

Chapitre 3. *Phengaris alcon* écotype « *alcon* » (Denis & Schiffermüller, 1775) – Azuré des mouillères des landes et prairies humides tourbeuses à paratourbeuses

Auteurs : Sandy Bulté, Pierre-Yves Gourvil, Christal Robert

Contributeurs : Bertrand Couillens, Nicolas Dejean, Anïs Dufau, Vincent Duprat, Christophe Fréchaut, Dominique Galand, Akaren Goudiaby, Gilles Granereau, Paul Haettel, Joan Hochet, Xenia Jost, Eric Lesparpe, Fanny Mallard, Séverine Marichal, Ennaloël Mateo-Espada, Justine Poujol, Mathilde Poussin, Yann Sellier, David Soulet, Paul Tourneur

Résumé : *Phengaris alcon* écotype « *alcon* », papillon rare et menacé inféodé aux landes et prairies humides, tourbeuses à paratourbeuses, voire mésophiles dans certains secteurs du Pays Basque et des Pyrénées, possède un cycle de vie qui dépend de deux hôtes : une fourmi du genre *Myrmica* et une plante, *Gentiana pneumonanthe*. La phénologie de la plante est un paramètre important pour les chenilles de *P. alcon*, la présence de bourgeons et de fleurs sur les pieds de *G. pneumonanthe* étant primordiale pour leurs premiers stades larvaires. La survie de ce papillon dépend alors d'un fragile équilibre entre l'évolution de la végétation, influant sur la présence des hôtes, et l'évolution phénologique de *P. alcon* et *G. pneumonanthe*. Face au changement climatique, ce fragile équilibre pourrait être impacté du fait de la raréfaction de son habitat et d'un changement de phénologie de sa plante hôte. Pour étudier les effets du changement climatique sur les populations de *P. alcon*, des suivis de la phénologie de *G. pneumonanthe* et des pontes du papillon ont été initiés en 2017 sur 4 sites répartis en Nouvelle-Aquitaine. La méthode utilisée est celle des quadrats permanents. L'analyse des données sur 2 années de suivis d'un même quadrat a permis de mettre en évidence des réponses différentes des populations selon la zone géographique dans laquelle elles se situent : en 2020, sur les 2 sites des Pyrénées-Atlantiques, les émergences du papillon étaient plus précoces par rapport à 2018 alors que la date de début de bourgeonnement tend à être plus tardive sur ces sites ce qui ne semble pas être le cas sur les sites de Gironde. Les résultats montrent encore cependant une bonne synchronisation des phénologies des deux espèces sur tous les sites puisque le pic d'œufs est toujours postérieur au début du stade bourgeons ce qui se traduit par des œufs principalement pondus au niveau des bourgeons et fleurs. En 2020, afin de prendre en compte les fourmis-hôtes dans le protocole, un inventaire des fourmis biaisé en faveur des *Myrmica* a été réalisé sur les 4 sites d'études. Au total, trois espèces de *Myrmica* ont été recensées. *Myrmica scabrinodis* est l'espèce la plus fréquemment rencontrée sur ELLOR, POUCH et PLANZ. Seule *Myrmica sabuleti* est présente sur AEROD. En parallèle, la recherche de présence de nids de *Myrmica* au sein des quadrats de suivis de *G. pneumonanthe*, qui s'est avérée positive sur le quadrat de suivis 2020 de PLANZ et d'ELLOR et ceux de POUCH, a permis de valider ces quadrats. En revanche, aucune *Myrmica* n'a été détectée dans les quadrats de suivis du site AEROD. Ce protocole sera reconduit tous les ans lors du premier suivi hebdomadaire afin de suivre la présence de *Myrmica* au sein des quadrats et de vérifier la viabilité des pontes.

Mots-clés : changement climatique, floraison, *Gentiana pneumonanthe*, quadrat, landes humides, *Phengaris alcon*, phénologie, positionnement œufs.

3.1 Introduction

De répartition eurasiatique, l'Azuré des mouillères (*Phengaris alcon* écotype « *alcon* », Denis & Schiffermüller, 1775) est une espèce de papillon inféodée aux landes et prairies humides, tourbeuses ou paratourbeuses, voire mésophiles dans certains secteurs du Pays-Basque et des Pyrénées. Considéré comme vulnérable en Aquitaine (OAFS, 2019) et en danger critique d'extinction en Poitou-Charentes (POITOU-CHARENTES NATURE, 2019), son statut en Limousin est également précaire avec des populations en déclin et très localisées, les populations de *P. alcon* en Nouvelle-Aquitaine apparaissent donc très fragmentées et semblent déconnectées les unes des autres du fait principalement de la dégradation, de la disparition et du morcellement de son habitat. Sa période de vol s'étale de la mi-juillet à fin août et occasionnellement jusqu'à mi-septembre et varie selon la latitude et l'altitude. C'est une espèce de papillon spécialiste du fait de son cycle de vie complexe qui dépend à la fois de la présence de fourmis-hôtes (principalement *Myrmica scabrinodis*, *M. ruginodis* ou *M. rubra*) et d'une plante-hôte en Nouvelle-Aquitaine, la Gentiane des marais (*Gentiana pneumonanthe* Linné, 1753), qui sont nécessaires au développement de la chenille.

Espèce assez rare en Nouvelle-Aquitaine (LEBLOND *et al.*, 2019), *Gentiana pneumonanthe* est une plante hémicryptophyte, vivace, que l'on retrouve de façon localisée, dans des landes mésophiles à hygrophiles ou zones tourbeuses à paratourbeuses. Sa floraison est tardive : elle s'étale de juillet à octobre et dépend de sa répartition. Elle constitue l'unique plante hôte de *P. alcon* écotype « *alcon* » en Nouvelle-Aquitaine. Dès leur émergence, les femelles vont pondre des œufs préférentiellement au niveau des bourgeons et des fleurs et parfois sur la tige et les feuilles, et de préférence sur les hampes de *G. pneumonanthe* les plus grandes et les plus visibles parmi la végétation (BONELLI *et al.*, 2005 ; NOWICKI *et al.*, 2005). Ce comportement de pontes est ainsi supposé optimiser les chances de survie des larves puisque les trois premiers stades larvaires s'effectuent dans les fleurs de *G. pneumonanthe* (DUPONT, 2010a).

De nombreuses études existent sur *P. alcon* et sa plante hôte mais très peu sont disponibles sur ses fourmis hôtes du genre *Myrmica* et quand elles existent, elles concernent surtout leur organisation et évolution sociale et quelque fois seulement leur écologie (KAUFMANN, 2010). Or, d'après SIELEZNIOW *et al.* (2005), la population d'un *Phengaris* restera faible si l'abondance de sa fourmis hôte l'est également et ce, même si sa plante hôte est abondante. Plusieurs auteurs (GRIEBELER & SEITZ, 2002 ; SOISSONS *et al.*, 2011) ont d'ailleurs montré qu'une densité en plante hôte bien inférieure à celle de la fourmi est à priori moins préjudiciable pour le papillon que l'inverse. THOMAS (1980) (in ROZIER & GUERIN (2014)) semble également étayer cette théorie en montrant que de nombreuses populations de *Phengaris* ont disparu malgré la présence de leur plante hôte en densité favorable. La densité en nids des fourmis hôtes est donc un facteur essentiel à la pérennité des populations du papillon. En Nouvelle-Aquitaine, quatre espèces communes de *Myrmica* sont actuellement connues : *M. scabrinodis*, *M. rubra*, *M. ruginodis* (BERTOLINI *et al.*, in prep. ; SELLIER & PREAU, 2016) et *M. sabuleti* (GOURVIL *et al.*, in prep.) qui, contrairement aux trois autres, se retrouve plutôt en milieux ouverts chauds et secs (BLATRIX *et al.*, 2013 ; ANTAREA, 2020). D'après ROZIER & GUERIN (2014), il existe une adaptation locale du papillon à l'espèce de fourmis hôte la plus abondante dans le milieu. En Nouvelle-Aquitaine, il semblerait que *Myrmica scabrinodis* soit l'espèce connue comme étant l'hôte principal de *Phengaris alcon* écotype « *alcon* » (GOURVIL *et al.*, in prep.). Ainsi, sa survie dépend d'un fragile équilibre entre l'évolution de la végétation et la présence de ses deux hôtes. Face au changement climatique, ce fragile équilibre pourrait être impacté et ce pour plusieurs raisons.

D'une part, les landes humides à tourbeuses pourraient se raréfier au profit d'autres végétations plus sèches (MALLARD, 2017b), impactant ainsi la flore inféodée à ce type de végétation telle que *G. pneumonanthe*, dont les populations pourraient régresser, voire disparaître (cf. Chapitre 1) en Nouvelle-Aquitaine, ce qui pourrait nuire aux populations de *Phengaris alcon*. C'est ce qu'ont notamment montré CORMONT *et al.* (2013) en étudiant, à travers la modélisation de différents scénarios, les effets du changement climatique sur les populations de *G. pneumonanthe* aux Pays-Bas et leurs répercussions sur les populations de *P. alcon*. Les auteurs ont montré que des températures plus élevées, entraînant des modifications de la répartition des populations de *G. pneumonanthe*, affectaient négativement les populations de *P. alcon*. En plus d'une modification d'aire de répartition, il est possible que le changement climatique impacte aussi la date de floraison de *G. pneumonanthe* par des modifications de températures et d'humidités qui influencent la phénologie de cette plante (CERRATO *et al.*, 2016). Cela pourrait également impacter indirectement les populations de *P. alcon* si une désynchronisation entre la période de vol des imagos et la période de floraison de sa plante hôte venait à se produire. Ainsi, se pose la question de l'adaptation des populations de *P. alcon* en Nouvelle-Aquitaine si un décalage de la floraison survenait avec le changement climatique. L'hypothèse émise est qu'avec des températures plus élevées au printemps et des sécheresses plus précoces, la floraison de *G. pneumonanthe* pourrait être plus tardive avec un décalage variable selon la zone géographique et le contexte (montagne/plaine). Plusieurs hypothèses peuvent être émises quant à la réponse de *P. alcon* face au décalage de phénologie de sa plante hôte. Une première hypothèse se base sur un possible décalage de la période de vol de *P. alcon* dû à l'influence des températures et de l'humidité au sol sur l'émergence des imagos et qui pourrait correspondre à la nouvelle période de floraison de *G. pneumonanthe*. Une seconde hypothèse serait que le vol du papillon ne soit plus adapté à la phénologie de sa plante hôte, entraînant des impacts qualitatifs (davantage d'œufs sur les tiges et feuilles), et quantitatifs (diminution globale du nombre d'œufs, nombre moyen d'œufs par bourgeons/fleurs plus élevé car moins de pieds fleuris) sur les populations de *Phengaris alcon*.

