Morocco, Tunisia, and Libya obtained in a previous study (Kerdelhué et al. 2009) for part of the *cox2* gene. A shorter region of 341 bp, corresponding to the overlapping fragment between these previous haplotypes and haplotypes from this present study, was then considered. This reduced data set and the *cox2* haplotypes retrieved from Kerdelhué et al. (2009) were then used to build a ML phylogenetic tree using PhyML 3.0. Given the limited length of the fragment and the correlation between proportion of invariant sites and the parameter alpha of the gamma distribution (Nylander et al. 2004), we used the GTR model without considering the invariant + gamma parameters.

To assess the genetic structure of haplotypes among populations, a spatial analysis of molecular variance

(SAMOVA 2.0, Dupanloup et al. 2002) was carried out on the whole dataset in order to identify groups of geographically homogeneous populations showing the highest differentiation among them. The F_{CT} coefficients corresponding to the proportion of total genetic variance due to differentiation between groups of populations were estimated for all values of K between 2 and 10 using a Kimura-2 parameters model. The highest value of F_{CT} was then used to determine the best number of groups (Dupanloup et al. 2002). Within these groups, we tested past changes in demography through the Tajima's D and the Fu's F_s tests (Tajima 1989; Fu and Li 1993). Mismatch distributions of the pairwise genetic differences (Rogers and Harpending 1992) were assessed testing a sudden expansion model through the sum of squared deviations between the observed and expected mismatch distributions obtained with a parametric bootstrap approach (1000 replicates). Both the neutrality tests and mismatch distribution analysis were calculated using Arlequin 3.5 (Excoffier and Lischer 2010).

Microsatellites

The ML of null alleles percentage (%NA) was estimated according to the EM algorithm (Dempster et al. 1977) using FreeNA (Chapuis and Estoup 2007). The expected (H_e) and the observed (H_o) heterozygosities, allelic richness (R_a , with a rarefaction at $n = 5$) and the effective number of alleles (A_e) for each population were calculated using Genetix 4.05.2 (Belkhir et al. 2004). Departure for Hardy–Weinberg equilibrium was not assessed given the low sampling size in almost all the populations. Pairwise F_{st} with ENA correction for the presence of null alleles was obtained using FreeNA (Chapuis and Estoup 2007), with a significance estimated by 1000 bootstrap replicates.

We assigned individuals to clusters based on their multilocus genotypes using a Bayesian inference method implemented in Structure 2.3.3 (Pritchard et al. 2000). The optimal number of clusters (K) represented by the data was determined with the Delta K method described in Evanno et al. (2005), implemented in Structure Harvester (Earl and vonHoldt 2012). As this method detects only the uppermost level of genetic structure (Evanno et al. 2005), the underlying layers of the genetic structure were detected using a hierarchical approach (Coulon et al. 2008). The admixture model with correlated allele frequencies and the locprior option was run for 20 replicates for each K , to check for Markov Chain Monte Carlo (MCMC) convergence, testing genetic groups from $K = 1$ to 10 for each level of the analysis. Each run consisted of a burn-in period of 20,000 MCMC steps followed by 80,000 iterations. The method was repeated until each cluster could not be divided further. For this reason, the

posterior probability of the data [$\ln P(D)$] for each value of K was checked to determine if the $\ln P(D)$ value was maximum for $K = 1$. As in Coulon et al. (2008), individuals with maximum inferred ancestry < 0.6 were not assigned to any group and considered as exhibiting admixed assignment. Graphs with the best $\ln P(D)$ for a given K were chosen and displayed using DISTRUCT 1.1 (Rosenberg 2004).

Finally, we carried out an analysis of the molecular variance (AMOVA, Excoffier et al. 1992) on the microsatellite dataset considering only the macro-scale sampling in order to assess the percentage of variance explained by the mitochondrial clades (considering both the *pityocampa* and ENA clades and the SAMOVA population assignments), and by the host plant (grouping populations collected on cedar or pine). AMOVA was performed with Arlequin using F_{st} as genetic distances with 10,000 permutations per run.

Results

mtDNA

A total of 24 haplotypes was obtained from the alignment of the 648-bp-long fragment sequenced for 140 individuals. Several populations showed low values of gene diversity (H_d) mainly in the east part of Algeria, whereas the highest values were found in populations both in the northern part (OD and CR) and in the south-western part of Algeria (SE and MO) (Table 2). The highest values of nucleotide diversity (π) were found in the northern population of OD ($\pi = 0.0233$) and in the south-western population of SE ($\pi = 0.0017$). In the south-eastern region of the country, population CL was the only one showing a π value different from zero (Table 2).

The haplotype network (Fig. 3A) and phylogenetic tree (Figure S2) showed that the haplotypes found were related to both clades found in Kerdelhué et al. (2009), with 14 haplotypes belonging to the *pityocampa* clade (P1–P14) and 10 haplotypes (E1–E10) belonging to the ENA clade. The two clades showed a disjoint geographical distribution, with the *pityocampa* haplotypes found in the western part of the country, whereas the ENA haplotypes were found only in the east (Fig. 3B). A very localized contact zone between the two clades was identified in the north around population OD in the Tell Atlas, the only site showing mitochondrial haplotypes from both clades. All the other populations exclusively contained haplotypes belonging either to the *pityocampa* or the ENA clade.

