

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 25 juillet 2019

**AVIS**  
**de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,**  
**de l'environnement et du travail**

**relatif « aux connaissances nécessaires à la gestion du risque des écorces sensibles au  
nématode du pin »**

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*

*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).*

*Ses avis sont publiés sur son site internet.*

---

L'Anses a été saisie le 23 avril 2018 par la Direction Générale de l'Alimentation du Ministère en charge de l'agriculture pour la réalisation de l'expertise suivante : demande d'avis relatif aux connaissances nécessaires à la gestion du risque des écorces sensibles au nématode du pin.

## **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

Des écorces contaminées par le nématode du pin (*Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhrer, 1934) Nickle 1970) en provenance du Portugal et destinées à la vente en France ont été découvertes, par les autorités belges, chez l'intermédiaire chargé de leur conditionnement en sacs. Malgré l'enclenchement d'une procédure de rappel, plusieurs lots ont été vendus à des clients non identifiés.

Au cours des inspections liées à cette procédure, des prélèvements effectués par les services de l'Etat ont permis la détection, par le Laboratoire National de Référence (LNR), d'un autre lot présentant des nématodes vivants sur un échantillon d'écorces provenant d'une jardinerie en Ile-de-France.

La décision européenne 2012/535/UE du 26 septembre 2012 relative aux mesures d'urgence destinées à prévenir la propagation dans l'Union de *Bursaphelenchus xylophilus* vient d'être révisée suite aux violents incendies qui ont ravagé 450 000 ha de forêts en 2017 au Portugal.

Les premiers résultats de l'enquête de filière menée suite à l'interception d'écorces contaminées montrent que des volumes importants d'écorces originaires du Portugal sont commercialisés en France, après acheminement en camion ou en bateau, via la Belgique notamment.

La saisine 2018-SA-0103 a déjà fait l'objet d'un premier avis (06/06/2018) pour traiter des questions urgentes de la saisine qui sont les suivantes :

(i) En ce qui concerne le nématode *Bursaphelenchus xylophilus* :

- Dans le cas où il serait décidé d'enlever les écorces épandues car contaminées, faut-il enlever aussi une couche de sol et si oui de quelle épaisseur ? Cette épaisseur est-elle fonction de l'ancienneté du dépôt des écorces sur le sol ? Les conditions climatiques ayant suivi cet épandage impactent-elles cette épaisseur ?

(ii) En ce qui concerne l'insecte vecteur *Monochamus galloprovincialis* :

Peuvent-ils accomplir leur cycle complet dans un support « mort » tel qu'un morceau / copeau / écorce de bois ? Quelle taille minimale est nécessaire ?

Les questions objet de cet avis concernent :

(iii) La sensibilité des espèces de conifères au nématode du pin et son insecte vecteur ;

(iv) L'adaptation des méthodes de détection de *Bursaphelenchus xylophilus* à tous les supports de culture et en particulier au terreau ;

(v) La période d'incubation de 14 jours nécessaire à la mise en œuvre des tests de détection de *Bursaphelenchus xylophilus*.

## **2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE**

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé (CES) « Risques Biologiques pour la Santé des Végétaux ». L'Anses a confié l'expertise au groupe de travail « Nématode du pin ». Les travaux ont été présentés au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques entre septembre 2018 et juillet 2019. Ils ont été adoptés par le CES « Risques Biologiques pour la Santé des Végétaux » réuni le 9 juillet 2019.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet de l'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

Afin de répondre à la question iii) portant sur la sensibilité des espèces de conifères au nématode du pin et son insecte vecteur, une analyse de la littérature a été réalisée par l'interrogation de la base de données bibliographiques Web of Science. La question suivante a été utilisée : « *Monochamus galloprovincialis* » AND ("nom de l'espèce en latin" OR "nom de l'espèce en anglais") pour identifier les essences hôtes potentielles et connaître la capacité de l'insecte à effectuer son repas de maturation ainsi que sa reproduction sur les mêmes essences. La liste des espèces hôtes potentielles comprend 73 espèces de conifères (Annexe 2).

### 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT ET DU CES

#### (iii) La sensibilité des espèces de conifères au nématode du pin et son insecte vecteur.

##### 1. Données sur la bio-écologie de *Monochamus galloprovincialis* (Olivier, 1795), vecteur du nématode du pin *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhrer, 1934) Nickle 1970 dans le Sud-Ouest de la France

Le nématode du pin *B. xylophilus* ne peut se propager d'arbre en arbre sans l'aide d'un insecte vecteur qui appartient toujours au genre *Monochamus*, quelle que soit la région du monde où il est présent, en situation indigène ou d'invasion. Dans le sud de l'Europe où il a provoqué des dépérissements graves dans les forêts de pin (Portugal et Espagne), l'espèce d'insecte vecteur est toujours *M. galloprovincialis*. Pour évaluer les risques d'introduction et d'installation du nématode en France, notamment en Région Nouvelle-Aquitaine qui fait figure de zone à risque majeur, il convient donc de rassembler les informations disponibles sur l'écologie et le cycle biologique de ce coléoptère saproxylique (organisme se nourrissant du bois).

##### 1.1 Stade adulte immature

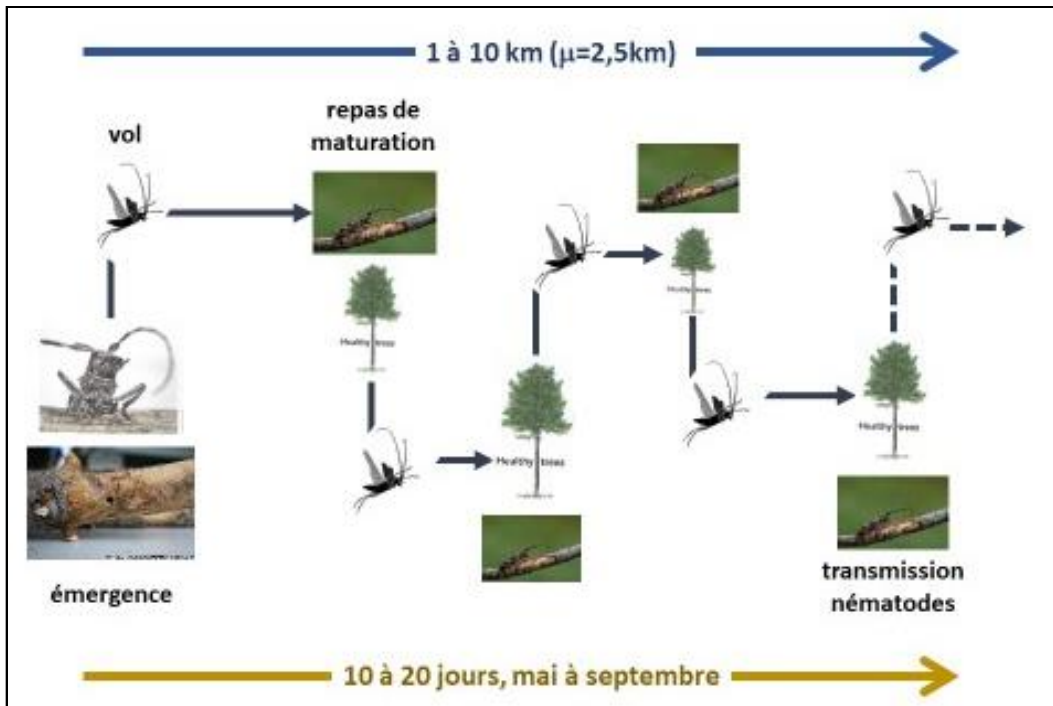
Les jeunes adultes immatures émergent au printemps, à partir du début du mois d'avril en général. Ils sont dits « immatures » car non matures sexuellement. Une phase de maturation est en effet nécessaire pour que les femelles produisent les ovocytes nécessaires à la reproduction (insectes synovigéniques). Les insectes à ce stade émergent de branches ou morceaux de tronc (rondins, billons et grumes) morts (naturellement ou suite à une coupe) (Fig. 1). Le diamètre de ces branches ou morceaux de tronc d'où sortent les jeunes adultes varie de 2 à 24 cm (moyenne 10 cm) d'après des données recueillies par l'INRA sur pin maritime en Aquitaine. Les insectes mesurent en moyenne 7 mm de large sur 19 mm de long (données mesurées sur 2178 individus).

La phase de maturation dure de 2 à 3 semaines (David *et al.*, 2015), pendant lesquelles les jeunes adultes se nourrissent sur pousses vertes d'arbres d'essences sensibles (Tab. 1 et 2), qui sont généralement des arbres sains et vigoureux. Les insectes repèrent leur arbre hôte à l'aide de signaux visuels (effet silhouette) et olfactifs (odeurs de résine de pin) (Giffard *et al.*, 2017). Les insectes utilisent leurs mandibules pour rogner l'écorce fraîche des pousses vertes, se nourrissant au détriment du phloème (ou liber, où circule la sève élaborée chargée en éléments nutritifs, notamment carbohydrates et azote).

Si l'arbre où ils se sont développés est contaminé, les nématodes auront colonisé les insectes vecteurs au stade nymphal, s'insérant principalement dans les trachées de la nymphe, et y restant au stade jeune adulte. C'est lors de son repas de maturation sur pousse verte que l'insecte vecteur transmet les nématodes à l'arbre d'essences sensible. La transmission est passive, les nématodes quittant d'eux-mêmes l'insecte vecteur pour pénétrer dans les canaux de sève via la blessure de nutrition de l'insecte. La majeure partie (50 à 75%) des nématodes transportés par le vecteur sont donc transmis aux arbres d'essences sensibles pendant cette période. La durée totale de transmission est de l'ordre de 10 semaines (Naves *et al.*, 2007).

Les adultes immatures se déplacent en volant pour atteindre les branches des arbres où se nourrir. Les capacités de vol des insectes immatures ont été évaluées à 2,5 km en moyenne, en distances cumulées sur la durée de cette phase (médiane 1,8 km et maximum 10 km). Les vols de l'insecte à ce stade sont dits « d'alimentation », l'insecte allant d'un arbre à l'autre pour se nourrir (avec des périodes de repos de l'ordre d'une journée) et donc pouvant contaminer plusieurs arbres à la suite.

Les insectes immatures ne sont pas attirés par les phéromones d'agrégation pendant cette période de maturation. Ils ne peuvent donc être détectés ni dénombrés par piégeage.



**Figure 1** : Cycle de vie de l'adulte immature de *Monochamus galloprovincialis* (illustrations tirées de Sousa, E., Vale, F., & Abrantes, I. (Eds.). (2015). Pine wilt disease in Europe: Biological interactions and integrated management. FNAPF.)