D'autre part, le changement climatique pourrait également impacter les communautés de fourmis. A travers l'étude de l'effet de 12 variables environnementales, SEIFERT (2017) a notamment montré que la température maximale au sol au même rang que l'humidité du sol, suivis de la température moyenne au sol, étaient les variables les plus impactantes sur la ségrégation de 59 espèces de fourmis. ELMES & WARDLAW (1982) évoquent également l'importance de la température au niveau du nid sur le succès des fourmis du genre *Myrmica*. Ainsi, les conditions micro-climatiques, dépendant fortement de la végétation (PETAL, (1976) in DAHMS *et al.* (2005)), semblent être un facteur déterminant dans la répartition des différentes espèces de fourmis, notamment des *Myrmica* qui ont tendance à fuir le soleil dans les régions où l'insolation est importante (Kaufmann com. Pers.). Dans l'hypothèse où *M. scabrinodis* est la fourmi hôte principale de *P. alcon* sur les sites d'études (GOURVIL *et al.*, in prep.), celle-ci pourrait être remplacée par *M. sabuleti*, hôte potentiel du papillon et qui affectionne plutôt les milieux ouverts chauds et secs. Enfin, des modifications de la végétation induites par le changement climatique pourrait également favoriser des espèces plus compétitrices que les *Myrmica*, et par conséquent nuire à leur population et indirectement à celles de *P. alcon* si la densité de nids de *Myrmica* venait à diminuer, voire si les populations venaient à disparaître des sites.

Trois objectifs ont donc été définis pour cette étude :

1. déterminer les impacts du changement climatique sur la dynamique des populations de *Gentiana pneumonanthe* et sa phénologie sur quatre sites d'étude ;
2. intégrer l'étude des *Myrmica* aux suivis de *G. pneumonanthe* et des pontes de *P. alcon* déjà mis en place sur les quatre sites d'études ;

3. évaluer les conséquences sur les populations de *Phengaris alcon*, notamment sur le comportement de pontes.

3.2 Matériel et Méthodes

3.2.1 Sites d'étude

Les sites d'étude ont été sélectionnés en fonction de la répartition de *Phengaris alcon* en Nouvelle-Aquitaine, de la présence de populations importantes de *G. pneumonanthé* et d'une répartition spatialement équilibrée en Nouvelle-Aquitaine. La maîtrise foncière est également un élément fondamental à prendre en compte afin d'assurer la pérennité des suivis dans le temps (MALLARD, 2017b ; MALLARD, 2018a).

En 2019, cinq sites étaient validés pour les suivis. Suite au conseil scientifique de 2019, il a été décidé d'abandonner le site de Captieux car la présence d'un camp militaire sur ce dernier impliquait de trop fortes contraintes concernant l'accès qui ne permettaient pas de respecter scrupuleusement le protocole et également des difficultés dans la bonne relocalisation du quadrat au fil des ans, toutes ces contraintes limitant l'intégration pérenne de ce site au programme.

Ainsi, en 2020, ce sont au total quatre sites qui sont validés pour les suivis *P. alcon* et *G. pneumonanthé* (2 en Gironde et 2 dans les Pyrénées-Atlantiques) (Fig. 116). Cette année, l'ajout d'un nouveau site situé au sein de la réserve naturelle du Pinail a été intégré au programme. Ce nouveau site situé sur un espace protégé présente une gestion constante et permet d'étendre la distribution des sites étudiés à la zone Poitou-Charentes où *P. alcon* est en danger critique d'extinction (POITOU-CHARENTES NATURE, 2019).



Sites validés pour les suivis de *Phengaris alcon* et *Gentiana pneumonanthe*.

Fig. 116. Situation géographique des sites d'études validés pour les suivis de *P. alcon* et *G. pneumonanthe*. AEROD : aéroport de Bordeaux-Saucats, POUCH : lande de Pouchau, ELLOR : Ellorimendi, PLANZ : plateau d'Anzé, PINAIL : réserve naturelle du Pinail.

3.2.2 Méthode d'échantillonnage des individus et identification des espèces

- **Recensement de *G. pneumonanthe* sur l'ensemble de la surface des sites**

Afin de sélectionner les unités d'échantillonnage, un recensement de l'ensemble des pieds de *G. pneumonanthe* a été réalisé au début de l'étude en 2016/2017. La méthode de dénombrement consiste à parcourir l'ensemble de la zone favorable à *G. pneumonanthe*, par bande d'environ deux mètres, à faible allure et de pointer au GPS (précision maximale de 3m) tous les pieds détectables (à l'état végétatif, en bourgeons, en fleurs, etc.).

Ce dénombrement est reconduit tous les deux ans sur chaque site afin d'évaluer l'évolution de la répartition spatiale des populations de *Gentiana pneumonanthe*, sachant qu'une répartition régulière des pieds de *G. pneumonanthe* favorisera une meilleure répartition des chenilles et limitera donc la compétition intra-spécifique dans les nids de fourmis hôtes (HABEL *et al.*, 2007).

En 2020, ce protocole a été reconduit sur les sites AEROD et PLANZ. Il n'a pas pu être réalisé sur le site ELLOR car l'ensemble du site a été fauché par erreur début août et sera donc effectué en 2021 comme pour le site POUCH.

- **Suivis de *Gentiana pneumonanthe* et des pontes de *Phengaris alcon***

La méthode des quadrats pour l'étude des populations de *G. pneumonanthe* semble se dégager dans la littérature (KESEL & URBAN, 1999 ; VAN DYCK & REGNIERS, 2010). Cette méthode consiste à déterminer une surface dans laquelle les individus sont comptés et différents paramètres relevés. En ce qui concerne l'étude des populations de *P. alcon*, il existe depuis 2017 un protocole standardisé permettant d'évaluer l'état de conservation des populations de ce papillon (BELENGUIER *et al.*, 2017). Ce protocole consiste, entre autres, à compter de manière exhaustive les pieds de *G. pneumonanthe* et les œufs de *P. alcon* sur un site donné. Cette méthode présentant une méthodologie assez lourde en termes d'investigation sur le terrain, un échantillonnage sous forme de quadrats a donc été privilégié.

Afin de définir l'effort d'échantillonnage minimal requis, un test entre deux méthodes d'échantillonnage par quadrats (transects vs quadrats permanents 10x10m) a été réalisé en 2017 (MALLARD, 2017b). A l'issue de ce test, c'est la méthode des quadrats permanents qui a été sélectionnée. Ainsi, pour chaque site, deux quadrats permanents, d'une surface de 100m² (10x10m), ont été sélectionnés parmi les zones à plus forte densité en *G. pneumonanthe* sur SIG (MALLARD, 2017b ; MALLARD, 2018b) puis repérés sur le terrain à l'aide de coordonnées GPS. Quand cela a été possible, ils ont été matérialisés par des tiges métalliques enfoncées dans le sol (excepté sur ELLOR) et lors des suivis, les quadrats peuvent être repérés à l'aide de piquets et de cordes.

La méthodologie de suivis consiste à recouper chaque quadrat de 100m² en 25 quadrats de 4m² afin de faciliter le comptage des pieds de *G. pneumonanthe* et éviter les doubles comptages (Fig. 117). Pour chaque quadrat de 4m², une recherche minutieuse des pieds de *G. pneumonanthe* est effectuée au sein de la végétation. Chaque pied et chaque hampe associée sont numérotés. Pour chaque hampe, les éléments suivants sont notés sur une fiche de relevés :

- le nombre de bourgeons ;
- le nombre de fleurs épanouies ;
- le nombre de fruits ;

- le nombre d'œufs pondus sur les fleurs et/ou bourgeons ;
- le nombre d'œufs pondus sur les tiges ;
- le nombre d'œufs pondus sur les feuilles.

L'observateur peut annoter toute remarque jugée pertinente sur la phénologie de *G. pneumonanthe* ou tout autre élément (observation de hampes sèches par exemple).



Fig. 117. Illustration de la méthode de relevé pour les suivis de *P. alcon* et de *G. pneumonanthe*. © Justine Pujol.

Chaque quadrat de 100m² est suivi une année sur deux (Fig. 118) afin d'éviter les impacts du surpiétinement sur le milieu et les espèces. La fréquence des suivis est d'un passage par semaine, en privilégiant les mêmes dates d'une année sur l'autre (1 à 3 jours de décalages maximum). Les suivis débutent une semaine avant la date de première floraison de *G. pneumonanthe* connue sur le site ou avant la date de première émergence de *P. alcon* si celle-ci est antérieure à la date de première floraison. Les suivis se terminent à la fin du vol de *P. alcon*. Les suivis peuvent ainsi s'arrêter dès lors que plus aucun individu n'est observé (dans des conditions météorologiques favorables d'observations).

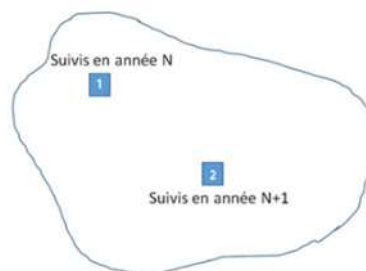


Fig. 118. Illustration du système rotatoire pour les suivis de *P. alcon* et de *G. pneumonanthe*.

- *Inventaire des fourmis hôtes et suivis de leurs nids*

Inventaire des fourmis hôtes

Afin de connaître les fourmis hôtes potentielles de *Phengaris alcon* présentes sur chaque site, le protocole issu du Plan National d'Actions en faveur des Maculinea « Protocole d'échantillonnage simple permettant d'évaluer la présence et l'importance des *Myrmica* au sein des communautés de fourmis » (KAUFMANN *et al.*, 2014), a été mis en place sur les 4 sites d'étude. Ce protocole, biaisé en faveur des *Myrmica*, consiste à déposer des appâts répartis sur le site étudié le long de transects puis à récolter en 2 passages quelques individus des différentes espèces présentes dans un rayon de 10 cm autour de l'appât.

Un nombre optimal de 100 appâts est recommandé afin d'avoir une vision réaliste de la communauté de fourmis présente sur un site (KAUFMANN *et al.*, 2014). Une centaine d'appâts ont donc été disposés tous les 4m le long de transects sur chaque site d'étude. Les transects ont été positionnés de façon à échantillonner un maximum de micro-habitats sur l'ensemble de la surface d'habitat où *Gentiana pneumonanthe* est présente.

Les appâts sont constitués d'un carré de feuille bristol (4x4cm) déposés à même le sol ou sur la végétation préalablement aplatie sur lesquels une portion de rillettes de saumon et une goutte de miel sont déposées côte-à-côte (KAUFMANN *et al.*, 2014). Un pilulier contenant de l'alcool à 70° et portant le même numéro que l'appât est également déposé à quelques centimètres de ce dernier afin de stocker les fourmis récoltées lors des deux relevés (Fig. 119).