Using the complete alignment of the 24 Algerian haplotypes, the network showed that the *pityocampa* clade was divided into two main sub-clades. The first one grouped most of the haplotypes found in the north-western part

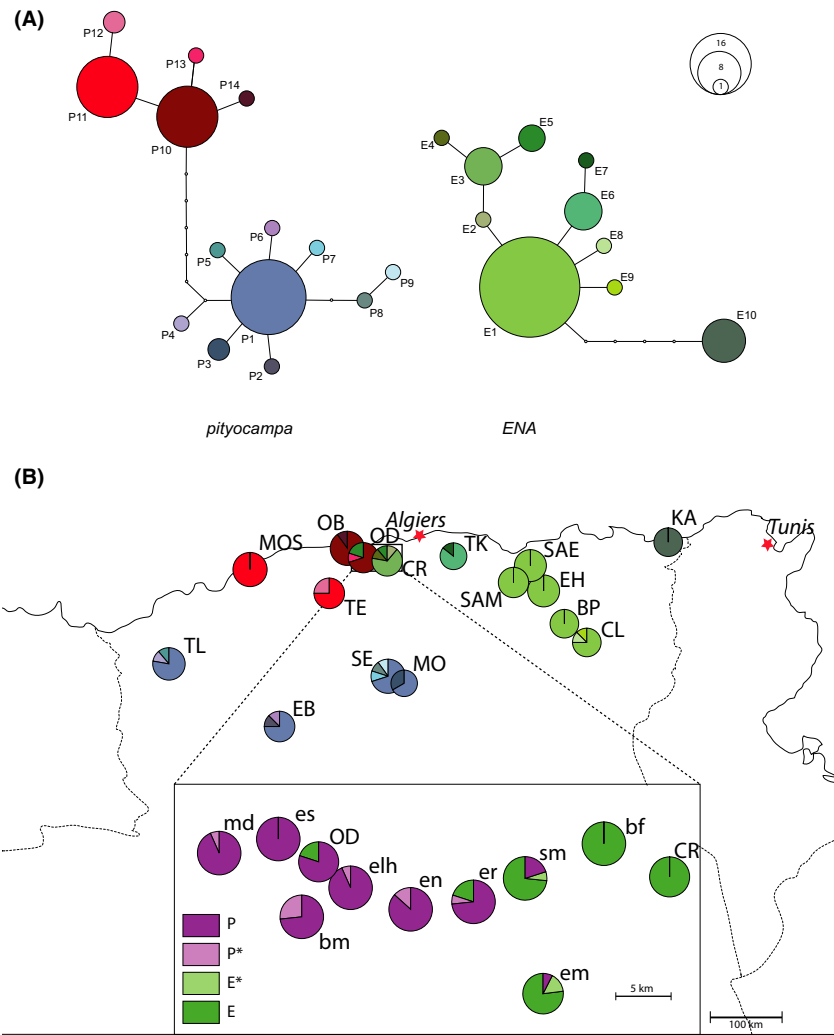


Figure 3. (A) TCS network showing phylogenetic relationships among haplotypes of the tRNA-Leu-cox2 fragment 648 bp long. P: *pityocampa* clade, E: ENA clade. (B) Geographic distribution of haplotypes of *pityocampa* and ENA clades, with the populations from the contact zone reported in the inset. Population codes are given in Table 1. P*: individuals positive for both *pityocampa*- and ENA-specific PCR that resulted to belong to *pityocampa* clade after sequencing; E*: individuals positive for both *pityocampa*- and ENA-specific PCR that resulted to belong to ENA clade after sequencing.

of Algeria (OB, OD, MOS and TE). It contained two main haplotypes (P10 and P11) and three rare ones diverging from the two main haplotypes by just one mutational step. The other sub-clade corresponded to the south-western populations TL, EB, SE, and MO. It showed a star-shaped structure, with one frequent haplotype (P1) and 8 low-frequency haplotypes differing by a few (1–3) mutational steps. The two *pityocampa* sub-clades were separated by seven mutational steps and were found in different regions (i.e., no site contained individuals from both sub-clades) (Fig. 3). The ENA clade also showed a mostly star-shaped structure, with one major haplotype (E1) and nine rare ones shared by 1–8 individuals. Interestingly, one of these haplotypes (E10) was differentiated from the other ENA haplotypes by five mutation steps and found in all individuals sampled in the easternmost site KA. Finally, in both the *pityocampa* and ENA clades the low-frequency haplotypes were mainly population’ specific haplotypes (Fig. 3B).

After reducing the sequence data to the 341 bp also used in Kerdelhué et al. (2009), the phylogenetic tree showed that the *pityocampa* haplotypes found in North Algeria were distinct but closely related to the haplotypes previously found in North Morocco, while most haplotypes found in southern Algeria in this present study were similar to haplotypes previously found in the southern part of Morocco (Fig. 4). Interestingly, haplotypes P8 and P9 were related to this clade but separated by two mutation steps. For the ENA clade, the haplotypes found are not clustered in well-supported sub-clades. Almost all the haplotypes are closely related to haplotypes previously found in North Algeria, with the exception of E10, the haplotype found in KA, that is linked to three of the four Tunisian cox2 haplotypes found in Kerdelhué et al. (2009).

The SAMOVA algorithm (Dupanloup et al. 2002) was used to determine the number of geographically homogeneous groups maximally differentiated from each other