## 1.2 Stade adulte mature

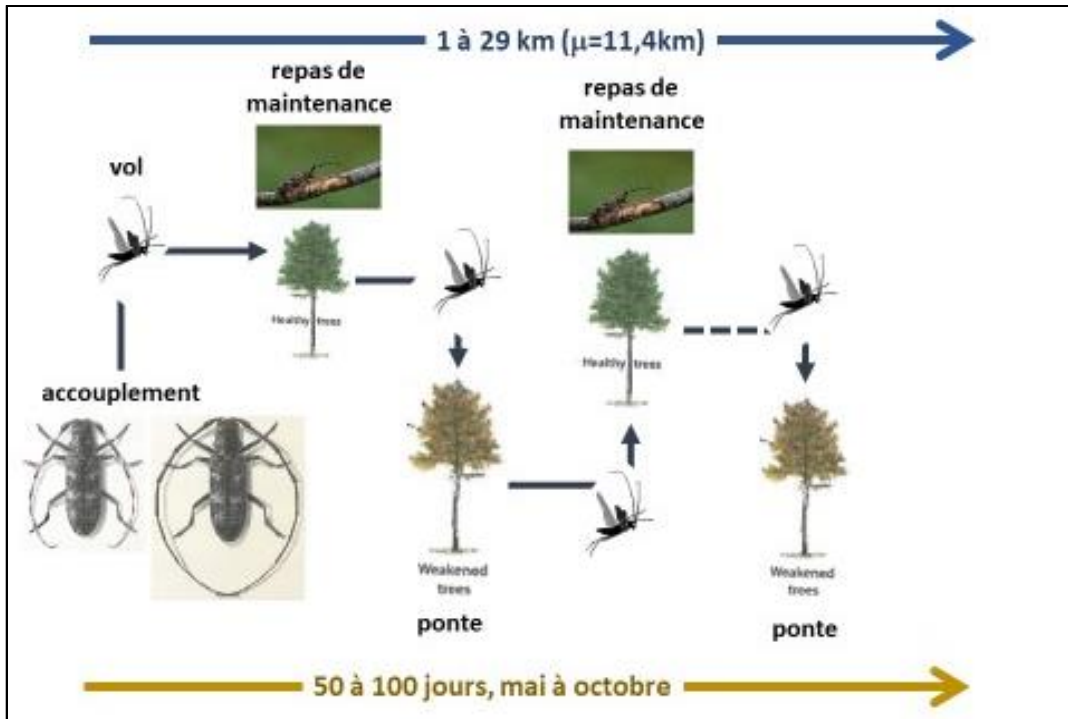
Les adultes matures commencent à se reproduire de la fin du printemps à l'été. Les individus mâles et femelles utilisent les odeurs des arbres d'essences sensibles (terpènes) affaiblis (notamment attaqués par des scolytes) et une phéromone de cour (monochamol) pour se rapprocher avant accouplement. Ces odeurs ont été identifiées et synthétisées pour produire un attractif efficace, utilisé pour le piégeage de surveillance des populations (Alvarez *et al.*, 2015, 2016 ; Jactel *et al.*, 2019).

Après accouplement, la femelle pond des œufs isolés dans des encoches de ponte réalisées à la surface de l'écorce d'arbres dépérissants ou coupés. Ces encoches sont recouvertes de glu, sans doute pour les protéger de la dessiccation et/ou des prédateurs. La femelle de *M. galloprovincialis* peut pondre en moyenne 150 œufs, qu'elle répartit sur différents arbres, pendant une période d'environ 90 jours (données obtenues au laboratoire sur pin sylvestre). Les œufs ont une taille moyenne de 4 mm x 1 mm. Le diamètre des branches ou morceaux de tronc sur lesquels les œufs sont pondus varie de 2 cm à 42 cm (moyenne 10 cm). La transmission des nématodes est également possible lors de la ponte, mais de manière moins importante que lors de l'alimentation (Fig. 2).

Les adultes matures utilisent le vol pour explorer leur habitat à la recherche de leur nourriture (pousses vertes sur arbres vivants sains) ou de leur site de reproduction et de ponte. Leur capacité de vol a été estimée à 13 km en moyenne (médiane 11 km et maximum 29 km ; Robinet *et al.*, 2019). Ces vols sont des vols dit « de routine » (et non migratoires car les insectes demeurent dans le même habitat ; David *et al.*, 2014) et sont entrecoupés de période de repos. Les insectes

peuvent donc contaminer (arbres verts) et pondre dans plusieurs arbres (dépérissants) au cours de leur vie adulte.

Les insectes adultes ont une durée de vie, de l'ordre de 4 mois (126 jours ; David *et al.* 2017), ce stade du cycle biologique de *M. galloprovincialis* se déroulant de mai à octobre (voire début novembre ; données de piégeage). Leur taille est d'environ 20 mm de long sur 6 mm de large.



**Figure 2 :** Cycle de vie de l'adulte mature de *Monochamus galloprovincialis* (illustrations tirées de Sousa, E., Vale, F., & Abrantes, I. (Eds.). (2015). Pine wilt disease in Europe: Biological interactions and integrated management. FNAPF.)

### 1.3 Stades larvaires

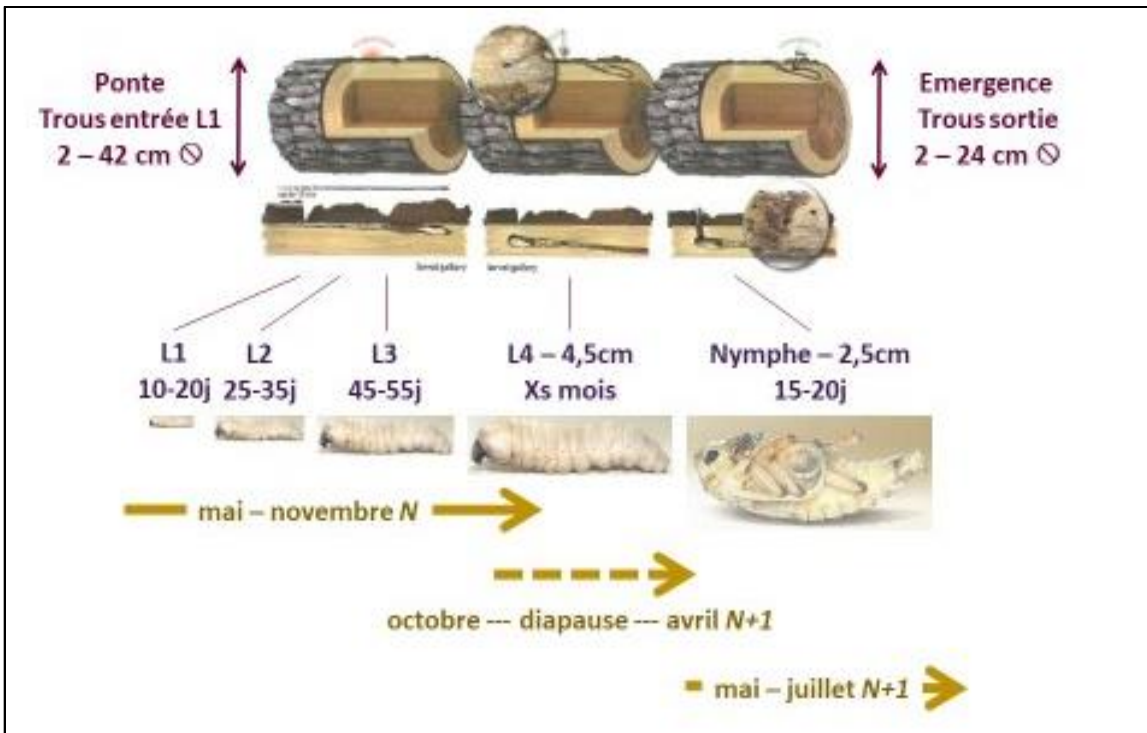
Après éclosion des œufs (au bout de 5 à 10 jours), le développement de *M. galloprovincialis* passe par 4 stades larvaires qui se déroulent tous dans le bois (hors de l'écorce) (Koutroumpa *et al.*, 2008 ; 2009).

Les stades L1 et L2 restent à la surface du bois, creusant une galerie dans l'épaisseur du liber (phloème). La larve L1 vit de 7 à 23 jours (en fonction de la température) et mesure de 2 à 10 mm de long. La larve L2 vit de 25 à 40 jours et mesure de 4 à 20 mm de long.

Le stade L3 pénètre davantage à l'intérieur des branches ou billons pour établir une galerie dans l'aubier. La larve L3 vit de 40 à 70 jours et mesure de 7 à 30 mm de long.

Le stade L4 est particulier car situé dans l'aubier voire dans le bois de cœur ; il subit une diapause hivernale, pendant laquelle il ne se nourrit plus. La larve L4 mesure de 12 à 40 mm de long et vit donc plusieurs mois.

Au printemps suivant, la larve L4 se transforme en nymphe, qui mesure environ 25 mm de long (pour 15 mm de large). La chambre nymphale est creusée plus en surface (que la galerie larvaire L4), sous l'épaisseur d'écorce. Les nymphes ne se nourrissent pas. Les nématodes, sous forme de larves du 4ème stade juvénile J<sub>IV</sub>, s'agrègent autour de la chambre nymphale, avant de pénétrer dans les trachées du jeune adulte prêt à émerger (Fig. 3).



**Figure 3 :** Cycle de vie larvaire et nymphale de *Monochamus galloprovincialis* (illustrations tirées de Sousa, E., Vale, F., & Abrantes, I. (Eds.). (2015). Pine wilt disease in Europe: Biological interactions and integrated management. FNAPF.)

Compte tenu des dimensions de la larve L4 et de la nymphe, stades cruciaux pour le risque de transmission de la maladie car dotés d'une certaine longévité sans nécessité d'alimentation, il est fortement recommandé de **vérifier que les cargaisons d'écorces ne contiennent pas de morceaux de bois (d'essences sensibles) de dimensions supérieures à 3 cm x 3 cm x 3 cm.**

## 2. La résistance des conifères au nématode du pin *Bursaphelenchus xylophilus*

Les principales espèces végétales hôtes pour le nématode du pin appartiennent au genre *Pinus*, mais la liste des espèces végétales sensibles englobe également d'autres conifères des genres *Abies*, *Cedrus*, *Larix*, etc. L'évaluation de la littérature mondiale et des échanges directs avec des chercheurs de différents pays où le nématode est présent ont permis d'établir une liste des espèces d'arbres présentant un degré relatif de sensibilité/résistance à ce bioagresseur (Tab. 1 ; Evans *et al.*, 1996 ; Fonseca *et al.*, 2015).

Il faut cependant noter que bon nombre de travaux ont évalué la multiplication du nématode dans des arbres issus de semis sous conditions de laboratoire ou de pépinière. Sachant que les semis (maintenus ou non dans des conditions environnementales contrôlées) démontrent une sensibilité beaucoup plus grande que les arbres adultes à l'invasion par *B. xylophilus*, en particulier lorsque le nématode est inoculé de manière artificielle, les listes du Tableau 1 doivent être considérées avec une certaine prudence, et ce d'autant plus que la résistance des pins peut varier avec la densité d'inoculum apportée (Futai, 2013). Il convient également de préciser ici que la sensibilité au dépérissement doit être clairement distinguée de la capacité de *B. xylophilus* à coloniser les arbres morts au cours de la phase mycophage de son cycle de vie. Il est vraisemblable qu'un nombre

plus important d'espèces de pin peuvent être colonisées dans ce dernier état que le nombre d'espèces pouvant réellement être tuées par le nématode *in natura*. En fait, parmi les espèces de pin listées dans le tableau 1, *P. densiflora*, *P. luchuensis*, *P. nigra*, *P. pinaster*, *P. sylvestris* et *P. thunbergii* sont les principales à avoir succombé à la maladie du dépérissement du pin à grande échelle, en tant qu'arbres matures en forêt. Cette observation représente peut-être une indication plus réaliste des espèces véritablement sensibles au nématode.