Fig. 119. *Myrmica sabuleti* sur un des appâts utilisés lors de l'inventaire des espèces de fourmis. © Christal Robert.

Afin de maximiser les chances d'échantillonner des *Myrmica* tout en ayant une vision réaliste de la communauté de fourmis, les relevés doivent être effectués entre le 15 avril et le 15 juillet, correspondant à la période d'activité annuelle maximale des fourmis et entre 17 et 22°C qui semble

être la gamme de températures idéale pour l'ensemble des espèces de fourmis du territoire français (KAUFMANN *et al.*, 2014). Une mesure de la température au sol et à l'ombre est donc réalisée avant la pose du premier appât afin de s'assurer des bonnes conditions d'application du protocole.

Le prélèvement des espèces s'effectue en deux passages à l'aide d'aspirateur à insectes. Le 1^{er} relevé a lieu 30min après la pose du premier appât et le 2nd relevé s'effectue 1h après le 1^{er} relevé du premier appât. Les relevés des différents appâts se réalisent dans l'ordre de pose des appâts. Environ 5 individus de chaque espèces (forme, couleurs, aspects différents) sont prélevés à chaque passage.

Les fourmis prélevées sur le terrain sont placées ultérieurement dans des tubes eppendorf contenant de l'alcool à 95° (meilleure conservation) et étiquetés de la date, du site et du numéro d'appât/nid. Celles-ci sont ensuite identifiées sous une loupe binoculaire à l'aide de la clé issue du guide « Fourmis de France, de Belgique et du Luxembourg » (BLATRIX *et al.*, 2013) et la clé des *Myrmica* élaborée par l'association ANTAREA. Un oculaire de grossissement x60 est nécessaire pour l'identification des *Myrmica* qui est plus délicate. Afin de s'assurer de la fiabilité des identifications, les échantillons sont envoyés à un expert (C. GALKOWKI de l'association ANTAREA, <http://antarea.fr/>) pour validation.

Inventaire des nids de *Myrmica*

Les fourmis hôtes du genre *Myrmica* sont un élément essentiel du cycle biologique de *Phengaris alcon*. Afin de s'assurer de la viabilité des pontes étudiées dans les quadrats de suivis, une recherche des nids de *Myrmica* a été réalisée en 2020 dans ces derniers, l'objectif étant d'ajouter un indicateur fourmi au protocole de suivi de *G. pneumonanthe* et des pontes de *P. alcon* déjà mis en place qui soit facilement reproductible dans le temps.

Ainsi, sur les 4 sites d'étude, une recherche des nids de *Myrmica* (Fig. 120) a été réalisée à vue au sein des quadrats de 100m² utilisés pour le suivi de *G. pneumonanthe*. Les quadrats ont été séparés en 25 sous-quadrats de 4m² au centre desquels un appât a été déposé. Cela permet de focaliser la recherche des nids sur les sous-quadrats dont l'appât est positif aux *Myrmica* et donc d'éviter de fouiller l'entièreté du quadrat de 100m², la recherche des nids étant très chronophage.



Fig. 120. Nid de *Myrmica scabrinodis* présentant un dôme de terre (solarium) bien visible à travers la végétation

3.2.3 Analyses statistiques

Avec les données 2020, nous disposons actuellement de deux années de suivis (2018 et 2020) pour un même quadrat pour quatre sites (ELLOR, PLANZ, AERO et POUCH). Les analyses porteront ainsi principalement sur ces données. L'ensemble des analyses statistiques et graphiques ont été réalisées avec le logiciel R. 4.0.3. En ce qui concerne le site de la réserve du Pinail, 2020 étant l'année de mise en place du protocole, les premiers résultats sont décrits dans un paragraphe spécifique.

- ***Dynamique des populations de *G. pneumonanthe* et *P. alcon****

Afin d'étudier l'évolution de la dynamique des populations de *G. pneumonanthe* au sein des quadrats de suivis, des tests de comparaison de moyenne de Wilcoxon sur données appariées ($p=0.05$) ont été réalisés sur les densités de pieds relevées au cours des suivis entre les années 2018 et 2020. De la même façon, des tests de Wilcoxon–Mann–Whitney ($p=0.05$) ont été réalisés sur le nombre d'œufs observés à chaque passage afin d'étudier les tendances d'évolution des populations de *P. alcon*.

De plus, afin d'étudier l'évolution de la dynamique de floraison de *G. pneumonanthe*, le nombre moyen de bourgeons et/ou fleurs par hampe non végétative (pour AEROD et POUCH) ou par pied non végétatif (pour ELLOR et PLANZ) (hampes ou pieds au stade bourgeons et stades fleuris) a été comparé entre 2018 et 2020 à l'aide de test de Wilcoxon–Mann–Whitney.

- ***Phénologie des espèces***

A partir des données phénologiques récoltées sur le terrain avec un pas de temps minimal de 7 jours et maximal de 10 jours, chaque pied de *G. pneumonanthe* s'est vu attribué un « stade phénologique » (CBNSA, 2017). Cinq stades ont été définis :

- le stade végétatif : aucun bourgeon ni fleur ;
- le stade bourgeons : au moins un bourgeon et aucune fleur épanouie ;
- le stade début de floraison : une minorité de fleurs épanouies par rapport aux bourgeons ;
- le stade pleine floraison : plus de 50% de fleurs épanouies ;
- le stade fructification : présence d'au moins un fruit développé sur une tige.

A chaque passage, la proportion de pieds de *G. pneumonanthe* pour chaque « stade phénologique » a été calculée par rapport au nombre maximal de pieds sur l'ensemble des suivis.

La date de début de bourgeonnement de la population est considérée atteinte lorsque 10% des pieds sont au stade bourgeons. Cette date a été estimée par un modèle selfstart non-linéaire à l'aide de la fonction nls et invest des packages 'nlstools' et 'investr', respectivement. L'évolution de la phénologie de *G. pneumonanthe* a ensuite été décrite en comparant les dates estimées de début de bourgeonnement entre années et entre les sites.

En ce qui concerne la phénologie de *P. alcon*, elle a été décrite en comparant entre les différentes années, les périodes d'émergences qui se basent sur les premières observations de pontes dans les quadrats de suivis et les longueurs des périodes de vol qui sont calculées en considérant que les suivis s'arrêtent lorsque plus aucun imago n'est observé sur le site et que les femelles sont capables de pondre seulement 2h après leur émergence (VAN DYCK & REGNIERS, 2010). La date de pic de pontes,

correspondant à la date où le nombre d'œufs observés est le plus élevé, a également été comparée entre années et entre les sites.

• ***Interactions entre *Phengaris alcon* et sa plante hôte, *Gentiana pneumonanthe****

Afin d'étudier l'évolution de la synchronisation de la phénologie des deux espèces, les écarts, en nombre de jours, entre le jour de début de bourgeonnement (10% de pieds de *G. pneumonanthe* sont au stade bourgeons) et le jour de pic d'œufs (nombre maximal d'œufs relevés) et le jour des premières observations de pontes durant la période de suivis ont été calculés et comparés.

Afin d'étudier le comportement de pontes des femelles de *P. alcon* sur les hampes de *G. pneumonanthe*, plusieurs paramètres ont été calculés et comparés entre 2018 et 2020 à l'aide de tests de comparaison de moyennes ($p=0.05$) :

- le nombre moyen d'œufs par bourgeon/fleur : test de Wilcoxon-Mann-Whitney sur échantillons indépendants ;
- le nombre moyen de bourgeons/fleurs par hampe ou par pied avec ponte : test de Wilcoxon-Mann-Whitney sur échantillons indépendants ;
- le nombre moyen de bourgeons/fleurs par hampe ou par pied sans ponte : test de Wilcoxon-Mann-Whitney sur échantillons indépendants
- entre le nombre moyen de bourgeons/fleurs par hampe ou par pied avec pontes et le nombre moyen de bourgeons/fleurs par hampe ou pied sans ponte : test de Wilcoxon sur échantillons appariés ;
- les proportions moyennes d'œufs sur les bourgeons/fleur, sur les tiges et sur les feuilles : test de Wilcoxon-Mann-Whitney sur échantillons indépendants.

Les proportions moyennes de hampes non végétatives avec pontes ainsi que les proportions d'œufs sur les hampes végétatives ont également été décrites et comparées entre années et sites.

• ***Inventaire des fourmis hôtes et suivis de leurs nids***

Les pourcentages d'appâts positifs aux différentes espèces de fourmis récoltées lors de l'inventaire ont été calculés pour chacun des sites et les cortèges de fourmis qui en résultent ont ensuite été analysés et comparés entre site.

Aussi, afin d'étudier la répartition des fourmis hôtes de *P. alcon* sur les sites d'études, les appâts positifs aux *Myrmica* ont été cartographiées à l'aide du logiciel QGIS 2.18.18. En ce qui concerne les nids de *Myrmica* au sein des quadrats de suivis, une densité a été calculée pour les sites pour lesquels les nids étaient visibles (PLANZ et POUCH). Pour les deux autres sites (ELLOR et AEROD), c'est le nombre d'appâts positifs aux *Myrmica* qui est pris en compte.

Enfin, afin de voir quelles espèces interagissent avec les *Myrmica* présentes sur chacun des sites, le nombre d'appâts positifs a été relevé pour chaque espèce de fourmis.

3.3 Résultats

3.3.1 Suivis de *Gentiana pneumonanthe* et des pontes de *Phengaris alcon*

Pour chacun des sites, les périodes de suivis ont été résumées dans le Tab. IX, ainsi que le nombre de passages qui diffère selon les sites et les années (Tab. IX) du aux différences phénologiques d'émergence de *P. alcon* et de floraison de *G. pneumonanthe*.

Tab. IX. Périodes de suivis et nombres de passages par site.