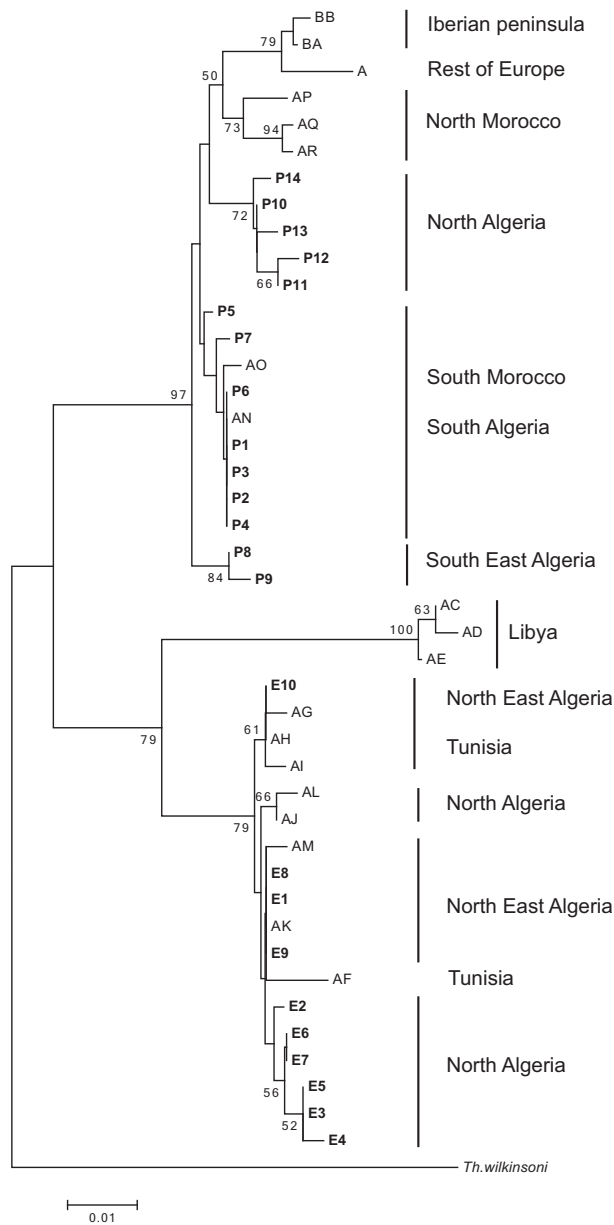


Figure 4. Maximum likelihood consensus tree of the fragment of 341 bp matching the *cox2* haplotypes from Algeria (present study, reported in bold) with those from N Africa, Iberian Peninsula and rest of Europe found in Kerdelhué et al. (2009). *Thaumetopoea wilkinsoni* from the Middle East has been taken as an outgroup from the same paper.

inside the whole mtDNA dataset. The number of groups producing the maximum values of F_{CT} , that is the proportion of total genetic variance due to differentiation between groups of populations, was eight ($K = 8$) and retained as the best option to group populations (Table S1). For each of these homogeneous groups, Tajima's D and Fu's F_s were estimated and tested in order to check for past demographic events (Table 3). Both tests

Table 3. Results of the neutrality tests (Tajima's D , Fu's F_s) and mismatch distribution analysis applied on the SAMOVA population groups obtained for $K = 8$.

Clade	SAMOVA groups	D	F_s	SSD
<i>pityocampa</i>	MOS-TE	-0.53	-0.01	0.32077
	EB-MO-SE-TL	-2.06**	-6.48**	0.00044
ENA	OB	-1.11	-0.34	0.33101
	CR	-1.51	-1.89*	0.02385
	TK	-1.00	-0.09	0.24889
	SAM-SAE-EH-BP-CL	-1.48*	-2.89**	0.00007
	KA	0.00	-	0.00000**

SSD, sum of squared deviations

¹OD excluded due to the mixed origin of individuals

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

were significantly negative for the EB-MO-SE-TL group in the *pityocampa* clade and for the CR and the SAM-SAE-EH-BP-CL groups in the ENA clade. Mismatch analyses were consistent with the sudden expansion model for all the SAMOVA groups except for OD and KA (Table 3).

Based on clade specific primers amplifying a fragment of *cox1*-tRNA^{Leu}-*cox2* genes, individuals along the 40 km transect between OD and CR were assigned either to the *pityocampa* or the ENA clade. The 12 individuals amplified by both clade-specific primers were clearly assigned to a single clade after sequencing. PCR results showed that western populations (*md*, *es*, *bm*, *elh*, *en*) belonged to the *pityocampa* clade, central populations (*er*, *sm*, *em*) were composed of individuals belonging to both clades, while the easternmost population (*bf*) belonged to the ENA clade.

Microsatellites

Standard diversity indices and heterozygosity

Two loci (Thapit09 and Thapit17) showed a high frequency of null alleles in all the populations analyzed (Table S2) and they were therefore excluded from the subsequent analyses. The other nine loci showed a percentage of null alleles across populations between 0.68% and 5.65%.

The average number of alleles per locus was found to be quite similar among sites, ranging between 3.3 and 4.2 (Table 2). Pairwise F_{st} obtained with the ENA correction for the presence of null alleles (Chapuis and Estoup 2007), reported in Table 4, showed significant levels of differentiation mainly between north-western populations (MOS, TE, OB, OD, CR, and TK) and eastern populations (SAM, SAE, EH, BP, CL, and KA) with F_{st} values ranging from 0.137 to 0.231, and between population KA and all the other sites (F_{st} values between 0.127 and 0.202).

Table 4. Pairwise F_{st} matrix obtained using nine microsatellite loci after applying the ENA correction for null alleles using FREENA; (a) macro-scale sampling population matrix; (b) fine-scale sampling population matrix.

	TL	MOS	EB	TE	OB	OD	CR	SE	MO	TK	SAM	SAE	EH	BP	CL
a)															
MOS	0.121														
EB	0.027	0.177													
TE	0.107	0.057	0.156												
OB	0.079	0.076	0.136	0.055											
OD	0.063	0.099	0.076	0.082	0.054										
CR	0.156	0.122	0.183	0.032	0.111	0.127									
SE	0.065	0.123	0.028	0.144	0.124	0.065	0.179								
MO	0.050	0.136	0.045	0.153	0.129	0.080	0.199	0.002							
TK	0.150	0.088	0.193	0.060	0.133	0.135	0.050	0.176	0.192						
SAM	0.137	0.172	0.098	0.188	0.195	0.171	0.231	0.070	0.089	0.186					
SAE	0.123	0.173	0.110	0.188	0.171	0.173	0.208	0.100	0.110	0.153	0.023				
EH	0.106	0.164	0.068	0.178	0.176	0.139	0.193	0.047	0.058	0.157	0.022	0.026			
BP	0.108	0.173	0.083	0.187	0.167	0.137	0.213	0.055	0.052	0.186	0.024	0.055	0.015		
CL	0.099	0.161	0.094	0.168	0.160	0.149	0.197	0.072	0.057	0.173	0.035	0.034	0.028	−0.021	
KA	0.162	0.179	0.163	0.186	0.202	0.167	0.175	0.140	0.178	0.159	0.182	0.161	0.127	0.159	0.152
		<i>md</i>	<i>es</i>	<i>bm</i>	<i>elh</i>	<i>en</i>	<i>er</i>	<i>sm</i>	<i>em</i>						
b)															
<i>es</i>		−0.008													
<i>bm</i>		−0.003	0.004												
<i>elh</i>		0.009	−0.003	0.001											
<i>en</i>		0.019	0.007	0.012	0.015										
<i>er</i>		0.018	0.022	0.009	0.020	0.030									
<i>sm</i>		−0.003	−0.002	0.002	0.002	0.005	−0.001								
<i>em</i>		0.032	0.036	0.023	0.029	0.024	0.005					0.007			
<i>bf</i>		0.020	0.031	0.019	0.037	0.030	0.012	0.005				0.005			0.020