En outre, des résultats contradictoires ont été reportés pour une même espèce (c'est par exemple le cas de *P. taeda* ; cf. Mamiya, 1976 ; Malek et Appleby, 1984 ; Luzzi *et al.*, 1984 ; Kuroda *et al.*, 1991), ou sont difficiles à comparer du fait des variations dans les protocoles expérimentaux utilisés (qualité de l'inoculum, âge des plants inoculés, conditions environnementales de culture, technique d'inoculation, etc.). En particulier, si l'on s'intéresse aux principales espèces de pin présentes en Europe, les études récentes ne sont pas toujours complètement concordantes entre elles (Fig. 4), et utilisent des critères différents pour décrire la nature de l'interaction entre l'arbre et le nématode, tels que « niveaux de sensibilité » (Menedez-Gutierrez *et al.*, 2018 ; Da Silva *et al.*, 2015), « niveaux de résistance » (Franco *et al.*, 2011), voire « tolérance » (Da Silva *et al.*, 2015). A cet égard, il est important d'insister sur le risque associé aux espèces qualifiées d'asymptomatiques ou de tolérantes, qui peuvent constituer des réservoirs d'inoculum (Futai, 2013).

Ces auteurs s'accordent néanmoins pour considérer *P. pinea* comme étant l'espèce européenne la moins sensible au nématode du pin, en ne permettant pas la multiplication du nématode (comme observé en conditions expérimentales ; Da Siva *et al.*, 2015). À noter cependant la récente détection d'une autre espèce de *Bursaphelenchus*, non pathogène, en association avec *P. pinea* (Torrini *et al.*, 2017). À l'opposé, *B. xylophilus* est capable de se multiplier activement dans les tissus de *P. sylvestris*, *P. radiata* et *P. pinaster* (Da Silva *et al.*, 2015 ; Menendez-Gutierrez *et al.*, 2018).

Parmi les conifères, sont également considérées comme hôtes pour le nématode différentes espèces des genres *Abies*, *Cedrus*, *Larix* et *Picea* (Tab. 2 ; Evans *et al.*, 1996). Même si elles ne sont pas répertoriées dans la liste des espèces hôtes, des expérimentations en conditions contrôlées ont montré que le nématode pouvait se maintenir dans le bois de *Tsuga heterophylla* et *Thuja plicata* (Forge et Sutherland, 1996a ; 1996b). En revanche, il n'a pas été possible de trouver dans la littérature d'article mentionnant l'association entre le nématode du pin et les ifs (*Taxus sp.*). Globalement, compte-tenu de la croissance limitée de *B. xylophilus* dans le bois d'espèces de conifères autres que les pins, il semble peu probable que ces dernières puissent être infestées de populations importantes de *B. xylophilus*.

**Tableau 1.** Sensibilité des principales espèces de Pinus au nématode *Bursaphelenchus xylophilus* (adapté d'après Evans *et al.*, 1996 ; Fonseca *et al.*, 2015).

| Origine               | Pinus spp.              | Classification |               |          |
|-----------------------|-------------------------|----------------|---------------|----------|
|                       |                         | Résistant      | Intermédiaire | Sensible |
| Amérique du Nord      | <i>P. banksiana</i>     |                | X             |          |
|                       | <i>P. clausa</i>        | X              |               |          |
|                       | <i>P. contorta</i>      |                | X             |          |
|                       | <i>P. echinata</i>      |                | X             |          |
|                       | <i>P. elliotii</i>      | X              |               |          |
|                       | <i>P. engelmannii</i>   |                | X             |          |
|                       | <i>P. jeffreyi</i>      |                | X             |          |
|                       | <i>P. lambertiana</i>   |                | X             |          |
|                       | <i>P. monticola</i>     |                | X             |          |
|                       | <i>P. palustris</i>     |                | X             |          |
|                       | <i>P. ponderosa</i>     |                | X             |          |
|                       | <i>P. pungens</i>       |                | X             |          |
|                       | <i>P. radiata</i>       |                | X             |          |
|                       | <i>P. resinosa</i>      |                | X             |          |
|                       | <i>P. rigida</i>        | X              |               |          |
|                       | <i>P. strobus</i>       |                | X             |          |
| <i>P. taeda</i>       |                         | X              |               |          |
| <i>P. virginiana</i>  | X                       |                |               |          |
| Amérique Centrale     | <i>P. ayacahuite</i>    |                |               | X        |
|                       | <i>P. caribaea</i>      |                | X             |          |
|                       | <i>P. cooperi</i>       |                | X             |          |
|                       | <i>P. leilophylla</i>   |                |               | X        |
|                       | <i>P. montezumae</i>    |                | X             |          |
|                       | <i>P. muricata</i>      |                |               | X        |
|                       | <i>P. oocarpa</i>       |                | X             |          |
|                       | <i>P. patula</i>        |                | X             |          |
|                       | <i>P. rudis</i>         |                | X             |          |
|                       | <i>P. strobiformis</i>  |                | X             |          |
| Asie                  | <i>P. bungeana</i>      |                | X             |          |
|                       | <i>P. densiflora</i>    |                |               | X        |
|                       | <i>P. fenzeliana</i>    | X              |               |          |
|                       | <i>P. kesiya</i>        |                |               | X        |
|                       | <i>P. koraiensis</i>    |                |               | X        |
|                       | <i>P. luchuensis</i>    |                |               | X        |
|                       | <i>P. massoniana</i>    |                | X             |          |
|                       | <i>P. morrisonicola</i> | X              |               |          |
|                       | <i>P. pentaphylla</i>   |                | X             |          |
|                       | <i>P. tabulaeformis</i> |                | X             |          |
|                       | <i>P. taiwanensis</i>   | X              |               |          |
|                       | <i>P. thunbergii</i>    |                |               | X        |
|                       | <i>P. wallichiana</i>   |                | X             |          |
| <i>P. yunnanensis</i> |                         | X              |               |          |
| Europe                | <i>P. halepensis</i>    |                | X             |          |
|                       | <i>P. mugo</i>          |                |               | X        |
|                       | <i>P. nigra</i>         |                |               | X        |
|                       | <i>P. pinaster</i>      |                |               | X        |
|                       | <i>P. pinea</i>         |                | X             |          |
|                       | <i>P. sylvestris</i>    |                |               | X        |



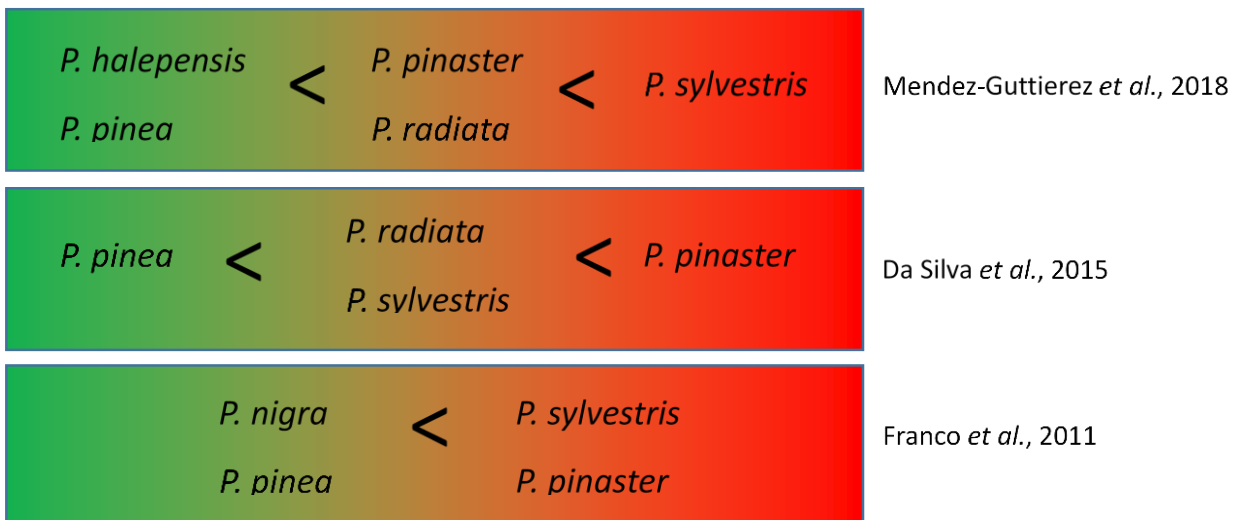
**Tableau 2.** Espèces de conifères n'appartenant pas au genre *Pinus* et hôtes pour le nématode *Bursaphelenchus xylophilus* (d'après Evans *et al.*, 1996).

| Origine          | Espèces hôtes  |
|------------------|--|
| Amérique du Nord | <i>Abies amabilis</i><br><i>A. balsamea</i><br><i>A. grandis</i><br><i>Chamaecyparis nootkatensis</i><br><i>Larix laricina</i><br><i>L. occidentalis</i><br><i>Picea engelmannii</i><br><i>P. glauca</i><br><i>P. mariana</i><br><i>P. pungens</i><br><i>P. rubens</i><br><i>P. sitchensis</i><br><i>Pseudotsuga menziesii</i> |
| Asie             | <i>A. firma</i><br><i>A. sachalinensis</i><br><i>L. kaempferi</i><br><i>P. jezoensis</i>   |
| Europe           | <i>Cedrus atlantica</i><br><i>C. deodara</i><br><i>L. decidua</i><br><i>P. abies</i>   |

échelle de sensibilité relative

(-) (+)  
au nématode du pin

Références



**Figure 4 :** Sensibilité relative des principales espèces européennes de pins au nématode *Bursaphelenchus xylophilus*.

### 3. Essences sensibles à *Monochamus galloprovincialis*

#### 3.1 Méthodologie

Pour établir la liste des essences sensibles à *Monochamus galloprovincialis* en France, nous avons considéré les deux phases distinctes du cycle biologique de l'insecte au cours desquelles il interagit avec l'arbre hôte (voir 1.).

Pendant la première phase, en tant qu'adulte immature mâle ou femelle, il se nourrit sur les pousses vertes des arbres sains, effectuant son « repas de maturation ». Nous avons donc listé les essences de conifères sur lesquelles des repas de maturation de *M. galloprovincialis* ont été soit documentés au laboratoire dans des expériences d'élevage, soit observés *in natura*.

Pendant la deuxième phase, en tant qu'adulte mature et après accouplement, la femelle recherche un arbre dépérissant (ou une branche ou un tronc coupés) pour effectuer sa ponte. Pour considérer cet arbre (ou morceau d'arbre) comme appartenant à une essence sensible à *M. galloprovincialis*, nous avons en outre vérifié que des descendants viables étaient produits. Nous avons donc listé les essences de conifères sur lesquelles une reproduction réussie (donnant des jeunes adultes émergents) a été soit documentée au laboratoire dans des expériences d'élevage, soit observée *in natura*.