Années de suivis	ELLOR	PLANZ	AEROD	POUCH
2017	23/06 au 23/08 (Q1)	-/- (quadrat différent)	11/08 au 08/09 (Q1 & Q2)	-/-
NB de passages	10	-/-	4	-/-
2018	19/06 au 06/09 (Q2)	18/07 au 30/08 (Q1)	30/07 au 10/09 (Q1)	30/07 au 10/09 (Q1)
NB de passages	11	6	7	7
2019	26/06 au 02/09 (Q1)	18/07 au 14/08 (Q2)	30/07 au 18/09 (Q2)	30/07 au 18/09 (Q2)
NB de passages	10	4	8	8
2020	16/06 au 21/08 (Q2)	11/07 au 17/08 (Q1)	17/07 au 11/09 (Q1)	17/07 au 11/09 (Q1)
NB de passages	10	7	9	9

3.3.1.1 Dynamique des populations

- *Gentiana pneumonanthe*

ELLORIMENDI : En comparant la répartition des pieds entre 2016/2017 et 2018, une augmentation du nombre de pieds a été observée au cours du temps avec une répartition plus homogène sur l'ensemble du site en 2018 (Fig. 121). En 2016/2017, 1950 pieds ont été comptés contre 2600 en 2018. Il est cependant à noter que les données 2016/2017 proviennent d'un comptage effectué en deux fois sur deux années différentes. A noter qu'en 2020, l'ensemble du site a été fauché (sauf zone du quadrat) ce qui n'a pas permis de réaliser l'inventaire des pieds cette année et qui est donc reporté en 2021.



Fig. 121. Evolution de la répartition des pieds de *Gentiana pneumonanthe* sur le site Ellorimendi entre 2016 et 2018.

PLATEAU D’ANZE : une augmentation du nombre de pieds a été observée entre les différentes années. En 2016, 1195 ont été pointés au GPS, contre 1590 en 2018 et 3417 en 2020 soit une augmentation de plus de 186% entre 2016 et 2018. La répartition des pieds reste assez homogène sur l’ensemble du site au cours du temps (Fig. 122).

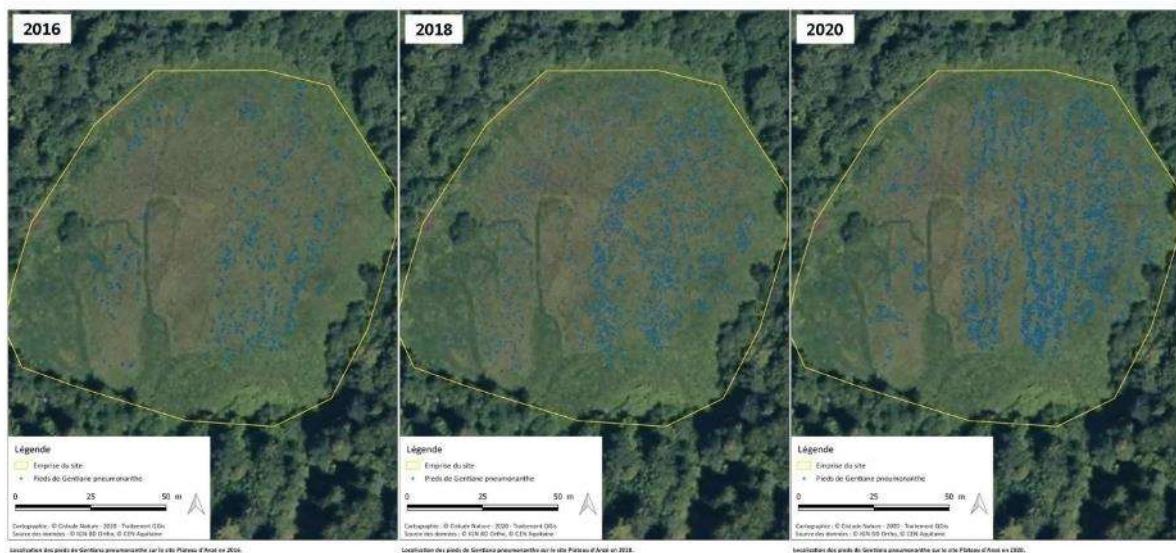


Fig. 122. Evolution de la répartition des pieds de *Gentiana pneumonanthe* sur le site plateau d’Anzé entre 2016 et 2018.

AERODROME DE BORDEAUX–SAUCATS : une augmentation du nombre de pieds de *G. pneumonanthe* a été observée entre 2016 et 2018 (799 pieds et 1823, respectivement) sur l’ensemble du site puis une légère diminution (-8,6%) entre 2018 et 2020 (1667 pieds). En revanche, la répartition des pieds reste identique au cours du temps (Fig. 123).

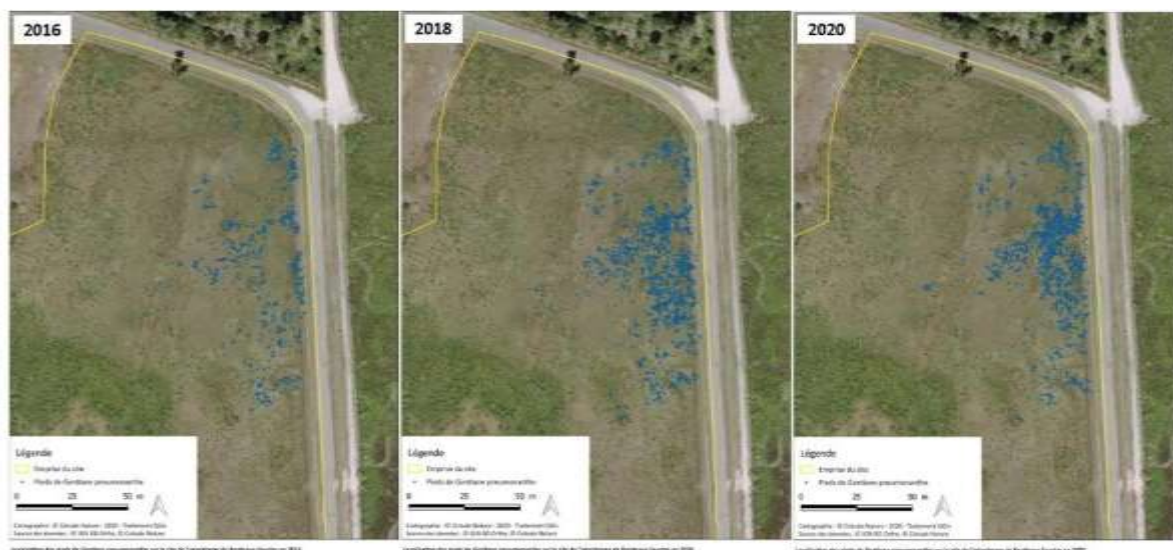


Fig. 123. Evolution de la répartition des pieds de *Gentiana pneumonanthe* sur le site de l'aéroport de Bordeaux-Saucats entre 2016 et 2020.

POUCHAU : une augmentation du nombre de pieds de *G. pneumonanthe* a été observée entre 2017 et 2019 (193 pieds vs 270 respectivement) avec une répartition identique au cours du temps (Fig. 124).



Fig. 124. Evolution de la répartition des pieds de *Gentiana pneumonanthe* sur le site de Pouchau entre 2017 et 2019.

Ainsi de manière générale, une augmentation du nombre de pieds de *G. pneumonanthe* a été observée entre 2016 et 2020 sur l'ensemble des sites avec des répartitions restant inchangées. Seul AEROD présente une légère diminution de pieds entre 2018 et 2020. Cependant, cette observation est à relativiser puisque l'inventaire n'est pas exhaustif et dépend de la détectabilité des pieds de *G. pneumonanthe*.

En comparant ces résultats obtenus à l'échelle du site avec l'évolution de la densité des pieds de *G. pneumonanthe* à l'échelle des quadrats de suivis, les mêmes tendances ont été observées. En effet,

pour l'ensemble des sites, une augmentation significative de la densité de pieds a été observée entre 2018 et 2020, avec une densité plus élevée en 2020 (ELLOR : Wilcoxon, $V=0$, $p = 0.007813$; PLANZ : Wilcoxon, $V=0$, $p = 0.03125$; AEROD : Wilcoxon, $V=0$, $p = 0.01563$; POUCH : Wilcoxon, $V=0$, $p = 0.01563$) (Fig. 125).

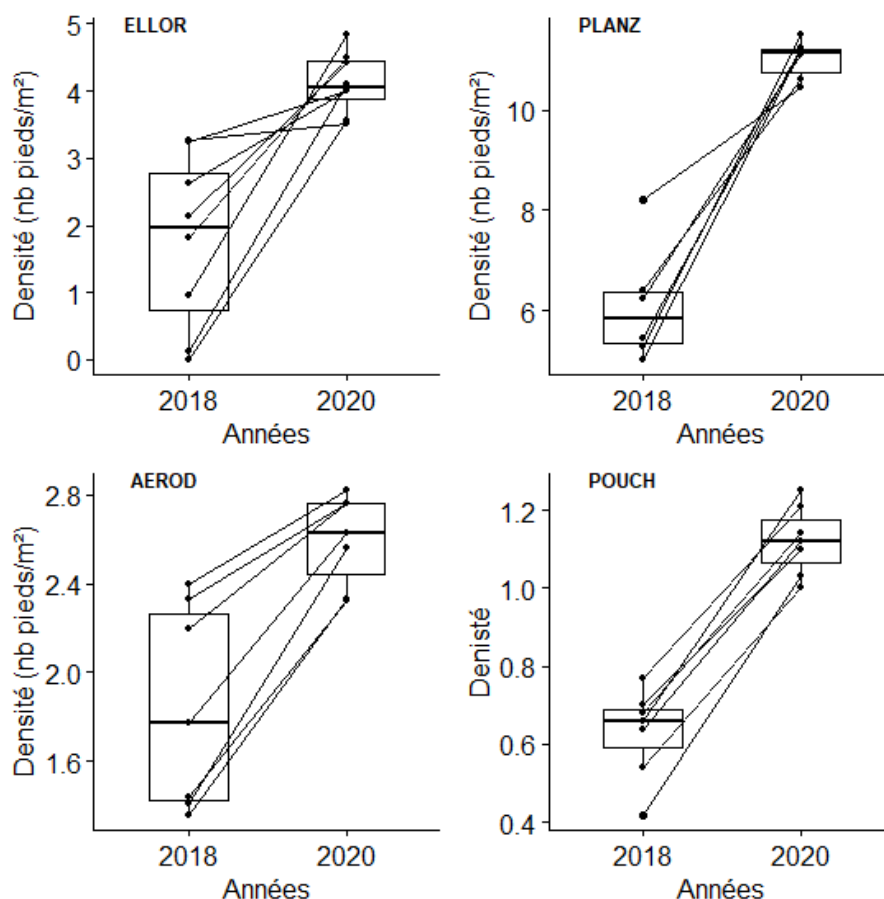


Fig. 125. Box plot des densités de pied pour comparer les différences entre années pour les quatre sites.

En ce qui concerne la dynamique de floraison, le nombre de bourgeons et/ou fleurs par hampe ou pied non végétatif a été comparé entre 2018 et 2020. Excepté pour le site PLANZ, une différence significative est observée entre les deux années pour tous les autres sites (ELLOR, AEROD et POUCH) (Tab. X), avec un nombre moyen de bourgeons et/ou fleurs plus faible en 2020 par rapport à 2018.