Estimates for which the 95% confidence intervals after 1000 bootstraps did not include zero are reported in bold.

Population genetic structure

The genetic structure among the sampled populations was assessed with the Bayesian clustering analysis implemented in Structure. Results were consistent among the 20 runs of each selected K . Four distinct groups distributed across two hierarchical scales were identified. At the uppermost level of population structure, individuals were assigned to two main groups (Fig. 5A). One group contained all individuals collected in the north-western part of Algeria (belonging to populations MOS, TE, OB, OD, CR, TK, and to populations collected along the transect) with individuals from population TK showing a low admixture level (<40%) with the second group. The second group clusters all individuals from the eastern part of Algeria (populations SAM, SAE, EH, BP, CL, KA) together with all individuals from the southern part of Algeria (populations EB, SE, MO), which are partially admixed with the first group. Almost all individuals (except one, assigned to the second group) from TL population showed a mixed assignment (none of them had a q -value over 60% for a group). Population TL was thus not

included in the following step. The second and final round of the hierarchical analysis divided each group into two further sub-groups. Individuals belonging to the north-western group were split between a sub-group including populations OB, OD, and all the transect populations, and another sub-group including populations TE, CR, TK, and MOS (Fig. 5B). Individuals from populations *em* and *bf* in the contact zone and, to a lesser extent, individuals from population MOS exhibited a mixed assignment between the two sub-groups. The second group was split between a sub-group comprising the populations from the south (EB, SE, MO) and the population KA from the easternmost part of Algeria, and another sub-group comprising individuals from populations SAM, SAE, EH, BP, and CL, with individuals from BP and CL showing a mixed assignment with the first sub-group (Fig. 5C).

The AMOVA analysis showed a low but still significant percentage of variance (2.97% $P < 0.05$) explained by the main mitochondrial clades (*pityocampa* and ENA) that significantly increased when considering the clustering based on the SAMOVA population assignment (10.82%,