Des publications font état de la présence observée ou du piégeage de *M. galloprovincialis* dans des forêts dominées par certaines essences. Ces informations peu précises quant au stade de l'insecte concerné ou à l'utilisation des arbres de ces essences pour la maturation ou la reproduction ont été retenues comme éléments confirmatoires des deux autres critères mais avec un moindre poids.

Les sources bibliographiques utilisées pour renseigner ces critères ont été Zao *et al.* (2008), Sousa *et al.* (2015) et la plateforme Web of Science consultée en avril 2019 (Annexe 2).

#### 3.2 Résultats

Nous avons vérifié les critères de sensibilité des essences hôtes à *M. galloprovincialis* sur 73 espèces de conifères.

Au total, 64 espèces de conifères ne sont jamais citées comme espèce hôte pour le repas de maturation de *M. galloprovincialis* (Tab. 3).

**Tableau 3.** Espèces de conifères qui ne sont jamais citées comme espèce hôte pour le repas de maturation de *M. galloprovincialis*.

|                                   |                          |                           |
|-----------------------------------|--------------------------|---------------------------|
| <i>Abies amabilis</i>             | <i>Pinus ayacahuite</i>  | <i>Pinus muricata</i>     |
| <i>Abies balsamea</i>             | <i>Pinus banksiana</i>   | <i>Pinus oocarpa</i>      |
| <i>Abies firma</i>                | <i>Pinus bungeana</i>    | <i>Pinus palustris</i>    |
| <i>Abies grandis</i>              | <i>Pinus canariensis</i> | <i>Pinus patula</i>       |
| <i>Abies sachalinensis</i>        | <i>Pinus caribaea</i>    | <i>Pinus pentaphylla</i>  |
| <i>Cedrus atlantica</i>           | <i>Pinus clausa</i>      | <i>Pinus ponderosa</i>    |
| <i>Cedrus deodara</i>             | <i>Pinus contorta</i>    | <i>Pinus pungens</i>      |
| <i>Chamaecyparis lawsonia</i>     | <i>Pinus cooperi</i>     | <i>Pinus resinosa</i>     |
| <i>Chamaecyparis nootkatensis</i> | <i>Pinus densiflora</i>  | <i>Pinus rigida</i>       |
| <i>Cupressus lusitanica</i>       | <i>Pinus echinata</i>    | <i>Pinus rudis</i>        |
| <i>Larix decidua</i>              | <i>Pinus elliottii</i>   | <i>Pinus strobiformis</i> |

|                           |                            |                            |
|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| <i>Larix kaempferi</i>    | <i>Pinus engelmannii</i>   | <i>Pinus strobus</i>       |
| <i>Larix laricina</i>     | <i>Pinus fenzeliana</i>    | <i>Pinus tabulaeformis</i> |
| <i>Larix occidentalis</i> | <i>Pinus jeffreyi</i>      | <i>Pinus taiwanensis</i>   |
| <i>Picea engelmannii</i>  | <i>Pinus kesiya</i>        | <i>Pinus thunbergii</i>    |
| <i>Picea glauca</i>       | <i>Pinus koraiensis</i>    | <i>Pinus virginiana</i>    |
| <i>Picea jezoensis</i>    | <i>Pinus lambertiana</i>   | <i>Pinus wallichiana</i>   |
| <i>Picea mariana</i>      | <i>Pinus leilophylla</i>   | <i>Pinus yunnanensis</i>   |
| <i>Picea pungens</i>      | <i>Pinus luchuensis</i>    |                            |
| <i>Picea rubens</i>       | <i>Pinus massoniana</i>    |                            |
| <i>Picea sitchensis</i>   | <i>Pinus montezumae</i>    |                            |
| <i>Taxus baccata</i>      | <i>Pinus monticola</i>     |                            |
| <i>Thuja plicata</i>      | <i>Pinus morrisonicola</i> |                            |

Ces résultats confirment la résistance de l'if (*Taxus baccata*) et du thuya (*Thuja plicata*) mais indiquent également celle des cèdres, sapins, épicéas (mais voir *Picea abies* (Tab. 4)), cyprès, mélèzes, chamaecyparis, ainsi que de nombreux pins non européens.

Neuf espèces sont citées comme pouvant être utilisées par *M. galloprovincialis* pour le repas de maturation sur pousses vertes : 7 espèces de pins, l'épicéa commun (*P. abies*) et le Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) (Tab. 4).

**Tableau 4.** Espèces citées comme pouvant être utilisées pour le repas de maturation sur pousses vertes

|                         |                              |
|-------------------------|------------------------------|
| <i>Pinus halepensis</i> | <i>Picea abies</i>           |
| <i>Pinus nigra</i>      | <i>Pseudotsuga menziesii</i> |
| <i>Pinus pinaster</i>   |                              |
| <i>Pinus pinea</i>      |                              |
| <i>Pinus radiata</i>    |                              |
| <i>Pinus sylvestris</i> |                              |
| <i>Pinus taeda</i>      |                              |

Cinq espèces de pin sont connues pour permettre la reproduction de *M. galloprovincialis* (Tab. 5).

**Tableau 5.** Espèces de pin connues pour permettre la reproduction de *M. galloprovincialis*.

|                         |
|-------------------------|
| <i>Pinus halepensis</i> |
| <i>Pinus nigra</i>      |
| <i>Pinus pinaster</i>   |
| <i>Pinus radiata</i>    |
| <i>Pinus sylvestris</i> |

Les deux essences n'appartenant pas au genre *Pinus*, c'est-à-dire l'épicéa commun et le Douglas, ne semblent donc pas propices au développement complet de l'insecte vecteur. Cependant ces résultats ne reposent que sur une publication. Considérant l'importance de ces essences pour l'économie forestière et les conséquences du réchauffement climatique qui pourrait favoriser la rencontre de populations de *M. galloprovincialis* et des peuplements de ces essences (notamment

dans le centre de la France), d'autres études sont nécessaires pour confirmer leur résistance à la reproduction de l'insecte vecteur.

Le cas du pin parasol (pin pignon, *P. pinea*) est particulier. Une étude réalisée sur rondins de pin parasol au laboratoire a permis d'obtenir des descendants viables de *M. galloprovincialis* (Sanchez-Husillos *et al.*, 2013). Cependant, les experts portugais et espagnols interrogés confirment que l'insecte vecteur n'est pas présent *in natura* dans les forêts de pins parasols (jamais piégé dans les pièges à phéromones, jamais recapturé lors d'expériences de lâcher d'individus marqués). De même, malgré la présence de nombreux peuplements naturels de pin parasol au Portugal, entourés de peuplements atteints par la maladie du flétrissement induite par le nématode du pin, aucun signe de dépérissement n'a jamais été observé dans la nature dans les forêts de pin parasol. Nous considérons donc cette essence comme non sensible à *M. galloprovincialis*, probablement pour des raisons de répulsion olfactive et/ou une incapacité de l'insecte à se reproduire sur cette essence.

Le cas du pin taeda mérite également une mention particulière. Des études en cours à l'INRA indiquent que *M. galloprovincialis* est capable de s'alimenter sur pousses (au laboratoire). Des piégeages de *M. galloprovincialis* ont également été obtenus dans des plantations de *P. taeda* en Aquitaine, suggérant une reproduction probable de l'insecte sur *P. taeda*. Elle n'a cependant pas été encore formellement démontrée en Europe, notamment via des élevages au laboratoire.

Quatre espèces de pin ont été observées *in natura*, au Portugal et en Espagne, comme ayant subi un dépérissement consécutif à l'expression de la maladie du dépérissement du pin, indiquant que le cycle épidémique du nématode du pin a été complet dans les forêts touchées (Tab. 6).

**Tableau 6.** Espèces de pin observées *in natura*, au Portugal et en Espagne, comme ayant subi un dépérissement consécutif à l'expression de la maladie du dépérissement du pin

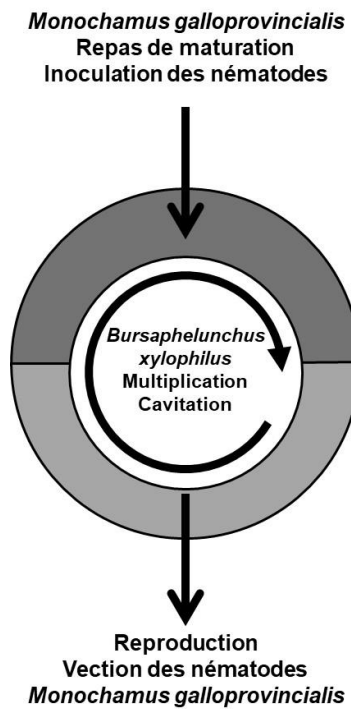
|                         |
|-------------------------|
| <i>Pinus nigra</i>      |
| <i>Pinus pinaster</i>   |
| <i>Pinus radiata</i>    |
| <i>Pinus sylvestris</i> |

L'absence de dépérissement dans les forêts de pin d'Alep (*P. halepensis*) n'a pas été démontrée car ces forêts n'ont pas encore été contaminées par le nématode en Péninsule Ibérique. Leur sensibilité est cependant très probable compte tenu des résultats des essais au laboratoire et de la forte densité de l'insecte vecteur dans ces peuplements forestiers.

#### 4. Essences sensibles au nématode du pin et son insecte vecteur en Europe

Nous avons ensuite combiné les informations sur la sensibilité des espèces de conifères au nématode du pin d'un côté et à son insecte vecteur (*M. galloprovincialis*) de l'autre pour proposer une catégorisation de la résistance des essences à la maladie du dépérissement du pin (pine wilt disease).

Pour cela, nous avons considéré que la résistance pouvait s'exprimer au moment du repas de maturation de l'insecte vecteur (c'est-à-dire lors de la phase principale de transmission du nématode à l'arbre), puis lors de la phase de multiplication des nématodes dans l'arbre, et enfin lors de la reproduction de l'insecte vecteur dans l'arbre contaminé duquel il peut ressortir en étant porteur des nématodes (Fig.5).



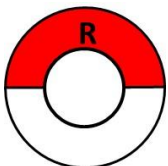
**Figure 5 :** Schéma conceptuel pour catégoriser les essences forestières en fonction de leur niveau de sensibilité à la maladie du flétrissement due aux infections du nématode *Bursaphelenchus xylophilus* transmis par l'insecte vecteur *Monochamus galloprovincialis*.

Nous avons ainsi défini 5 catégories d'espèces de conifères :

| Catégorie 1  | Catégorie 2  | Catégorie 3  | Catégorie 4               | Catégorie 5   |
|--------------|--------------|--------------|---------------------------|---------------|
|              |              |              |                           |               |
| Non sensible | Non sensible | Non sensible | Sensibilité intermédiaire | Très sensible |

La description de chacune des catégories figure ci-dessous (R : résistant ; I : intermédiaire ; S : sensible).