Tab. X. Résultats des tests de Wilcoxon-Mann-Whitney sur le nombre moyen de bourgeons/fleurs par hampe ou pied non végétatif.

Sites	Statistique W	p-value	Type test
ELLOR	92.5	0.0172*	Unilatéral droit
PLANZ	29	0.2949	Bilatéral
AEROD	50	0.02828*	Unilatéral droit
POUCH	56	0.005506*	Unilatéral droit

- *Phengaris alcon*

Pour ELLOR, AEROD et POUCH, il n’y a pas de différence significative du nombre d’œufs entre 2018 et 2020 (ELLOR : Wilcoxon–Mann–Whitney, $W = 14$, p -value = 0.366 ; AEROD : Wilcoxon–Mann–Whitney, $W = 25$, p -value = 0.6282 ; POUCH : Wilcoxon–Mann–Whitney, $W = 28$, p -value = 1). En revanche pour PLANZ, une différence significative du nombre d’œufs a été observée entre 2018 et 2020 (Wilcoxon–Mann–Whitney, $W=36$, $p=0.03497$) avec un nombre d’œufs comptabilisés plus faible en 2020 pouvant signifier soit une diminution du nombre d’imagos soit des pontes mieux réparties sur les hampes de *G. pneumonanthe* qui étaient plus nombreuses en 2020.

3.3.1.2 Phénologie des espèces

- *Gentiana pneumonanthe*

A partir des données de terrain et d’une modélisation par « nls », les jours de début de bourgeonnement des populations de *G. pneumonanthe* ont pu être estimés pour chaque site et chaque année (Tab. XI).

En comparant les données 2018 et 2020, correspondant aux données de suivis du même quadrat pour chacun des sites, un retard du stade début de bourgeonnement est observé pour les deux sites situés dans les Pyrénées–Atlantiques (ELLOR : 8 jours de retard et PLANZ : 3 jours de retard entre les deux années). Au contraire, pour les deux sites de Gironde, le stade début de bourgeonnement apparaît avec 2 à 3 jours d’avance en 2020.

Tab. XI. Jour et date de début de bourgeonnement estimés pour les quatre sites d’étude en fonction des années.

	2018 (Q1)	2019 (Q2)	2020 (Q1)
ELLOR	201 (20 juillet)	210 (29 juillet)	210 (28 juillet)
PLANZ	203 (22 juillet)	208 (27 juillet)	207 (25 juillet)
AEROD	212 (31 juillet)	217 (5 août)	211 (29 juillet)
POUCH	213 (1 ^{er} août)	214 (2 août)	211 (29 juillet)

En comparant également les périodes d’apparition des premiers pieds fleuris, la même tendance est constatée (Fig. 126). En effet, le stade début de floraison est observé la semaine 31 en 2020 pour PLANZ et la semaine 30 pour ELLOR, soit respectivement une semaine et deux semaines plus tard par rapport à 2018 (PLANZ : semaine 30 en 2018 ; ELLOR : semaine 28 en 2018). Concernant les deux sites de Gironde, le stade début de floraison apparaît aux mêmes périodes pour les deux années (AEROD : semaine 34 en 2018 et 2020 ; POUCH : semaine 35 en 2018 et 2020).

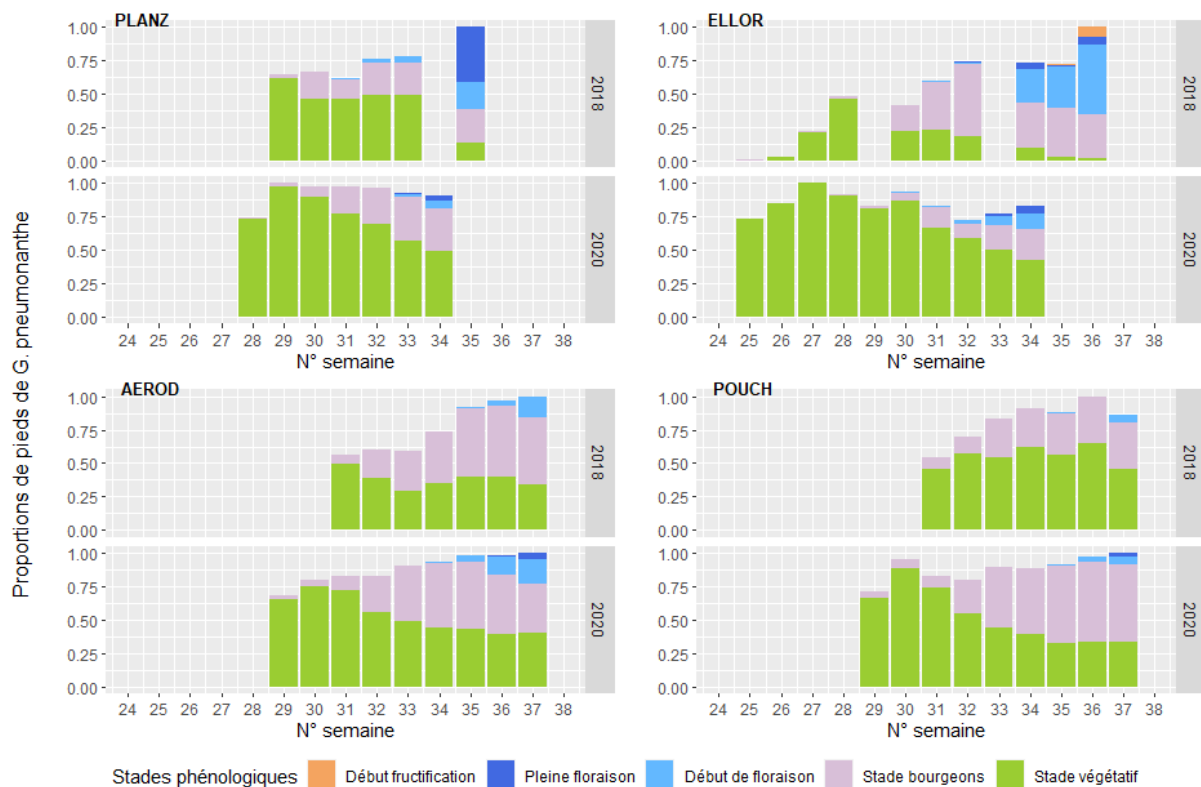


Fig. 126. Evolution au cours du temps et comparaison entre 2018 et 2020 des proportions de pieds de *G. pneumonanthe* aux différents stades phénologiques pour les quatre sites d'étude.

En comparant les jours de début de bourgeonnement estimés entre site, en 2018, les sites situés dans les Pyrénées-Atlantiques (ELLOR et PLANZ) étaient ceux pour lesquels la phénologie de *G. pneumonanthe* était la plus avancée, avec un écart de 9 à 12 jours avec les sites de Gironde (AEROD et POUCH). En 2020, cet écart s'est réduit à 1 à 2 jours puisqu'un retard de la phénologie a été observé sur ELLOR et PLANZ.

● *Phengaris alcon*

Le Tab. XII présente les semaines (et dates) des premières observations de pontes de *P. alcon* dans les quadrats de suivis. Pour le site ELLOR, les premières pontes ont été observées avec une semaine d'avance en 2019 et 2020 par rapport à 2018, l'émergence semble donc avoir été plus précoce ces deux années. À noter que les données 2019 proviennent d'une étude CMR de *P. alcon* réalisée sur le site car les pontes en trop faible nombre sur le quadrat cette année-là ne permettent pas une observation réelle de l'émergence du papillon. Pour le site PLANZ, en 2020 les premières pontes ont été observées avec une d'avance par rapport aux deux autres années témoignant d'une émergence plus précoce cette année. Pour le site AEROD, l'émergence semble plus tardive en 2020 par rapport à 2018 puisque les premières pontes ont été observées avec une semaine de retard. Par contre elles ont été observées à la même période par rapport à 2019. Enfin, concernant le site POUCH, l'émergence semble plus variable au fil des ans. L'année 2019 est celle où le papillon a émergé semble-t-il le plus tardivement puisque les premières pontes n'ont été observées qu'à partir de la troisième quinzaine d'août. En

revanche l'année 2020 est celle où il a été le plus précoce avec les premières pontes observées la semaine 30 et un premier individu observé la semaine 29.

Tab. XII. N° de semaine (date) de premières observations de pontes de *P. alcon* pour les quatre sites d'étude en fonction des années.

Sites	2018 (Q1)	2019 (Q2)	2020 (Q1)
ELLOR	Semaine 30 (3 août)	Semaine 29 (18 juillet) (POUSSIN & GOURVIL, 2019)	Semaine 29 (16 juillet)
PLANZ	Semaine 29 (<18 juillet)	Semaine 29 (18 juillet)	Semaine 28 (11 juillet)
AEROD	Semaine 31 (<30 juillet)	Semaine 32 (6 août)	Semaine 32 (6 août)
POUCH	Semaine 31 (<30 juillet)	Semaine 35 (23 août)	Semaine 30 (23 juillet)

En ce qui concerne la période d'observations du pic d'œufs, des variations existent entre les sites (Tab. XIII). Sur le site ELLOR, le nombre maximal d'œufs est observé à la même période pour les trois années. En comparant les données de l'année 2019 avec les résultats d'une CMR réalisée en 2019 sur ce même site (POUSSIN & GOURVIL, 2019), le pic d'œufs relevé dans le quadrat de suivis cette année-là ne correspond pas au pic d'émergence qui a eu lieu le 31 juillet, soit 3 semaines de décalage entre les deux observations. Pour le site PLANZ, le pic d'œufs est observé avec 5 à 10 jours d'avance en 2019 et 2020, respectivement, par rapport à 2018. Pour le site AEROD, l'année 2018 est celle où le pic d'œufs a été observé le plus précocement avec 7 jours d'avance par rapport à 2019 et 2020. Enfin, pour le site POUCH, la période d'observation du pic d'œufs reste plus variable entre les années puisqu'en 2019 il est observé avec 22 jours de retard par rapport à 2018 et 15 jours par rapport à 2020.

Tab. XIII. Jour d'observation du pic d'œufs de *P. alcon* pour les quatre sites d'étude en fonction des années.