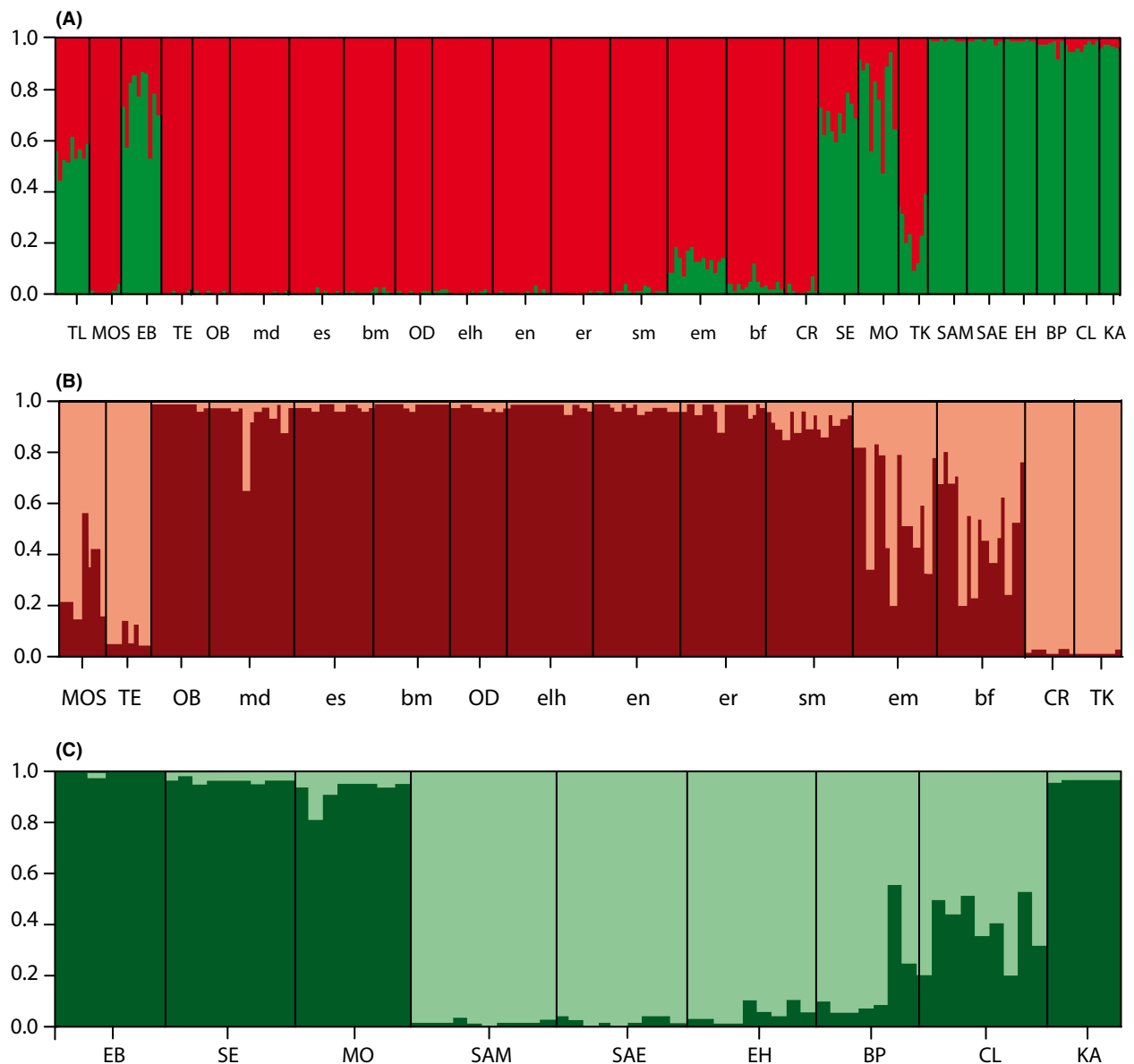


Figure 5. Bar plot indicating the probability of microsatellite assignment based on the Structure analysis grouped by population. (A) Whole dataset for $K = 2$. (B) Populations from north-western Algeria for $K = 2$. (C) Populations from southern and eastern Algeria for $K = 2$.

$P < 0.001$). When considering groupings based on host plant the percentage of variance explained was again low although significant (3.5%, $P < 0.05$) (Table 5).

Discussion

We here extended the population genetic analysis of the pine processionary moth in Algeria, previously outlined in a broader phylogeographic study covering the whole range (Kerdelhué *et al.* 2009) that considered only two remote sites in this area. Moreover, we considered both

mitochondrial and microsatellite markers for several populations collected in almost all the species range in the country. Phylogenetic analyses better outlined the contact zone between the two main mitochondrial clades identified in this species, the *pityocampa* and the ENA clade, showing a distinct geographical distribution with a narrow overlapping area. Interestingly, the genetic pattern found with microsatellite markers does not fully mirror the mitochondrial differentiation, raising questions about the taxonomical status of the two clades.

Table 5. Results of AMOVA tests on the microsatellite dataset divided according to the SAMOVA mitochondrial groups for $K = 2$ and $K = 8$ and host plant (pine and cedar).

	Variance components	Percentage of variation
Whole dataset		
Among pops	0.391 Va	12.21***
Within pops	2.812 Vb	87.79***
mtDNA: SAMOVA groups for $K = 2$ (<i>pityocampa</i> /ENA clades)		
Among groups	0.097 Va	2.97*
Among pops within groups	0.345 Vb	10.61***
Within pops	2.813 Vc	86.43***
mtDNA: SAMOVA groups for $K = 8$		
Among groups	0.352 Va	10.82***
Among pops within groups	0.092 Vb	2.82***
Within pops	2.812 Vc	86.36***
Host plant: Cedar(CR,TE,TK,CL)/Pine(TL,MOS,EB,OB,OD,SE,MO,SAM,SAE,EH,BP,KA)		
Among groups	0.115 Va	3.50*
Among pops within groups	0.346 Vb	10.58***
Within pops	2.812 Vc	85.92***

* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$

mtDNA

The allopatric distribution of the two mitochondrial clades is consistent with a secondary contact after a range expansion from refugial populations, probably located in the mountains of southern Morocco (High and Medium Atlas) and Algeria (Saharian Atlas) for the *pityocampa* clade, and in the Tunisian mountains for the ENA clade, as can be inferred from the phylogenetic tree that includes the haplotypes from Kerdelhué et al. (2009). The mitochondrial contact zone between the *pityocampa* and the ENA clades, ranging from Oran on the Mediterranean coast to the Saharian Atlas in the south, shows almost no overlap between the two clades, as shown by the analysis of the population along the 40 km transect where mixed populations composed by individuals belonging to both clades were limited to a quite narrow area. Interestingly, other species of low dispersing animals show a genetic differentiation between western and eastern Maghreb, dating back in a range between 0.018 and 15 million year ago, explained by several geological and climatic events (Guiller and Madec 2010). Concerning the split between the *pityocampa* and ENA clades, as moth distribution is usually conditioned by both climate and geographical barriers, a conjunction between geological events (the rise of the Tellian Atlas) and the late Tertiary climatic change has been suggested as a possible explanation (Kerdelhué et al. 2009).

Further major biogeographical events probably shaped the differentiation between the north-western and the

south-eastern sub-clades within *pityocampa* clade in Algeria (Fig. 3), leading to a further host plant range fragmentation and thus to the isolation of moth populations on mountain tops in both Saharian and Tell Atlas. Interestingly, the phylogenetic tree including all the Maghreb sites showed that the *pityocampa* haplotypes found in the south of Algeria are clustered together with those found in southern Morocco, suggesting a past connection of the populations between the Saharian and the High and Middle Atlas. Conversely, populations along the Moroccan and Algerian coast belong to two distinct and supported sub-clades, indicating a past fragmentation of the moth range.

In eastern Maghreb, haplotypes belonging to the ENA clade do not show clear and well-supported sub-clades, although eastern Algerian haplotypes seem to be more closely associated with the Tunisian ones. This pattern could be due to a more continuous host plant distribution in eastern Maghreb and to the lack of barriers affecting the genetic structure of this clade. The gap observed in the network (Fig. 3A) between the haplotype in the easternmost population KA and the other Algerian ENA haplotypes may be ascribed to missing sampling sites rather than to past gaps of the range. Yet, only a fraction of the ENA range was sampled here, and geographical limits of the sub-clades found in Kerdelhué et al. (2009) still need to be clarified.