• Catégorie 1. Essences non sensibles en raison de leur statut d'espèce non-hôte pour l'insecte vecteur lors du repas de maturation

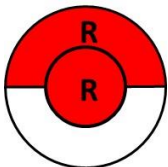


54 espèces (Tab. 7)

**Tableau 7.** Essences non sensibles en raison de leur statut d'espèce non-hôte pour l'insecte vecteur lors du repas de maturation.

|                                   |                            |
|-----------------------------------|----------------------------|
| <i>Abies amabilis</i>             | <i>Pinus densiflora</i>    |
| <i>Abies balsamea</i>             | <i>Pinus echinata</i>      |
| <i>Abies firma</i>                | <i>Pinus engelmannii</i>   |
| <i>Abies grandis</i>              | <i>Pinus jeffreyi</i>      |
| <i>Abies sachalinensis</i>        | <i>Pinus kesiya</i>        |
| <i>Cedrus atlantica</i>           | <i>Pinus koraiensis</i>    |
| <i>Cedrus deodara</i>             | <i>Pinus lambertiana</i>   |
| <i>Chamaecyparis lawsonia</i>     | <i>Pinus leilophylla</i>   |
| <i>Chamaecyparis nootkatensis</i> | <i>Pinus luchuensis</i>    |
| <i>Larix decidua</i>              | <i>Pinus massoniana</i>    |
| <i>Larix kaempferi</i>            | <i>Pinus montezumae</i>    |
| <i>Larix laricina</i>             | <i>Pinus monticola</i>     |
| <i>Larix occidentalis</i>         | <i>Pinus muricata</i>      |
| <i>Picea engelmannii</i>          | <i>Pinus oocarpa</i>       |
| <i>Picea glauca</i>               | <i>Pinus palustris</i>     |
| <i>Picea jezoensis</i>            | <i>Pinus patula</i>        |
| <i>Picea mariana</i>              | <i>Pinus pentaphylla</i>   |
| <i>Picea orientalis</i>           | <i>Pinus ponderosa</i>     |
| <i>Picea pungens</i>              | <i>Pinus pungens</i>       |
| <i>Picea rubens</i>               | <i>Pinus resinosa</i>      |
| <i>Picea sitchensis</i>           | <i>Pinus rudis</i>         |
| <i>Pinus ayacahuite</i>           | <i>Pinus strobiformis</i>  |
| <i>Pinus banksiana</i>            | <i>Pinus strobus</i>       |
| <i>Pinus bungeana</i>             | <i>Pinus tabulaeformis</i> |
| <i>Pinus caribaea</i>             | <i>Pinus thunbergii</i>    |
| <i>Pinus contorta</i>             | <i>Pinus wallichiana</i>   |
| <i>Pinus cooperi</i>              | <i>Pinus yunnanensis</i>   |

• Catégorie 2. Essences non sensibles en raison de leur statut d'espèce non-hôte pour l'insecte vecteur lors du repas de maturation et de leur résistance directe au nématode du pin

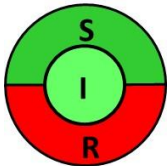


11 espèces (Tab. 8)

**Tableau 8.** Essences non sensibles en raison de leur statut d'espèce non-hôte pour l'insecte vecteur lors du repas de maturation et de leur résistance directe au nématode du pin.

|                             |
|-----------------------------|
| <i>Pinus clausa</i>         |
| <i>Pinus eliottii</i>       |
| <i>Pinus rigida</i>         |
| <i>Pinus virginiana</i>     |
| <i>Pinus fenzeliana</i>     |
| <i>Pinus morrisonicola</i>  |
| <i>Pinus taiwanensis</i>    |
| <i>Pinus canariensis</i>    |
| <i>Thuja plicata</i>        |
| <i>Cupressus lusitanica</i> |
| <i>Taxus baccata</i>        |

• Catégorie 3. Essences non sensibles en raison de leur statut d'espèce ne permettant pas la reproduction de l'insecte vecteur



4 espèces (Tab. 9)

**Tableau 9.** Essences non sensibles en raison de leur statut d'espèce ne permettant pas la reproduction de l'insecte vecteur.

|                                 |
|---------------------------------|
| <i>Pinus peuce</i>              |
| <i>Pinus pinea</i>              |
| <i>Pinus taeda</i> ?*           |
| <i>Pseudotsuga menziesii</i> ?* |

\* la résistance de l'essence à l'étape de reproduction de l'insecte vecteur est peu ou pas formellement établie

Il faut noter trois cas particuliers pour cette catégorie :

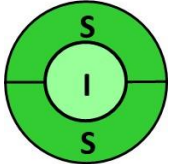
Comme indiqué plus haut, malgré l'obtention de descendants viables de *M. galloprovincialis* lors d'une étude réalisée sur rondins de pin parasol au laboratoire (Sanchez-Husillos *et al.*, 2013), aucun signe de dépérissement n'a jamais été observé dans la nature dans les forêts de cette essence. Nous considérons donc le pin parasol comme non sensible à *M. galloprovincialis*, probablement pour des raisons de répulsion olfactive et/ou une incapacité de l'insecte à se reproduire sur cette essence.

Une publication indique l'incapacité de *M. galloprovincialis* à produire une descendance en élevage au laboratoire sur des rondins de Douglas (Naves *et al.*, 2006). Il conviendrait de confirmer ce résultat en renouvelant l'expérience dans d'autres conditions.

La reproduction de l'insecte sur *P. taeda* n'a pas été formellement testée en Europe, notamment via des élevages au laboratoire. Le fait de piéger des *M. galloprovincialis* dans des plantations de *P. taeda* en Aquitaine (données INRA) et la capacité de reproduction de deux espèces

américaines *M. carolinensis* (Kinn et Linit, 1992) et *M. titillator* (Dodds et Stephen, 2000) laissent cependant penser que cette reproduction est possible. Il conviendrait de le vérifier.

**• Catégorie 4. Essences de sensibilité intermédiaire car essences hôtes pour l'insecte vecteur et de sensibilité intermédiaire vis-à-vis du nématode**



2 espèces (Tab. 10)

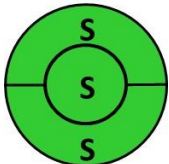
**Tableau 10.** Essences de sensibilité intermédiaire car essences hôtes pour l'insecte vecteur et de sensibilité intermédiaire vis-à-vis du nématode.

|                         |
|-------------------------|
| <i>Pinus halepensis</i> |
| <i>Pinus taeda</i> ?*   |

\* la sensibilité de l'essence à l'étape de reproduction de l'insecte vecteur n'est pas formellement établie

Voir remarque plus haut pour le cas du pin taeda. De plus, des essais en conditions contrôlées ont démontré une capacité modérée mais effective du nématode à se multiplier dans les tissus de *P. taeda* (données INRA non publiées ; voir aussi Linit *et al.*, 1993 ; Kinn *et al.*, 1992) et à se déplacer dans ses tissus (Menendez-Gutierrez *et al.*, 2017).

**• Catégorie 5. Essences très sensibles car essences hôtes pour l'insecte vecteur et de sensibilité forte vis-à-vis du nématode**



4 espèces (Tab. 11)

**Tableau 11.** Essences très sensibles car essences hôtes pour l'insecte vecteur et de sensibilité forte vis-à-vis du nématode.

|                         |
|-------------------------|
| <i>Pinus pinaster</i>   |
| <i>Pinus sylvestris</i> |
| <i>Pinus nigra</i>      |
| <i>Pinus radiata</i>    |

Ces quatre espèces de pin ont déjà subi des dépérissements *in natura* (Portugal et Espagne) liés à la maladie du flétrissement (PWD).

Les résultats de la sensibilité des essences de conifères sont récapitulés dans le tableau 12.



**Tableau 12.** Récapitulatif de la sensibilité des essences de conifères.

| Espèces   | Catégorie 1 | Catégorie 2 | Catégorie 3 | Catégorie 4 | Catégorie 5 |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Hôte insecte<br>Nématode<br>Reproduction<br>Insecte |             |             |             |             |             |
| <i>Abies amabilis</i>                               | X           |             |             |             |             |
| <i>Abies balsamea</i>                               | X           |             |             |             |             |
| <i>Abies firma</i>                                  | X           |             |             |             |             |
| <i>Abies grandis</i>                                | X           |             |             |             |             |
| <i>Abies sachalinensis</i>                          | X           |             |             |             |             |
| <i>Cedrus atlantica</i>                             | X           |             |             |             |             |
| <i>Cedrus deodara</i>                               | X           |             |             |             |             |
| <i>Chamaecyparis lawsonia</i>                       | X           |             |             |             |             |
| <i>Chamaecyparis nootkatensis</i>                   | X           |             |             |             |             |
| <i>Cupressus lusitanica</i>                         |             | X           |             |             |             |
| <i>Larix decidua</i>                                | X           |             |             |             |             |
| <i>Larix kaempferi</i>                              | X           |             |             |             |             |
| <i>Larix laricina</i>                               | X           |             |             |             |             |
| <i>Larix occidentalis</i>                           | X           |             |             |             |             |
| <i>Picea engelmannii</i>                            | X           |             |             |             |             |
| <i>Picea glauca</i>                                 | X           |             |             |             |             |
| <i>Picea jezoensis</i>                              | X           |             |             |             |             |
| <i>Picea mariana</i>                                | X           |             |             |             |             |
| <i>Picea orientalis</i>                             | X           |             |             |             |             |
| <i>Picea pungens</i>                                | X           |             |             |             |             |
| <i>Picea rubens</i>                                 | X           |             |             |             |             |
| <i>Picea sitchensis</i>                             | X           |             |             |             |             |
| <i>Pinus ayacahuite</i>                             | X           |             |             |             |             |
| <i>Pinus banksiana</i>                              | X           |             |             |             |             |
| <i>Pinus bungeana</i>                               | X           |             |             |             |             |
| <i>Pinus canariensis</i>                            |             | X           |             |             |             |
| <i>Pinus caribaea</i>                               | X           |             |             |             |             |
| <i>Pinus clausa</i>                                 |             | X           |             |             |             |
| <i>Pinus contorta</i>                               | X           |             |             |             |             |
| <i>Pinus cooperi</i>                                | X           |             |             |             |             |
| <i>Pinus densiflora</i>                             | X           |             |             |             |             |
| <i>Pinus echinata</i>                               | X           |             |             |             |             |
| <i>Pinus elliotii</i>                               |             | X           |             |             |             |
| <i>Pinus engelmannii</i>                            | X           |             |             |             |             |
| <i>Pinus fenzeliana</i>                             |             | X           |             |             |             |
| <i>Pinus halepensis</i>                             |             |             |             | X           |             |
| <i>Pinus jeffreyi</i>                               | X           |             |             |             |             |

|                              |   |   |   |   |   |
|------------------------------|---|---|---|---|---|
| <i>Pinus kesiya</i>          | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus koraiensis</i>      | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus lambertiana</i>     | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus leilophylla</i>     | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus luchuensis</i>      | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus massoniana</i>      | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus montezumae</i>      | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus monticola</i>       | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus morrisonicola</i>   |   | X |   |   |   |
| <i>Pinus muricata</i>        | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus nigra</i>           |   |   |   |   | X |
| <i>Pinus oocarpa</i>         | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus palustris</i>       | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus patula</i>          | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus pentaphylla</i>     | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus peuce</i>           |   |   | X |   |   |
| <i>Pinus pinaster</i>        |   |   |   |   | X |
| <i>Pinus pinea</i>           |   |   | X |   |   |
| <i>Pinus ponderosa</i>       | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus pungens</i>         | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus radiata</i>         |   |   |   |   | X |
| <i>Pinus resinosa</i>        | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus rigida</i>          |   | X |   |   |   |
| <i>Pinus rudis</i>           | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus strobiformis</i>    | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus strobus</i>         | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus sylvestris</i>      |   |   |   |   | X |
| <i>Pinus tabulaeformis</i>   | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus taeda</i>           |   |   | X | X |   |
| <i>Pinus taiwanensis</i>     |   | X |   |   |   |
| <i>Pinus thunbergii</i>      | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus virginiana</i>      |   | X |   |   |   |
| <i>Pinus wallichiana</i>     | X |   |   |   |   |
| <i>Pinus yunnanensis</i>     | X |   |   |   |   |
| <i>Pseudotsuga menziesii</i> |   |   | X |   |   |
| <i>Taxus baccata</i>         |   | X |   |   |   |
| <i>Thuja plicata</i>         |   | X |   |   |   |