Sites	2018 (Q1)	2019 (Q2)	2020 (Q1)
ELLOR	235 (23 août)	234 (22 août)	234 (21 août)
PLANZ	226 (14 août)	221 (9 août)	217 (4 août)
AEROD	239 (27 août)	246 (3 septembre)	247 (3 septembre)
POUCH	239 (27 août)	261 (18 septembre)	247 (3 septembre)

Comparaison des sites : la comparaison, en 2020, des dates d'observations des premières pontes des différents sites (Tab. XIII) montrent que *P. alcon* est plus précoce sur le site en montagne (PLANZ) où il y a une semaine de décalage avec le site situé au Pays Basque (ELLOR) comme cela avait déjà été observé en 2018 et 2019 et 2 à 6 semaines de décalage avec les sites de Gironde (AEROD et POUCH) en fonction des années. Une différence phénologique est également notable entre les deux sites de Gironde pourtant soumis aux mêmes conditions météorologiques (cf. Chapitre 2) : l'émergence semble avoir été plus tardive en 2019 sur le site POUCH avec 3 semaines de décalage avec le site AEROD et à

l'inverse, en 2020, elle semble y avoir été plus précoce avec 2 semaines d'avance par rapport au site AEROD. Par contre, le pic d'œufs arrive à la même période pour ces deux sites, exceptés en 2019 où il y a 15 jours d'écart. Le même schéma est observable quant à la fin de vol des imagos. En effet, PLANZ est le site où la fin de vol est la plus précoce, puis ELLOR puis les deux sites en Gironde (AEROD et POUCH) et ce pour les trois années.

Les périodes d'émergence et de fin de vol permettent d'estimer la longueur des périodes de vol de *P. alcon* sur chaque site (Tab. XIV). Pour l'ensemble des sites, la période de vol est estimée à 6 semaines en 2018. Pour le site ELLOR, elle reste relativement la même pour 2019 et 2020. En revanche pour les autres sites, la période de vol est plus courte en 2019. Le site POUCH est celui où la période est la plus diminuée avec seulement 3 semaines de vol puis le site PLANZ avec 4 semaines et enfin AEROD avec 5 semaines. A l'inverse, en 2020, POUCH est le site où *P. alcon* a eu une durée de vol la plus longue avec 7 semaines contre 5 semaines pour PLANZ et AEROD.

Tab. XIV. Longueur estimée en semaines de la période de vol de *P. alcon* pour les quatre sites d'études en fonction des années.

	2018	2019	2020
ELLOR	6 semaines	6.5 semaines *	6 semaines
PLANZ	6 semaines	4 semaines	5 semaines
AEROD	6 semaines	5 semaines	5 semaines
POUCH	6 semaines	3 semaines	7 semaines

3.3.2 Interactions entre *Phengaris alcon* et sa plante hôte, *Gentiana pneumonanthe*

- *Synchronisation de la phénologie des deux espèces*

D'après la Fig. 127, pour les sites PLANZ, AEROD et POUCH et, ce pour les deux années, le pic d'œufs se produit avant le pic de bourgeons et fleurs dont leur nombre continue à augmenter à la fin de la période de vol des papillons. Le site ELLOR semble se démarquer avec un pic d'œufs atteint au pic de bourgeons et fleurs en 2020.

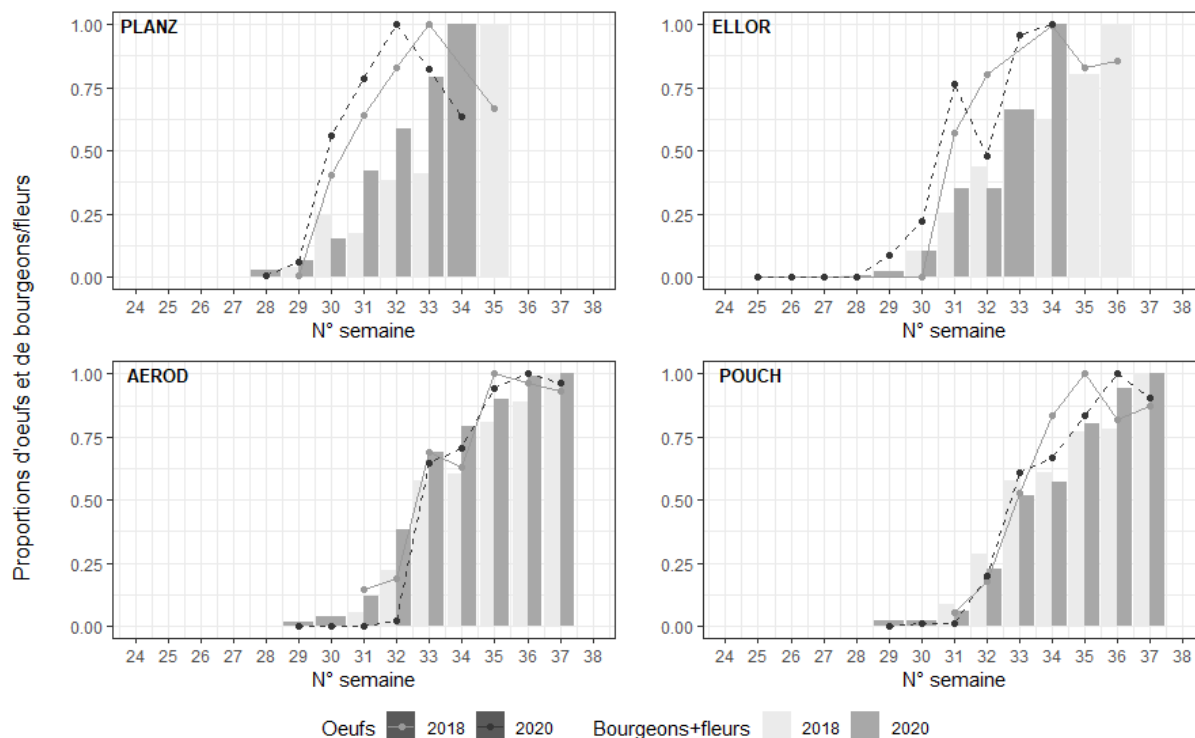


Fig. 127. Évolution des proportions d'œufs et de bourgeons+fleurs au cours des suivis sur les quatre sites d'étude.

Les écarts, en nombre de jours, entre le jour de début de bourgeonnement (10% de pieds de *G. pneumonanthe* sont au stade début de bourgeons) et, d'une part, le jour de pic d'œufs (nombre maximal d'œufs relevés) et, d'autre part, le jour des premières observations de pontes durant la période de suivis ont été calculés. Les résultats sont présentés dans le Tab. XV. Une valeur positive signifie que le jour où le pic d'œufs ou le jour des premières observations de pontes est atteint est postérieur au jour de début de bourgeonnement. Une valeur négative signifie qu'ils sont antérieurs.

Tab. XV. Nombre de jours d'écart entre a) le jour de début de bourgeonnement de *G. pneumonanthe* et le jour de premières observations de pontes durant la période de suivis ; b) le jour de début de bourgeonnement de *G. pneumonanthe* et le jour du pic d'œufs de *P. alcon*

Sites	2018		2019		2020	
	a	b	a	b	a	b
ELLOR	14	34	11	24	-12	24
PLANZ	-4	23	-9	13	-14	10
AEROD	-1	27	1	29	8	36
POUCH	-2	26	21	47	-6	36

Pour l'ensemble des sites, le jour du pic d'œufs est postérieur au jour de début de bourgeonnement mais varie en fonction des années. Pour les sites ELLOR et PLANZ, l'écart entre ces deux jours est plus important en 2018 par rapport à 2019 et 2020 (10 à 13 jours de différence entre 2018 et 2019/2020 pour les deux sites). Pour les sites AEROD et POUCH, cet écart est plus variable au cours du temps mais 2019 est l'année où il est le plus important notamment pour POUCH avec 10 à 11 jours de différence par rapport à 2018 et 2020.

En ce qui concerne l'écart entre le jour de début de bourgeonnement et le jour des premières observations de pontes, il est très variable selon les sites et les années. Pour le site ELLOR, cet écart est positif pour 2018 et 2019 ce qui signifie que lorsque les premières pontes sont observées, il y a déjà 10% des pieds de *G. pneumonanthe* qui sont au stade bourgeons. A l'inverse, en 2020 cet écart est négatif de 12 jours ce qui signifie que le début de bourgeonnement de la plante hôte du papillon arrive 12 jours après les premières observations de pontes. De la même façon, pour le site PLANZ cet écart est toujours négatif et s'intensifie au cours des années : en 2020 le début de bourgeonnement est atteint 14 jours après les premières pontes contre 4 jours en 2018, soit 10 jours de différence. Pour le site AEROD, l'écart n'est seulement que d'un jour ce qui signifie que les premières pontes sont observées quasiment au même moment que le stade de début de bourgeonnement atteint par la population de *G. pneumonanthe*. Il en est de même pour le site POUCH (2 jours d'écart). En 2020, cet écart est légèrement supérieur : le début de bourgeonnement est atteint 8 jours avant les premières pontes. Au contraire pour le site POUCH, le début de bourgeonnement est atteint 6 jours après les premières pontes en 2020 alors qu'en 2019 il est atteint 21 jours avant les premières pontes.

NB : pour les sites AEROD en 2018, PLANZ en 2018 à 2020 ces observations sont toutefois à relativisées car les jours des premières observations de pontes sont probablement antérieurs aux jours pris en compte dans les calculs d'écart du fait de la présence déjà attestée de pontes lors des premiers suivis (cas des sites AEROD en 2018 et PLANZ en 2018, 2019 et 2020) ou bien d'absence de pontes alors que les premiers imagos ont été aperçus (cas du site POUCH en 2020). Par conséquent, les écarts sont probablement sous-estimés.

• ***Comportement de pontes de Phengaris alcon sur Gentiana pneumonanthe***

Afin de voir si le comportement de pontes des femelles de *P. alcon* évolue au cours du temps, plusieurs paramètres ont été comparés entre 2018 et 2020 à l'aide de test de comparaison de moyennes. Les résultats des différents tests sont présentés dans les tableaux ci-dessous. A noter que pour ELLOR et PLANZ, certains tests ont été réalisés sur les données relatives aux pieds de *G. pneumonanthe* et non aux hampes car ces dernières ne sont pas disponibles pour l'année 2018.

Le nombre moyen d'œufs par bourgeon/fleur : une différence significative a été révélée entre les deux années seulement pour les sites ELLOR et POUCH (Tab. XVI) pour lesquels le nombre moyen d'œufs par bourgeon/fleur est plus élevé en 2020 par rapport à 2018.

Tab. XVI. Résultats des tests de Wilcoxon-Mann-Whitney sur le nombre moyen d'œufs par bourgeon/fleur.

Sites	Statistique W	p-value	Type test
ELLOR	0	0.002461*	Unilatéral gauche
PLANZ	29.5	0.2524	Bilatéral
AEROD	32	0.1375	Bilatéral
POUCH	0	0.02778*	Unilatéral gauche

Le nombre moyen de bourgeons/fleurs par hampe ou par pied avec pontes : une différence significative a été révélée entre les deux années pour les sites AEROD et POUCH (Tab. XVII). Les résultats montrent que le nombre moyen de bourgeons/fleurs par hampe avec pontes était significativement plus élevé en 2018 par rapport à 2020 pour ces deux sites.