Climatic oscillations and host plant range shifts at the end of Pleistocene could have influenced both the *pityocampa* and the ENA clade populations, given the star-shaped structure found in both clades and the negative values of the neutrality test for the southern populations, suggesting past bottlenecks followed by rapid expansions. Mountain ranges could have served as refugia during the warmer periods, as found for moderate elevation populations of western Europe (Rousselet et al. 2010), with moth populations tracking their optimal environment by movements along mountain slopes rather than south–north dispersal, as observed between Morocco and Europe through the Gibraltar strait (Kerdelhué et al. 2009). Conversely, the expansion of southern populations of both clades could be due to the recent afforestation program of Barrage Vert along the Saharian Atlas (Sahraoui 1995; Fig. 2).

Finally, host plant range fragmentation could have influenced the genetic structure, as may be suggested by SAMOVA results, although more precise data about past host plant distribution would be needed to confirm this hypothesis. The recent finding of high population densities on *C. atlantica* in the Algerian mountains (Sbabdji and Kadik 2011) is likely the results of a shift to high elevation from the lower pine forests, although it may indicate that this conifer is highly suitable to the pine

processionary moth and could have been used in the past in high-elevation refugial areas, in the same manner that mountain pines played a role in the recent history of the species in Europe (Rousselet *et al.* 2010).

Microsatellites

The microsatellite analyses, carried out with a Bayesian individual assignment, showed a pattern of genetic variability similar to that obtained with mitochondrial markers, although less pronounced. North-western (MOS, TE, OB, OD, CR, and TK and all contact zone populations) and eastern (SAM, SAE, EH, BP, CL, KA) populations seem to cluster in two genetically homogeneous groups. The subdivision between the north-western and the eastern groups contrasts with the less clear differentiation in the south-west (TL, EB, SE, MO), showing admixed assignments in the Structure analysis. The hierarchical analysis within each group showed a further genetic structure. In the north-western group, populations along the coast (OB, OD, and all the transect populations) are separated from those at higher elevations (TE, CR, TK), although MOS, along the coast, joins the latter. This pattern could suggest a prime role of elevation or host plant in population differentiation, possibly through assortative mating. The relative effect of elevation or association to cedar cannot be disentangled as both factors are tightly linked, although a low but still significant association of the genetic variance to host plant was found. A more complex pattern has been found in the eastern group that also shows a closer similarity to the south-western populations. These latter populations (EB, SE, MO) together with the easternmost population KA form a distinct cluster, differentiated from the north-eastern populations (SAM, SAE, EH, and BP). This pattern could be due to a partial connection of the host plant range between the Saharan Atlas and the eastern mountains (Aurès) in the south, possibly favored by the recent, large afforestation efforts in the Barrage Vert bridging islands of native stands (Sahraoui 1995; Fig. 2). This hypothesis could also explain the high frequency of individuals exhibiting admixed assignments in the westernmost population TL, which may be the result of a recent contact between north-western and south-western groups in an area previously genetically isolated. Nonetheless, although estimated from a sub-optimal number of individuals per population, the highest values of pairwise genetic distances among the north-western, the south-western, and the north-eastern populations ($F_{st} = 0.186$ between TK and SAM or BP, $F_{st} = 0.199$ between CR and SE, and $F_{st} = 0.231$ between CR and SAM) show that these subgroups are still well differentiated, with F_{st} values similar to those observed between geographically distant

(Kerdelhué *et al.* 2006) or phenologically different (Santos *et al.* 2007) populations in Europe. This differentiation could be due to the presence of geographical barriers, or to host fragmentation impeding migration and gene flow.

Comparison between mtDNA and microsatellites

The comparison of the main genetic groups identified with the nuclear microsatellite data and the *pityocampa*/ENA mitochondrial clades underlines the lack of a strict concordance between mitochondrial and nuclear markers. This holds true both at higher geographical scale and along the transect corresponding to the mitochondrial contact zone. A conflicting pattern between mitochondrial and nuclear markers, found also in several other animal species, is usually ascribed to causes ranging from adaptive introgression to demographic disparities and sex-biased asymmetric gene flow (Toews and Brelsford 2012). In this study, the discordance could be the result of a sex-biased dispersal, with males spreading longer distances than females as shown in other populations for both *T. pityocampa* and *T. wilkinsoni* (Salvato *et al.* 2002, 2005; Simonato *et al.* 2007), leading to a nuclear gene flow higher than the mitochondrial one. Moreover, the introgression for organelle DNA whenever associated with the least dispersing sex, is expected to be highly asymmetrical and usually goes from the local to the invading taxon (Currat *et al.* 2008; Petit and Excoffier 2009). In our case, a slight asymmetry has been detected in the northern populations CR and TK, which belong to the ENA clade when taking into account the mitochondrial DNA, whereas they are grouped with north-western populations when the nuclear markers are considered. This pattern may suggest an eastward shift of the north-western group into the eastern one. An opposite asymmetry, with individuals with a *pityocampa* mitochondrial DNA showing nuclear markers rather associated to eastern populations, has been observed in the south-western populations. This pattern contrasts with that observed in the north and may result from demographic asymmetries (i.e., different population size) (Toews and Brelsford 2012), which could have been enhanced by anthropogenic changes (the recent afforestation of Barrage Vert).

The discrepancy between the two markers is lower when comparing the nuclear genetic groups with the genetic structure found inside the mitochondrial clades, as shown by the higher percentage of nuclear genetic variance explained by the mtDNA subgroups. This suggests a possible influence of habitat fragmentation on the nuclear gene flow among moth populations in this area.

Conclusions

The comparison of the mitochondrial and nuclear markers underlines the strong geographical structure of the pine processionary moth populations at the southern edge of its range, as a result of the particular topography of the area, which has affected the past and current distribution of the host plants. The lack of a strict overlap between the two kinds of markers highlights an ongoing introgression between the *pityocampa* and the ENA clades, excluding the presence of strong genetic barriers, and thus suggesting that the two clades could not be considered as distinct taxa. Nonetheless, a thorough analysis of morphological traits of local populations would be required to further confirm the taxonomical status of these two clades. Finally, the role of the large afforestation effort in the “Barrage Vert” belt should be better explored in order to understand how much human activity might interfere with gene flow among isolated populations.