## 5. Conclusion

En l'état actuel des connaissances, il n'existe pas d'espèce de pin implantée en Europe qui soit résistante à *B. xylophilus*, même si certaines sont moins favorables à la multiplication du nématode. En cas de foyer, le risque de propagation de la maladie étant directement lié à la capacité de l'insecte vecteur à transmettre le nématode d'arbre en arbre, il est recommandé d'éliminer en priorité les essences sur lesquelles *M. galloprovincialis* est capable d'effectuer son cycle biologique complet, c'est-à-dire avec certitude celles appartenant à la catégorie 5 (pin maritime, pin sylvestre, pin noir et pin radiata) et probablement celles de la catégorie 4 (pin d'Alep et pin taeda). Pour *P. pinea*, les données disponibles en péninsule ibérique nous amènent à conclure que le risque de dépérissement *in natura* est faible. Pour *P. taeda*, des incertitudes

demeurent dans la littérature, à la fois vis-à-vis de la multiplication du nématode, de l'expression des symptômes de dépérissement et de la capacité de l'insecte à se nourrir et à se reproduire sur cette essence. En particulier, on ne peut exclure l'hypothèse que *P. taeda* joue le rôle de « porteur sain » de la maladie. Par analogie, il convient de rappeler que d'autres espèces du genre *Bursaphelenchus* (par exemple, *B. mucronatus*) sont fréquemment détectées dans les forêts de conifères en Europe sans déclencher de symptômes de flétrissement (D'Errico *et al.*, 2015). Des études complémentaires sont nécessaires pour préciser ces différents aspects.

**(iv) Adaptation des méthodes de détection de *Bursaphelenchus xylophilus* à tous les supports de culture et en particulier au terreau.**

En France, dans le cadre du plan de surveillance du territoire, trois méthodes d'analyse pour la détection de *B. xylophilus* ont été mises au point et validées par l'unité de nématologie du Laboratoire de la Santé des Végétaux de l'ANSES puis officialisées par le Ministère en charge de l'Agriculture. Dans la liste qui suit, elles concernent la détection du nématode du pin dans le bois pour les deux premières et dans l'insecte vecteur pour la dernière :

- Une méthode dite « de screening » par PCR temps réel déléguée à des laboratoires agréés (ANSES/LSV/MA020 version 3, 2017). Cette méthode se base sur les outils PCR en temps réel décrits dans les publications de François *et al.* (2007) et Ios *et al.* (2009).
- Une méthode d'identification morphologique, suivie d'une analyse PCR conventionnelle sur individus isolés (ANSES/LSV/MA051 version 2, 2019). Cette méthode est mise en œuvre uniquement au LSV, pour l'analyse des bois d'importation et pour les confirmations d'échantillons trouvés positifs par les laboratoires agréés quel que soit la matrice analysée. Elle a été mise au point à partir des outils publiés par Braasch (2008), OEPP (2009) pour la partie morphologie et par Matsunaga et Togashi (2004) pour la partie PCR.
- Une méthode de détection du nématode dans l'insecte (ANSES/LSV/MA057 version 2, 2018) basée sur la méthode de PCR temps réel déjà décrite dans la méthode ANSES/LSV/MA020. Cette méthode est déléguée à des laboratoires agréés par le ministère en charge de l'agriculture depuis mai 2019.

La première étape de l'analyse, commune aux deux méthodes d'analyse à partir du bois, consiste à extraire les nématodes de leur matrice. La méthode d'extraction recommandée dite « méthode par migration » ou « Oostenbrink dish » (OEPP, 2013), consiste en un trempage des échantillons dans l'eau pendant 24h puis récupération des nématodes par filtration. L'extrait ainsi obtenu est utilisé ensuite pour les analyses de détection.

Cette méthode de migration est adaptée à l'extraction des nématodes libres à partir de toutes matrices dont le terreau.

La méthode d'analyse par identification morphologique et PCR conventionnelle (ANSES/LSV/MA051) est adaptée à la recherche de *B. xylophilus* à partir de l'extrait obtenu après migration de toutes matrices dont le terreau. Cependant, la partie « identification morphologique » de cette méthode reste réservée à des spécialistes.

En revanche, l'analyse par PCR temps réel (méthode de screening ANSES/LSV/MA020) n'a pas été testée et validée pour une matrice autre que le bois ou les insectes (risque de réactions croisées par exemple).

**(v) La période d'incubation nécessaire à la mise en œuvre des tests de détection de *Bursaphelenchus xylophilus*.**

La durée du cycle de vie de *B. xylophilus* est de 4 à 5 jours à 25°C (Takemoto, 2008). Aussi, une incubation de 14 jours à 25°C des échantillons de bois est préconisée avant analyse afin de favoriser la multiplication des nématodes éventuellement présents et ainsi d'optimiser leur détection.

L'incubation peut être évitée dans les cas où la réponse à l'analyse est urgente, par exemple dans le cas d'applications de mesures d'urgence ou de palettes bloquées en douane. Pour cette raison, les emballages et bois contrôlés à l'import ne subissent pas l'étape d'incubation. Il en résulte cependant une diminution de la sensibilité de détection.

#### **4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE**

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du groupe de travail et du CES et recommande que :

- les cargaisons d'écorces ne contiennent pas de morceaux de bois (d'essences sensibles) supérieurs en taille aux dimensions 3 cm × 3 cm × 3 cm ;
- en cas de gestion de foyer de nématode du pin, d'éliminer en priorité les essences sur lesquelles *Monochamus galloprovincialis* est capable d'effectuer son cycle biologique complet, c'est-à-dire avec certitude, celles appartenant à la catégorie 5 (pin maritime, pin sylvestre, pin noir et pin radiata), et probablement celles de la catégorie 4 (pin d'Alep et pin taeda) ;
- des études complémentaires soient menées afin de vérifier si le pin tadea peut être porteur sain de *B. xylophilus*.

Enfin, l'Agence souligne que, dans le cas d'un test réalisé en urgence, la possibilité de détection de *B. xylophilus* sera diminuée en l'absence de l'étape analytique incluant une période d'incubation.

Dr Roger Genet

## MOTS-CLÉS

*Bursaphelenchus xylophilus*, *Monochamus galloprovincialis*, nématode du pin, essences de conifères, sensibilité, méthodes d'analyse.

*Bursaphelenchus xylophilus*, *Monochamus galloprovincialis*, pinewood nematode, coniferous species, susceptibility, analysis methods.

## BIBLIOGRAPHIE

Álvarez G., Etxebeste I., Gallego D., David G., Bonifacio L., Jactel H., Sousa E. and Pajares JA. (2015) Optimization of traps for live trapping of Pine Wood Nematode vector *Monochamus galloprovincialis*. *Journal of Applied Entomology*, 139(8), 618-626.

Alvarez G., Gallego D., Hall DR., Jactel H. and Pajares JA. (2016) Combining pheromone and kairomones for effective trapping of the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis*. *Journal of applied entomology*, 140(1-2), 58-71.

ANSES/LSV/MA020 version 3 (2017) Détection de *Bursaphelenchus xylophilus* par PCR temps réel sur bois de conifères. [https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES\\_LSV\\_MA020\\_V3.pdf](https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES_LSV_MA020_V3.pdf)

ANSES/LSV/MA051 version 2 (2019) Détection et identification par analyse morphologique et biomoléculaire du nématode du pin *Bursaphelenchus xylophilus*. [https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES\\_LSV\\_MA051\\_V2.pdf](https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES_LSV_MA051_V2.pdf)

ANSES/LSV/MA057 version 2 (2018) Détection de *Bursaphelenchus xylophilus* par PCR temps réel dans un groupe d'insectes vecteurs. [https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES\\_LSV\\_MA057\\_V2.pdf](https://www.anses.fr/fr/system/files/ANSES_LSV_MA057_V2.pdf).

Braasch H. (2008) The enlargement of the *xylophilus* group in the genus *Bursaphelenchus*. In: *Pine wilt disease: A worldwide threat to forest ecosystems*. Mota M. and Vieira P., Eds. Springer, 139-149.

Da Silva MN., Solla A., Sampedro L., Zas R. and Vasconcelos MW. (2015) Susceptibility to the pinewood nematode (PWN) of four pine species involved in potential range expansion across Europe. *Tree Physiology* 35, 987-999.

David G., Giffard B., Piou D. and Jactel H. (2014) Dispersal capacity of *Monochamus galloprovincialis*, the European vector of the pine wood nematode, on flight mills. *Journal of Applied Entomology*, 138(8), 566-576.

David G., Giffard B., Piou D., Roques A. and Jactel H. (2017) Potential effects of climate warming on the survivorship of adult *Monochamus galloprovincialis*. *Agricultural and forest entomology*, 19(2), 192-199.

- David G., Giffard B., Van Halder I., Piou D. and Jactel H. (2015) Energy allocation during the maturation of adults in a long-lived insect: implications for dispersal and reproduction. *Bulletin of entomological research*, 105(5), 629-636.
- D'Errico G., Carletti B., Schröder T., Mota M., Vieira P. and Roversi PF. (2015) An update on the occurrence of nematodes belonging to the genus *Bursaphelenchus* in the Mediterranean area. *Forestry*, 88 : 509-520.
- Dodds KJ. and Stephen FM. (2000) Partial age-specific life tables for *Monochamus titillator* in *Dendroctonus frontalis* infested loblolly pines. *Entomologia experimentalis et applicata*, 97(3), 331-338.
- Evans HF., McNamara DG., Braasch H., Chadoeuf J. and Magnusson C. (1996) Pest Risk Analysis (PRA) for the territories of the European Union (as PRA area) on *Bursaphelenchus xylophilus* and its vectors in the genus *Monochamus*. *EPPO Bulletin*, 26, 199-249.
- Fonseca L., Cardoso J. and Abrantes I. (2015) Plant-Nematode. In: *Pine Wilt Disease in Europe: Biological Interactions and Integrated Management*. E. Sousa, F. Vale and I. Abrantes (Eds.). FNAPF, Lisboa, Portugal, 33-78.
- Forge TA. and Sutherland JR. (1996a) Distribution and reproduction of *Bursaphelenchus xylophilus* populations in wood and bark of western North American conifers. *Fundamental and Applied Nematology*, 19, 341-347.
- Forge TA. and Sutherland JR. (1996b) Population dynamics of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in excised branch segments of western North American conifers. *Fundamental and Applied Nematology*, 19, 349-356.
- Franco AR., Santos C., Roriz M., Rodrigues R., Lima MRM. and Vasconcelos MW. (2011) Study of symptoms and gene expression in four *Pinus* species after pinewood nematode infection. *Plant Genetic Resources*, 9, 272-275.
- François C., Castagnone C., Boonham N., Tomlison J., Lawson R., Hockland S., Quill J., Vieira P., Mota M. and Castagnone-Sereno P. (2007) Satellite DNA as target for Taqman realtime PCR detection of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Molecular plant pathology*, 8 (6), 803-809.
- Futai K. (2013) Pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Annual Review of Phytopathology*, 51, 61-83.
- Giffard B., David G., Joubard B., Piou D. and Jactel H. (2017) How do sex and sexual maturation influence the response of *Monochamus galloprovincialis* to host odours ?. *Journal of applied entomology*, 141(7), 551-560.
- Ioos R., Fourrier C., Iancu G. and Gordon TR. (2009) Sensitive detection of *Fusarium circinatum* in pine seed combining an enrichment procedure with a real-time polymerase chain reaction using dual-labeled probe chemistry. *Phytopathology*, 99, 582-590.
- Jactel H., Bonifacio L., Van Halder I., Vétillard F., Robinet C. and David G. (2019) A novel, easy method for estimating pheromone trap attraction range: application to the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis*. *Agricultural and Forest Entomology*, 21(1), 8-14.