Tab. XVII. Résultats des tests de Wilcoxon–Mann–Whitney sur le nombre moyen de bourgeons/fleurs par hampe ou pied avec pontes.

Sites	Statistique W	p-value	Type test
ELLOR	76	0.2895	Bilatéral
PLANZ	17	0.6282	Bilatéral
AEROD	52	0.01687*	Unilatéral droit
POUCH	58	0.002924*	Unilatéral droit

Le nombre moyen de bourgeons/fleurs par hampe ou par pied sans pontes : aucune différence significative n'a été relevée entre les deux années exceptées pour le site ELLOR (Tab. XVIII) pour lequel les résultats montrent qu'en 2020, le nombre moyen de bourgeons/fleurs par hampe sans pontes était significativement plus élevé en 2018 par rapport à 2020.

Tab. XVIII. Résultats des tests de Wilcoxon–Mann–Whitney sur le nombre moyen de bourgeons/fleurs par hampe ou pied sans pontes.

Sites	Statistique W	p-value	Type test
ELLOR	94	0.01342*	Unilatéral droit
PLANZ	20	0.9452	Bilatéral
AEROD	22	0.3386	Bilatéral
POUCH	46	0.1366	Bilatéral

Comparaison entre le nombre moyen de bourgeons/fleurs par hampe ou pied avec pontes et le nombre moyen de bourgeons/fleurs par hampe ou pied sans pontes : une différence significative est observée pour tous les sites et les deux années, excepté pour PLANZ en 2020 (Tab. XIX). Ainsi, le nombre moyen de bourgeons/fleurs est significativement plus élevé sur les hampes ou pieds qui portent des pontes de *P. alcon*.

Tab. XIX. Résultats des tests de Wilcoxon entre les nombres moyens de bourgeons/fleurs par hampe ou pied avec et sans pontes.

Sites	Statistique V	p-value	Type test
ELLOR 2018	27	0.01563*	Unilatéral droit
ELLOR 2020	21	0.01776*	Unilatéral droit
PLANZ 2018	20	0.03125*	Unilatéral droit
PLANZ 2020	22	0.1094	Unilatéral droit
AEROD 2018	28	0.007813*	Unilatéral droit
AEROD 2020	21	0.01563*	Unilatéral droit
POUCH 2018	28	0.007813*	Unilatéral droit
POUCH 2020	28	0.01563*	Unilatéral droit

En calculant le pourcentage moyen de hampes avec pontes par rapport au nombre de hampes non végétatives (au moins un bourgeon ou une fleur), il est montré que les femelles utilisent entre 15 et 50% des hampes portant au moins un bourgeon ou une fleur selon les sites et les années (Tab. XX). POUCH est le site avec la proportion la plus élevée avec jusqu'à 68% de hampes non végétatives portant des pontes en 2018 au moment du pic d'œufs et 50% en 2019. Les valeurs pour les autres sites et années au moment du pic d'œufs restent proches de la valeur moyenne du Tab. XX.

Tab. XX. Proportions moyennes de hampes avec pontes et écart type pour les quatre sites d'étude selon les années.

Sites	2018	2019	2020
ELLOR	NA	1.6% ± 0.3%*	30.5% ± 4.6%
PLANZ	NA	14.7% ± 4.5%	20.7% ± 7.8%
AEROD	33.9% ± 12.2%	25.6% ± 8.0%	21.2% ± 9.0%
POUCH	52.3% ± 16.4%	35.7% ± 15.9%	44.4% ± 14.2%

*valeur non représentative car très peu de pontes comptabilisées cette année-là.

La majorité des hampes avec pontes portent des bourgeons/fleurs au moment de la ponte pour tous les sites et pour les deux années (Fig. 128). Toutefois quelques œufs sont pondus sur des hampes végétatives malgré la présence de bourgeons ou de fleurs sur des hampes voisines. Cependant, cette proportion reste relativement faible (Tab. XXI).

Tab. XXI. Proportions d'œufs pondus sur des hampes végétatives au cours des suivis.

Sites	2018	2019	2020
ELLOR	2%	0%	1%
PLANZ	11%	14%	2%
AEROD	0%	15%	0%
POUCH	0%	1%	4%

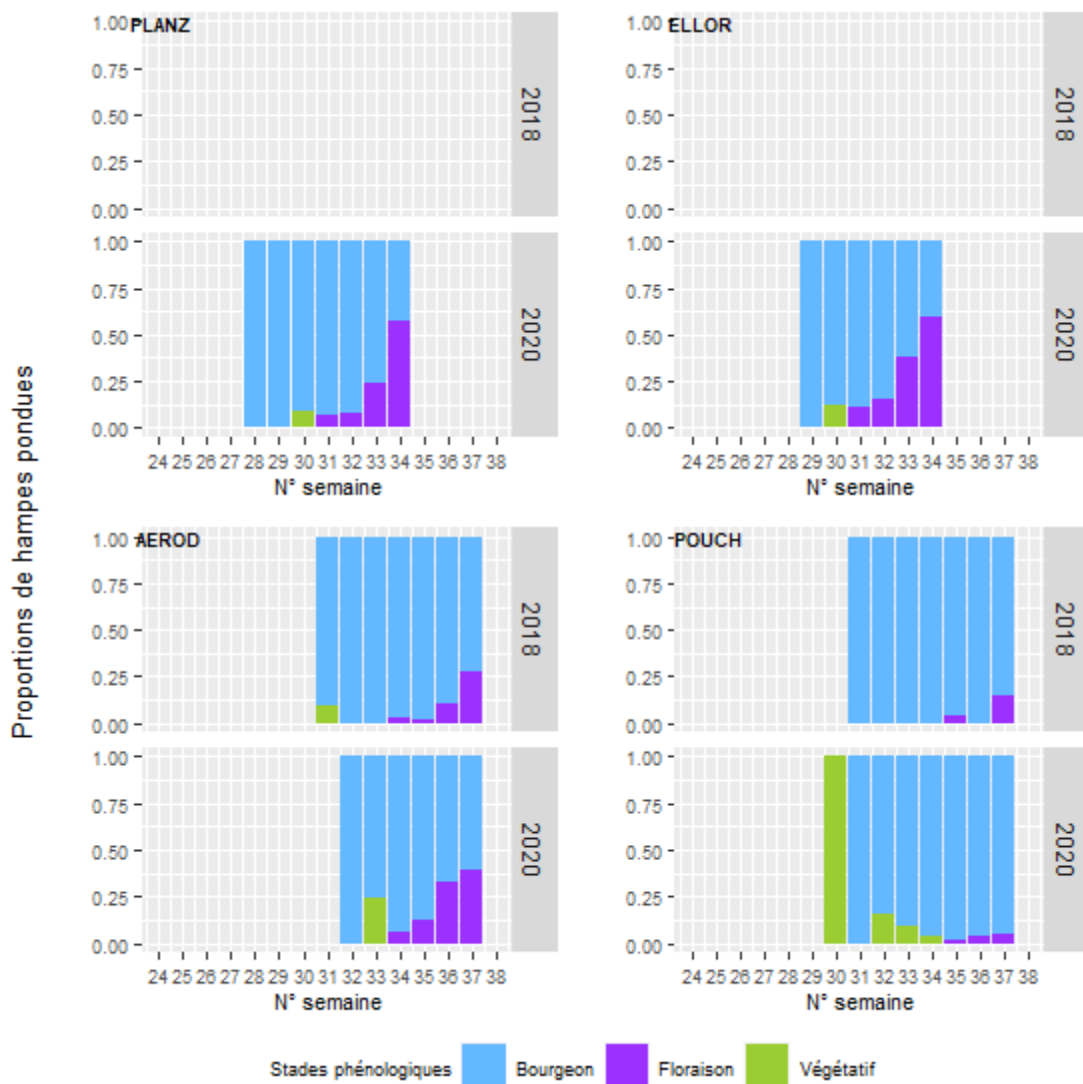


Fig. 128. Évolution au cours du temps et comparaison, entre 2018 et 2020, des proportions de hampes avec pontes selon leur stade phénologique pour les quatre sites d'étude.

En ce qui concerne le positionnement des œufs, la majorité sont pondus au niveau des bourgeons et des fleurs de *G. pneumonanthe* pour tous les sites et les deux années (Fig. 129). Le site POUCH présente toutefois des proportions d'œufs sur les tiges et feuilles plus élevées que sur les autres sites. Des tests de Wilcoxon-Mann-Whitney ont été réalisés afin de voir s'il existe des différences significatives entre les proportions moyennes d'œufs sur les bourgeons/fleurs, sur les tiges et sur les feuilles entre 2018 et 2020 pour chaque site. Les résultats n'ont pas révélé de différence significative, excepté pour le site AEROD concernant la proportion d'œufs sur les feuilles, avec une proportion moyenne plus élevée en 2018 (Wilcoxon-Mann-Whitney, $W = 41.5$, $p\text{-value} = 0.003814$).