Acknowledgments

We would like to acknowledge three anonymous reviewers for valuable comments on an earlier version of the manuscript. Thanks also to Paolo Paolucci for drawing part of the figures. The work was partly supported by the University of Padova, the URTICLIM project from ANR France, and the PCLIM network (*International research network about the adaptive response of processionary moths and their associated organisms to global change*) funded by the ACCAF program of INRA, France. Genotyping was performed at the Genomic and Sequencing Facility of Bordeaux (grants from the Conseil Regional d'Aquitaine no. 20030304002FA and 20040305003FA and from the European Union, FEDER no. 2003227 and from Investissements d'avenir, Convention attributive d'aide No. ANR-10-EQPX-16-01).

Conflict of Interest

None declared.

References

- Battisti, A., G. Holm, B. Fagrell, and S. Larsson. 2011. Urticating hairs in arthropods: their nature and medical significance. *Annu. Rev. Entomol.* 56:203–220.
- Battisti, A., M. Avci, D. N. Avtzis, M. L. Ben Jamaa, L. Berardi, W. Berretima, et al. 2015. Natural history of the processionary moths (*Thaumetopoea* spp.): new insights in relation to climate change. Pp. 12–79 in A. Roques, ed. *Processionary moths and climate changes: an update*. Springer-Quae, Dordrecht-Versailles.
- Belkhir, K., P. Borsa, L. Chikhi, N. Raufaste, and F. Bonhomme. 2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France. Available at <http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/genetix.htm> (accessed April, 2014).
- Bickford, D., D. J. Lohman, N. S. Sodhi, P. K. L. Ng, R. Meier, K. Winker, et al. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecol. Evol.* 22:148–155.
- Brower, A. V. Z. 1996. A new mimetic species of *Heliconius* (Lepidoptera: Nymphalidae), from southeastern Colombia, as revealed by cladistics analysis of mitochondrial DNA sequences. *Zool. J. Linn. Soc.* 116:317–332.
- Burban, C., E. Magnoux, J. Rousselet, and C. Kerdelhué. 2012. Development and characterization of 13 new microsatellite markers in the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Notodontidae) in Molecular Ecology Resources Primer Development Consortium et al. Eds., *Permanent genetic resources added to Molecular Ecology Resources Database 1 August 2011–30 September 2011*. *Mol. Ecol. Resour.* 1:185–189.
- Chapuis, M. P., and A. Estoup. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol. Biol. Evol.* 24:621–631.
- Clement, M., D. Posada, and K. A. Crandall. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Ecol.* 9:1657–1659.
- Coulon, A., J. W. Fitzpatrick, R. Bowman, B. M. Stith, C. A. Makarewich, L. M. Stenzler, et al. 2008. Congruent population structure inferred from dispersal behaviour and intensive genetic surveys of the threatened Florida scrub-jay (*Aphelocoma caerulescens*). *Mol. Ecol.* 17:1685–1701.
- Currat, M., M. Ruedi, R. J. Petit, and L. Excoffier. 2008. The hidden side of invasions: massive introgression by local genes. *Evolution* 62:1908–1920.
- Dempster, A. P., N. M. Laird, and D. B. Rubin. 1977. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *J. R. Stat. Soc. Series B* 39:1–38.
- Desmestrau, D. X., B. Jolly, and T. Thari. 1976. Contribution à la connaissance des provenances de *Pinus pinaster*. *Ann. Rech. For. Maroc* 16:103–153.
- Dupanloup, I., S. Schneider, and L. Excoffier. 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Mol. Ecol.* 11:2571–2581.
- Earl, D. A., and B. M. vonHoldt. 2012. Structure Harvester: a website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. *Conserv. Genet. Resour.* 4:359–361.
- Evanno, G., S. Regnaut, and J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14:2611–2620.
- Excoffier, L., and H. E. Lischer. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics

- analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.* 10:564–567.
- Excoffier, L., P. E. Smouse, and J. M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131:479–491.
- Fu, Y. X., and W. H. Li. 1993. Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics* 13:693–709.
- Garros, C., W. Van Bortel, H. D. Trung, M. Coosemans, and S. Manguin. 2006. Review of the *minimus* complex of *Anopheles*, main malaria vector in Southeast Asia: from taxonomic issues to vector control strategies. *Trop. Med. Int. Health* 11:102–114.
- Guiller, A., and L. Madec. 2010. Historical biogeography of the land snail *Cornu aspersum*: a new scenario inferred from haplotype distribution in the Western Mediterranean basin. *BMC Evol. Biol.* 10:18.
- Guindon, S., J. F. Dufayard, V. Lefort, M. Anisimova, W. Hordijk, and O. Gascuel. 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst. Biol.* 59:307–321.
- Hebert, P. D. N., E. H. Penton, J. M. Burns, D. H. Janzen, and W. Hallwachs. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the Neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 101:14812–14817.
- Kerdelhué, C., E. Magnoux, F. Lieutier, A. Roques, and J. Rousselet. 2006. Comparative population genetic study of two oligophagous insects associated with the same hosts. *Heredity* 97:38–45.
- Kerdelhué, C., L. Zane, M. Simonato, P. Salvato, J. Rousselet, A. Roques, et al. 2009. Quaternary history and contemporary patterns in a currently expanding species. *BMC Evol. Biol.* 9:220.
- Kerdelhué, C., A. Battisti, C. Burban, M. Branco, A. Cassel-Lundhagen, K. Ipekdal, et al. 2015. Genetic diversity and structure at different spatial scales in the processionary moths. Pp.163–226 in A. Roques, ed. *Processionary moths and climate changes: an update*. Springer-Quae, Dordrecht-Versailles.
- de Leon, G. P. P., and S. A. Nadler. 2010. What we don't recognize can hurt us: a plea for awareness about cryptic species. *J. Parasitol.* 96:453–464.
- Nylander, J. A., F. Ronquist, J. P. Huelsenbeck, and J. Nieves-Aldrey. 2004. Bayesian phylogenetic analysis of combined data. *Syst. Biol.* 53:47–67.
- Patwary, M. U., E. L. Kenchington, C. J. Bird, and E. Zouros. 1994. The use of random amplified polymorphic DNA markers in genetic studies of the sea scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin 1791). *J. Shellfish Res.* 13:547–553.
- Petit, R. J., and L. Excoffier. 2009. Gene flow and species delimitation. *Trends Ecol. Evol.* 24:386–393.
- Pons, J., T. G. Barraclough, J. Gomez-Zurita, A. Cardoso, D. P. Duran, S. Hazell, et al. 2006. Sequence-based species delimitation for DNA taxonomy of undescribed insects. *Syst. Biol.* 55:595–609.
- Pritchard, J. K., M. Stephens, and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945–959.
- Quezel, P. 2000. Réflexions sur l'évolution de la flore et de la végétation au Maghreb Méditerranéen. *Ibis*, Paris.
- Rogers, A. R., and H. Harpending. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol. Biol. Evol.* 9:552–569.
- Roques, A., J. Rousselet, M. Avci, D. N. Avtzis, A. Basso, A. Battisti, et al. 2015. Climate warming and past and present distribution of the processionary moths (*Thaumetopoea* spp.) in Europe, Asia Minor and North Africa. Pp. 81–161 in A. Roques, ed. *Processionary moths and climate changes: an update*. Springer-Quae, Dordrecht-Versailles.
- Rosenberg, N. A. 2004. Distruct: a program for the graphical display of population structure. *Mol. Ecol. Notes* 4:137–138.
- Rousselet, J., R. Zhao, D. Argal, M. Simonato, A. Battisti, A. Roques, et al. 2010. The role of topography in structuring the demographic history of the pine processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Notodontidae). *J. Biogeogr.* 37:1478–1490.
- Sahraoui, B. 1995. Bilan critique du barrage vert en Algérie. *Secheresse* 6:247–255.
- Salvato, P., A. Battisti, S. Concato, L. Masutti, T. Patarnello, and L. Zane. 2002. Genetic differentiation in the winter pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa*—*wilkinsoni* complex), inferred by AFLP and mitochondrial DNA markers. *Mol. Ecol.* 11:2435–2444.
- Salvato, P., M. Simonato, L. Zane, T. Patarnello, L. Masutti, and A. Battisti. 2005. Do sexual pheromone traps provide biased information of the local gene pool in the pine processionary moth? *Agric. For. Entomol.* 7:127–132.
- Santos, H., J. Rousselet, E. Magnoux, M. R. Paiva, M. Branco, and C. Kerdelhué. 2007. Genetic isolation through time: allochronic differentiation of a phenologically atypical population of the pine processionary moth. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 274:935–941.
- Sbabdji, M., and B. Kadik. 2011. Effects of Atlas cedar (*Cedrus atlantica*) defoliation on performance of the pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa*). *J. Pest. Sci.* 84:213–217.
- Simon, C., T. R. Buckley, F. Frati, J. B. Stewart, and A. T. Beckenbach. 2006. Incorporating molecular evolution into phylogenetic analysis, and a new compilation of conserved polymerase chain reaction primers for animal mitochondrial DNA. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 37:545–579.
- Simonato, M., Z. Mendel, C. Kerdelhué, J. Rousselet, E. Magnoux, P. Salvato, et al. 2007. Phylogeography of the pine processionary moth *Thaumetopoea wilkinsoni* in the Near East. *Mol. Ecol.* 16:2273–2283.

- Simonato, M., A. Battisti, C. Kerdelhué, C. Burban, C. Lopez-Vaamonde, I. Pivotto, et al. 2013. Host and phenology shifts in the evolution of the social moth genus *Thaumetopoea*. *PLoS One* 8:e57192.
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585–595.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski, and S. Kumar. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30:2725–2729.
- Templeton, A. R., K. A. Crandall, and C. F. Sing. 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132:619–633.
- Toews, D. P., and A. Brelsford. 2012. The biogeography of mitochondrial and nuclear discordance in animals. *Mol. Ecol.* 21:3907–3930.
- Valentini, A., F. Pompanon, and P. Taberlet. 2009. DNA barcoding for ecologists. *Trends Ecol. Evol.* 24:110–117.
- Vidakovic, M. 1991. Conifers morphology and variation. Graficki zavod Hrvatske, Zagreb.
- Zamoum, M., and G. Démolin. 2004. Mécanismes de régulation des populations de la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* Denis & Schiffenmüller (Lep., Thaumetopoeidae) en zone semi-aride (Algérie). *Ann. Rech. For. Tunisie* 6:155–173.
- Zamoum, M., G. Démolin, F. Lieutier, and D. Ghaioule. 2005. The life cycle of the pine processionary caterpillar in the bioclimatic conditions of a sub-Saharan region. Pp. 107–116 in F. Lieutier and D. Ghaioule, eds. *Entomological research in mediterranean forest ecosystems*. INRA, Paris, France.

Supporting Information

Additional Supporting Information may be found online in the supporting information tab for this article:

Figure S1. Clade-specific primer map.

Figure S2. Maximum likelihood consensus tree of the tRNA^{Leu}-cox2 haplotypes found in this study (648 bp long, P and E stand for *pityocampa* and ENA clades, respectively).

Table S1. *F_{ct}* values for the different number of groups (K) of population inferred by SAMOVA algorithm on the whole mtDNA dataset.

Table S2. Total number of alleles per locus and average null alleles percentage (%NA) per locus.