- Kinn DN. and Linit MJ. (1992) Temporal relationship between southern pine beetle (Coleoptera: Scolytidae) and pinewood nematode Infestations in southern pines. *Journal of entomological science*, 27(3), 194-201.
- Koutroumpa FA., Sallé A., Lieutier F. and Roux-Morabito G. (2009) Feeding and oviposition preferences of *Monochamus galloprovincialis* on its main hosts *Pinus sylvestris* and *Pinus pinaster*. *Entomologia Hellenica*, 18, 35-46.
- Koutroumpa FA., Vincent B., Roux-Morabito G., Martin C. and Lieutier F. (2008) Fecundity and larval development of *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera Cerambycidae) in experimental breeding. *Annals of Forest Science*, 65(7), 1.
- Kuroda K., Yamada T. and Ito S. (1991) *Bursaphelenchus xylophilus* induced pine wilt: factors associated with resistance. *Forest Pathology*, 21, 430-438.
- Linit MJ. and Kinn ND. (1993) Influence of Pinewood Nematode (Nematoda: Aphelenchoididae) Infection on the Preformed Defensive Response of Loblolly Pine, *Environmental Entomology*, 22(6), 1285–1293, <https://doi.org/10.1093/ee/22.6.1285>.
- Luzzi MA., Wilkinson RC. and Tarjan AC. (1984) Transmission of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, to slash pine trees and log bolts by a cerambycid beetle, *Monochamus titillator*, in Florida. *Journal of Nematology*, 16, 37-40.
- Malek RB. and Appleby JE. (1984) Epidemiology of pine wilt in Illinois. Disease distribution. *Plant Disease*, 68, 180-186.
- Mamiya Y. (1976) Pine wilting disease caused by the pine wood nematode, *Bursaphelenchus lignicolus*, in Japan. *Japanese Journal of Agricultural Research*, 10, 206-211.
- Matsunaga K. and Togashi K. (2004) A simple method for discriminating *Bursaphelenchus xylophilus* and *B. mucronatus* by species-specific polymerase chain reaction. *Nematology*, 6 (2), 273-277.
- Menendez-Gutierrez M., Alonso M., Jimenez E., Toval G., Mansilla P., Abelleira A., Abelleira-Sanmartin A. and Diaz R. (2018) Interspecific variation of constitutive chemical compounds in *Pinus* spp. xylem and susceptibility to pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *European Journal of Plant Pathology*, 150, 939-953.
- Menéndez-Gutiérrez M., Matsunaga K. and Togashi K. (2017) Relationship between pine wilt-tolerance rankings of *Pinus thunbergii* trees and the number of *Bursaphelenchus xylophilus* passing through branch sections. *Nematology*, 19(9), 1083-1093.
- Naves PM., Camacho S., De Sousa EM. and Quartau JA. (2007) Transmission of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* through feeding activity of *Monochamus galloprovincialis* (Col., Cerambycidae). *Journal of Applied Entomology*, 131(1), 21-25.
- OEPP/EPPO. (2013) PM 7/119 (1) Nematodes extraction. *Bulletin OEPP/EPPO*, 43(3), 471-495.
- OEPP/EPPO. (2009) PM 7/4 (2) Normes de diagnostic pour les organismes règlementés : *Bursaphelenchus xylophilus*. *Bulletin OEPP/EPPO*, 39, 344-353.
- Robinet C., David G. and Jactel H. (2019) Modeling the distances traveled by flying insects based on the combination of flight mill and mark-release-recapture experiments. *Ecological Modelling*, 402, 85-92.

Sanchez-Husillos E., Alvarez-Baz G., Etxebeste IA. and Pajares JA. (2013) Shoot feeding, oviposition, and development of *Monochamus galloprovincialis* on *Pinus pinea* relative to other pine species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 149(1), 1-10.

Sousa E., Vale F. and Abrantes I. (Eds.). (2015) Pine wilt disease in Europe : Biological interactions and integrated management. FNAPF.

Takemoto S. (2008) Population ecology of *Bursaphelenchus xylophilus*. In: Pine wilt disease (Ed. by Zhao B.G., Futai K., Sutherland J.R. and Takeuchi Y.), 105-122. Tokyo Springer: 459 p.

Torrini G., Strangi A., Paoli F., Binazzi F., Camerota M., Pennacchio F. and Roversi PF. (2017) A new phoretic association: *Bursaphelenchus minutus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae) and *Orthotomicus erosus* (Coleoptera: Scolitydae) recorded on *Pinus pinea* (L.). *Scandinavian Journal of Forest Research*, 32, 455-458.

Zhao BG., Futai K., Sutherland JR. and Takeuchi Y. (Eds.). (2008) Pine wilt disease (459 p). Tokyo: Springer.



## ANNEXE 1

### Présentation des intervenants

**PRÉAMBULE** : Les experts membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

#### GROUPE DE TRAVAIL

---

##### Président

M. Philippe CASTAGNONE – Directeur de recherche, INRA PACA, Nématologiste.

##### Membres

M. Bernard BOUTTE, Expert national, DSF Avignon, Forestier.

M. Jean-Marc HENIN, Attaché scientifique, SPW Laboratoire de technologie du bois, Technologie du bois.

M. Hervé JACTEL – Directeur de recherche, INRA Bordeaux, Entomologie.

Mme Corinne SARNIGUET – Chargée de projet scientifique, Anses Rennes, Nématologie

.....

#### COMITÉ D'EXPERTS SPÉCIALISÉ

---

Les travaux, objets du présent rapport ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

CES Risques Biologiques pour la Santé des Végétaux – septembre 2018 – septembre 2021

##### Président

M. Thomas LE BOURGEOIS – Directeur de recherche, CIRAD, Malherbologie

##### Membres

Mme Marie-Hélène BALESDENT – Directrice de recherche, INRA, Mycologie

Mme Françoise BINET – Directrice de recherche, CNRS, Ecologie fonctionnelle

M. Antonio BIONDI – Chercheur, Université de Catane, Entomologiste

M. Philippe CASTAGNONE – Directeur de recherche, INRA, Nématologie

Mme Péninna DEBERDT – Chargé de recherche, CIRAD, Phytopathologie

M. Nicolas DESNEUX – Directeur de recherche, INRA, Écotoxicologie  
Mme DESPREZ LOUSTAU – Directrice de recherche, INRA, Mycologie  
M. Abraham ESCOBAR-GUTIERREZ – Directeur de recherche, INRA, Agronomie  
M. Laurent GENTZBITTEL – Professeur, ENSAT, Génétique de l'interaction plante microorganisme  
M. Hervé JACTEL – Directeur de recherche, INRA, entomologiste forestier  
M. David MAKOWSKI – Directeur de recherche, INRA, Agronomie  
M. Arnaud MONTY – Professeur, Université de Liège, Écologie des plantes envahissantes  
Mme Maria NAVAJAS – Directrice de recherche, INRA, Acarologie  
M. Xavier NESME – Ingénieur de recherche, INRA, Bactériologie  
M. Stéphan STEYER – Attaché scientifique, CRA-W, Virologie  
M. Éric VERDIN – Ingénieur de recherche, INRA, Virologie  
M. François VERHEGGEN – Professeur, Université de liège, Entomologie  
M. Thierry WETZEL – DLR Rheinpfalz, Institute of Plant Protection, Virologie  
.....

#### **PARTICIPATION ANSES**

---

##### **Coordination scientifique**

M. Xavier TASUS – Coordinateur scientifique – Anses

#### **AUDITION DE PERSONNALITÉS EXTÉRIEURES**

---

M. Luis BONIFACIO – Chercheur en entomologie forestière, INIAV (Portugal)  
M. Emmanuel KERSAUDY – Technicien forestier et personne ressource nématode du pin, DSF (Bordeaux)  
.....

## ANNEXE 2

Liste des références identifiées après interrogation de la base de données bibliographiques Web of Science (Wos). Les essences de conifères non listées ci-dessous n'ont pas donné lieu à l'obtention de références après interrogation de Wos.

### ***Pinus radiata* (Radiata pine)**

1 Naves PM., De Sousa EM. and Quartau JA. (2006) Feeding and oviposition preferences of *Monochamus galloprovincialis* for certain conifers under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 120(2), 99-104.

2 Zamora P., Rodríguez V., Renedo F., Sanz AV., Domínguez JC., Pérez-Escolar G., Miranda J., Álvarez B., González-Casas A., Mayor E., Dueñas M., Miravalles A., Navas A., Robertson L., Martín AB. (2015) First report of *Bursaphelenchus xylophilus* causing pine wilt disease on *Pinus radiata* in Spain. *Plant Disease* 99(10), p 1449.

### ***Pseudotsuga menziesii* (Douglas fir)**

1 Naves PM., De Sousa EM. and Quartau JA. (2006) Feeding and oviposition preferences of *Monochamus galloprovincialis* for certain conifers under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 120(2), 99-104.

### ***Picea abies* (Norway spruce)**

1 Jurc M., Bojovic S., Fernández MF. and Jurc D. (2012) The attraction of cerambycids and other xylophagous beetles, potential vectors of *Bursaphelenchus xylophilus*, to semio-chemicals in Slovenia. *Phytoparasitica*, 40(4), 337-349.

### ***Pinus nigra* (Black pine)**

Akbulut S. (2009) Comparison of the reproductive potential of *Monochamus galloprovincialis* on two pine species under laboratory conditions. *Phytoparasitica*, 37(2), 125-135.

Akbulut S., Keten A. and Stamps WT. (2008) Population dynamics of *Monochamus galloprovincialis* Olivier (Coleoptera: Cerambycidae) in two pine species under laboratory conditions. *Journal of pest science*, 81(2), 115-121.

Akbulut S., Keten A., Baysal I. and Yüksel B. (2007) The effect of log seasonality on the reproductive potential of *Monochamus galloprovincialis* Olivier (Coleoptera: Cerambycidae) reared in black pine logs under laboratory conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 31(6), 413-422.

Inácio ML., Nobrega F., Vieira P., Bonifacio L., Naves P., Sousa E. and Mota M. (2015). First detection of *Bursaphelenchus xylophilus* associated with *Pinus nigra* in Portugal and in Europe. *Forest pathology*, 45(3), 235-238.

Jurc M., Bojovic S., Fernández MF. and Jurc D. (2012) The attraction of cerambycids and other xylophagous beetles, potential vectors of *Bursaphelenchus xylophilus*, to semio-chemicals in Slovenia. *Phytoparasitica*, 40(4), 337-349.

Jurc M., Hauptman T., Pavlin R. and Borkovič D. (2016) Target and non-target beetles in semiochemical-baited cross vane funnel traps used in monitoring *Bursaphelenchus xylophilus* (PWN) vectors in pine stands. *Phytoparasitica*, 44(2), 151-164.

Rassati D., Toffolo EP., Battisti A. and Faccoli M. (2012). Monitoring of the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis* by pheromone traps in Italy. *Phytoparasitica*, 40(4), 329-336.

Sanchez-Husillos E., Alvarez-Baz G., Etxebeste IA. and Pajares JA. (2013) Shoot feeding, oviposition, and development of *Monochamus galloprovincialis* on *Pinus pinea* relative to other pine species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 149(1), 1-10.

### ***Pinus halepensis* (Aleppo pine)**

Đođ N., Lukić I., Čota E. and Pernek M. (2016) Wood nematode species spectrum in the Mediterranean pine forests of Croatia. *Periodicum biologorum*, 117(4), 505-512.

Etxebeste I., Sanchez-Husillos E., Álvarez G., Mas i Gisbert H. and Pajares J. (2016). Dispersal of *Monochamus galloprovincialis* (Col.: Cerambycidae) as recorded by mark–release–recapture using pheromone traps. *Journal of applied entomology*, 140(7), 485-499.

Ibeas F., Gallego D., Diez JJ. and Pajares JA. (2007) An operative kairomonal lure for managing pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerymbycidae). *Journal of Applied Entomology*, 131(1), 13-20.

Pajares JA., Álvarez G., Ibeas F., Gallego D., Hall DR. and Farman DI. (2010). Identification and field activity of a male-produced aggregation pheromone in the pine sawyer beetle, *Monochamus galloprovincialis*. *Journal of Chemical Ecology*, 36(6), 570-583.

Pajares JA., Ibeas F., Diez JJ. and Gallego D. (2004). Attractive responses by *Monochamus galloprovincialis* (Col., Cerambycidae) to host and bark beetle semiochemicals. *Journal of Applied Entomology*, 128(9-10), 633-638.

### ***Pinus pinea* (stone pine)**

Naves PM., De Sousa EM. and Quartau JA. (2006) Feeding and oviposition preferences of *Monochamus galloprovincialis* for certain conifers under laboratory conditions. *Experimentalis et Applicata* 120: 99–104. *Entomologia*.

Sanchez-Husillos E., Alvarez-Baz G., Etxebeste IA. and Pajares JA. (2013) Shoot feeding, oviposition, and development of *Monochamus galloprovincialis* on *Pinus pinea* relative to other pine species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 149(1), 1-10.

Sanchez-Husillos E., Etxebeste I. and Pajares J. (2015) Effectiveness of mass trapping in the reduction of *Monochamus galloprovincialis* Olivier (Col.: Cerambycidae) populations. *Journal of Applied Entomology*, 139(10), 747-758.

### ***Pinus sylvestris* (Scots pine)**

Akbulut S. (2009) Comparison of the reproductive potential of *Monochamus galloprovincialis* on two pine species under laboratory conditions. *Phytoparasitica*, 37(2), 125-135.

Akbulut S., Keten A. and Stamps WT. (2008) Population dynamics of *Monochamus galloprovincialis* Olivier (Coleoptera: Cerambycidae) in two pine species under laboratory conditions. *Journal of pest science*, 81(2), 115-121.

- Akbulut S., Keten A., Baysal I. and Yüksel B. (2007) The effect of log seasonality on the reproductive potential of *Monochamus galloprovincialis* Olivier (Coleoptera: Cerambycidae) reared in black pine logs under laboratory conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 31(6), 413-422.
- Foit J. and Čermák V. (2014) Colonization of disturbed Scots pine trees by bark-and wood-boring beetles. Agricultural and forest entomology, 16(2), 184-195.
- Jurc M., Bojovic S., Fernández MF. and Jurc D. (2012) The attraction of cerambycids and other xylophagous beetles, potential vectors of *Bursaphelenchus xylophilus*, to semio-chemicals in Slovenia. Phytoparasitica, 40(4), 337-349.
- Jurc M., Hauptman T., Pavlin R. and Borkovič D. (2016) Target and non-target beetles in semiochemical-baited cross vane funnel traps used in monitoring *Bursaphelenchus xylophilus* (PWN) vectors in pine stands. Phytoparasitica, 44(2), 151-164.
- Naves PM., De Sousa EM. and Quartau JA. (2006) Feeding and oviposition preferences of *Monochamus galloprovincialis* for certain conifers under laboratory conditions. Experimentalis et Applicata 120: 99–104. Entomologia
- Rassati D., Toffolo EP., Battisti A. and Faccoli M. (2012) Monitoring of the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis* by pheromone traps in Italy. Phytoparasitica, 40(4), 329-336.
- Sanchez-Husillos E., Alvarez-Baz G., Etxebeste IA. and Pajares JA. (2013) Shoot feeding, oviposition, and development of *Monochamus galloprovincialis* on *Pinus pinea* relative to other pine species. Entomologia Experimentalis et Applicata, 149(1), 1-10.
- Sanchez-Husillos E., Etxebeste I. and Pajares J. (2015) Effectiveness of mass trapping in the reduction of *Monochamus galloprovincialis* Olivier (Col.: Cerambycidae) populations. Journal of Applied Entomology, 139(10), 747-758.
- Tomminen J. (1992) The effects of beetles on the dispersal stages of *Bursaphelenchus mucronatus* Mamiya & Enda (Nematoda: Aphelenchoididae) in wood chips of *Pinus sylvestris* L. Entomologica Fennica, 3(4), 195-203.
- Tomminen J. (1993) Development of *Monochamus galloprovincialis* Olivier (Coleoptera, Cerambycidae) in cut trees of young pines (*Pinus sylvestris* L.) and log bolts in southern Finland. Entomologica Fennica, 4(3), 137-142.
- Pinus pinaster* (Maritime pine)**
- Álvarez G., Etxebeste I., Gallego D., David G., Bonifacio L., Jactel H., Sousa E. and Pajares JA. (2015) Optimization of traps for live trapping of Pine Wood Nematode vector *Monochamus galloprovincialis*. Journal of Applied Entomology, 139(8), 618-626.
- Alvarez G., Gallego D., Hall DR., Jactel H. and Pajares JA. (2016) Combining pheromone and kairomones for effective trapping of the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis*. Journal of applied entomology, 140(1-2), 58-71.
- Alves M., Pereira A., Vicente C., Matos P., Henriques J., Lopes H., Nascimento F., Mota M., Correia A. and Henriques I. (2018) The role of bacteria in pine wilt disease: insights from microbiome analysis. FEMS microbiology ecology, 94(7), fiy077.

- Branco M., Bragança H., Sousa E. and Phillips AJ. (2014) Pests and diseases in Portuguese forestry: current and new threats. In Forest context and policies in Portugal (pp. 117-154). Springer, Cham.
- David G., Giffard B., Piou D. and Jactel H. (2014) Dispersal capacity of *Monochamus galloprovincialis*, the European vector of the pine wood nematode, on flight mills. Journal of Applied Entomology, 138(8), 566-576.
- Etxebeste I., Sanchez-Husillos E., Álvarez G., Mas i Gisbert H. and Pajares J. (2016) Dispersal of *Monochamus galloprovincialis* (Col.: Cerambycidae) as recorded by mark–release–recapture using pheromone traps. Journal of applied entomology, 140(7), 485-499.
- Jactel H., Bonifacio L., Van Halder I., Vétillard F., Robinet C. and David G. (2019) A novel, easy method for estimating pheromone trap attraction range: application to the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis*. Agricultural and Forest Entomology, 21(1), 8-14.
- Naves PM., Camacho S., De Sousa EM. and Quartau JA. (2006). Entrance and distribution of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* on the body of its vector *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae). Entomologia generalis, 29(1), 71-80.
- Naves PM., Camacho S., De Sousa EM. and Quartau JA. (2007). Transmission of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* through feeding activity of *Monochamus galloprovincialis* (Col., Cerambycidae). Journal of Applied Entomology, 131(1), 21-25.
- Naves PM., De Sousa EM. and Quartau JA. (2006) Feeding and oviposition preferences of *Monochamus galloprovincialis* for certain conifers under laboratory conditions. Experimentalis et Applicata 120: 99–104. Entomologia
- Pajares JA., Ibeas F., Diez JJ., and Gallego D. (2004) Attractive responses by *Monochamus galloprovincialis* (Col., Cerambycidae) to host and bark beetle semiochemicals. Journal of Applied Entomology, 128(9-10), 633-638.
- Rassati D., Toffolo EP., Battisti A. and Faccoli M. (2012). Monitoring of the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis* by pheromone traps in Italy. Phytoparasitica, 40(4), 329-336.
- Sanchez-Husillos E., Alvarez-Baz G., Etxebeste IA. and Pajares JA. (2013) Shoot feeding, oviposition, and development of *Monochamus galloprovincialis* on *Pinus pinea* relative to other pine species. Entomologia Experimentalis et Applicata, 149(1), 1-10.
- Sanchez-Husillos E., Etxebeste I. and Pajares J. (2015). Effectiveness of mass trapping in the reduction of *Monochamus galloprovincialis* Olivier (Col.: Cerambycidae) populations. Journal of Applied Entomology, 139(10), 747-758.
- Sousa E., Bravo MA., Pires J., Naves P., Penas AC., Bonifácio L. and Mota MM. (2001) *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda; aphelenchoididae) associated with *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera; Cerambycidae) in Portugal. Nematology, 3(1), 89-91.
- Sousa E., Naves P. and Vieira M. (2013). Prevention of pine wilt disease induced by *Bursaphelenchus xylophilus* and *Monochamus galloprovincialis* by trunk injection of emamectin benzoate. Phytoparasitica, 41(2), 143-148.
- Torres-Vila LM., Zugasti C., De-Juan JM., Oliva MJ., Montero C., Mendiola FJ., Conejo Y, Sanchez A., Fernandez F. and Espárrago G. (2014) Mark-recapture of *Monochamus galloprovincialis* with semiochemical-baited traps: population density, attraction distance, flight behaviour and mass trapping efficiency. Forestry: An International Journal of Forest Research, 88(2), 224-236.

Vicente CS., Nascimento FX., Espada M., Barbosa P., Hasegawa K., Mota M. and Oliveira S. (2013). Characterization of bacterial communities associated with the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis*, the insect vector of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*. FEMS microbiology letters, 347(2), 130-139.