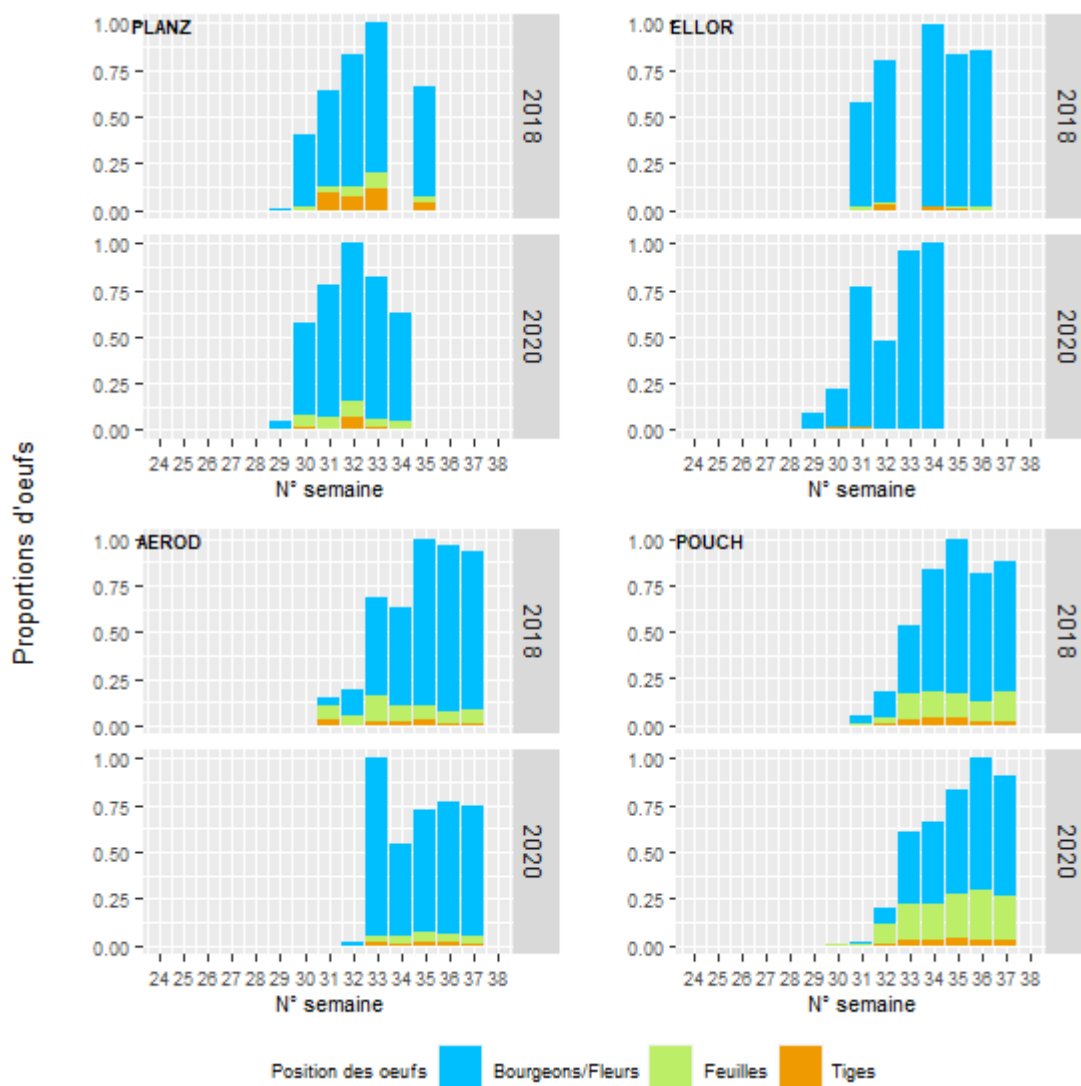


Fig. 129. Évolution au cours du temps et comparaison, entre 2018 et 2020, des proportions d’œufs pondus selon leur positionnement sur les hampes de *G. pneumonanthe* pour les quatre sites d’étude.

3.3.3 Inventaire des fourmis hôtes et suivis de leurs nids

- *Inventaire des fourmis hôtes*

Pour chacun des sites, la date d'inventaire et les conditions d'application du protocole ont été résumées dans le tableau Tab. XXII.

Tab. XXII. Dates des inventaires fourmis et conditions d'applications du protocole.

Site (Dpt)	Jour	Nombre d'observateurs	Heure pose appâts	Heure 1er relevé	T°C 1er relevé	Heure 2ème relevé	T°C 2ème relevé
ELLOR (64)	20/05/20	9	8h53	9h23	18°C	10h23	18°C
POUCH (33)	28/05/20	4	8h30	9h00	14°C	10h00	17,5°C
AEROD (33)	02/06/20	3	8h27	8h58	17°C	9h58	19°C
PANZ (64)	30/06/20	4	13h00	13h29	17°C	14h29	19°C

Au total, 15 espèces de fourmis ont été inventoriées sur l'ensemble des 4 sites d'étude. Les sites présentant la plus grande diversité sont POUCH et ELLOR avec 9 espèces inventoriées, puis PLANZ avec 8 espèces et enfin AEROD avec seulement 3 espèces (Tab. XXIII).

Concernant les *Myrmica*, 3 espèces ont été recensées : *Myrmica scabrinodis*, *Myrmica ruginodis* et *Myrmica sabuleti*. Les 3 espèces sont retrouvées presque systématiquement sur les sites avec une dominance de *Myrmica scabrinodis*, à l'exception du site AEROD où seule *Myrmica sabuleti* a été recensée. C'est sur le site POUCH que *Myrmica scabrinodis* était la plus abondante, avec 52% des appâts positifs contre 31% pour le site ELLOR et seulement 23% pour le site PLANZ (Fig. 130).

Tab. XXIII. Espèces de fourmis recensées et pourcentages associés d'appâts positifs sur les 4 sites d'études.

	AEROD	POUCH	ELLOR	PLANZ
<i>Myrmica scabrinodis</i>	0	52	31	23
<i>Myrmica sabuleti</i>	17	2	11	0
<i>Myrmica ruginodis</i>	0	3	0	8
<i>Tapinoma erraticum</i>	48	35	69	70
<i>Tetramorium gr. caespitum-impurum</i>	23	1	5	1
<i>Lasius platythorax</i>	0	10	22	9
<i>Lasius paralienus</i>	0	0	12	0
<i>Formica cunicularia</i>	0	29	27	8
<i>Formica fusca</i>	0	0	0	29
<i>Formica rufibarbis</i>	0	0	5	0
<i>Formica rufa</i>	0	0	0	5
<i>Formica exaecta</i>	0	0	0	5
<i>Camponotus vagus</i>	0	7	0	0
<i>Aphaenogaster subterranea</i>	0	2	0	0
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	0	0	11	0

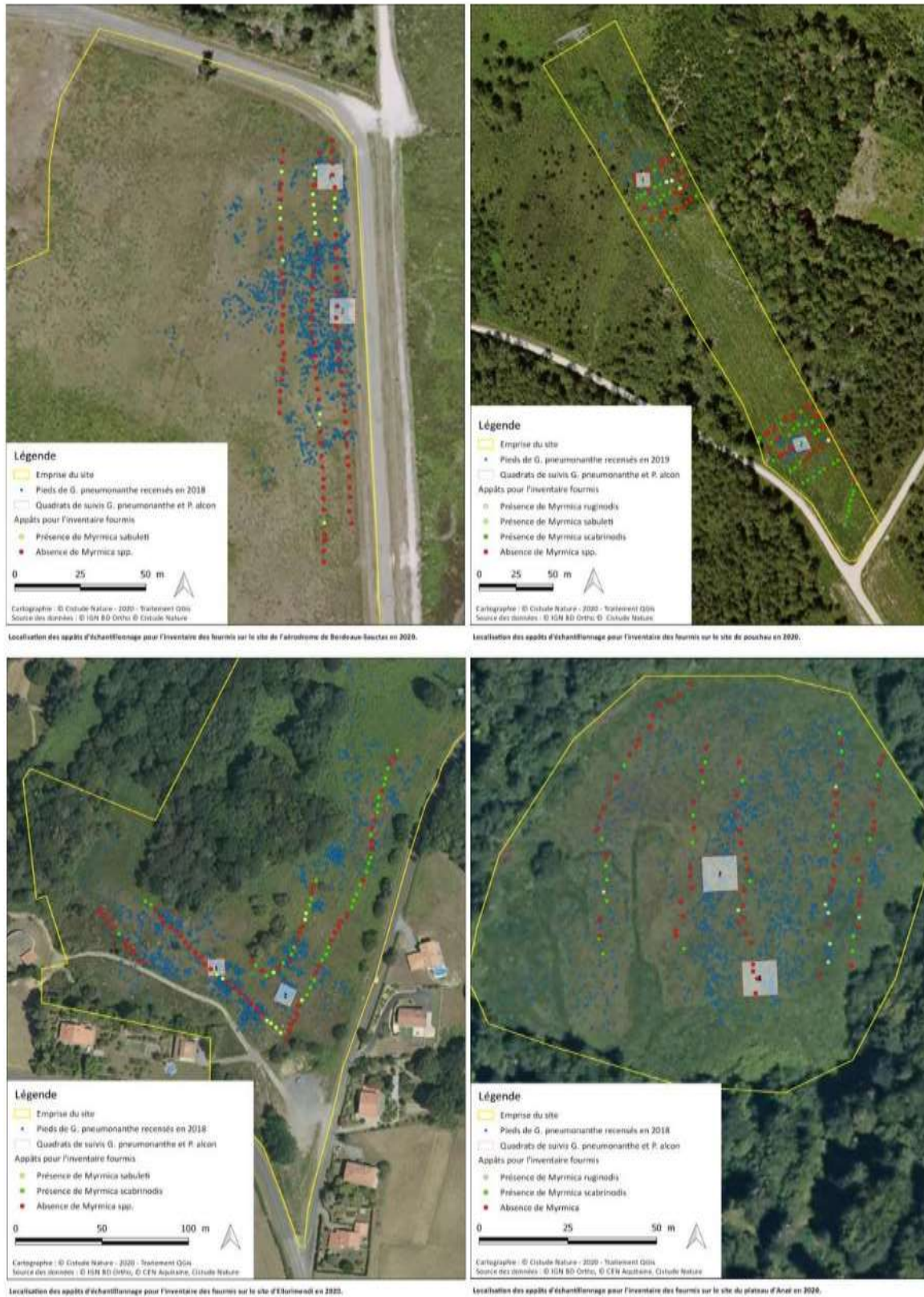


Fig. 130. Localisation des appâts positifs et négatifs aux *Myrmica* sur les 4 sites d'études : en haut à gauche : AEROD, en haut à droite : POUCH, en bas à gauche : ELLOR, en bas à droite : PANZ.

• *Inventaire des nids de Myrmica*

Afin d'ajouter l'indicateur « fourmis » dans le suivi des pieds de *Gentiana pneumonanthe* et des pontes de *Phengaris alcon*, une recherche des nids a été réalisée dans les 2 quadrats de suivis pour AEROD et POUCH et dans un seul quadrat pour les sites PLANZ et ELLOR. Les résultats des quadrats suivis en 2020 sont présentés sur la Fig. 131.

Pour les sites ELLOR et AEROD, les nids n'étant pas visibles, seule la pose d'appât a permis d'indiquer ou non la présence de nids de *Myrmica* dans les quadrats. Pour ELLOR, 12 appâts se sont révélés positifs alors que pour AEROD, tous les appâts se sont révélés négatifs pour les deux quadrats, indiquant l'absence de nid de *Myrmica*. En ce qui concerne les sites PLANZ et POUCH, les nids ont pu être localisés et une densité a pu être calculée : 0,05 nid/m² pour le quadrat n°1 et 0,01 nid/m² pour le quadra n°2 pour POUCH et 0.12nid/m² pour PLANZ.



Fig. 131. a) Nombre de nids de *Myrmica* par sous-quadrat pour les sites POUCH et PLANZ et présence d'appâts positifs par sous-quadrat pour les sites AEROD et ELLOR. b) dispositions des sous-quadrats et présence de *Myrmica* dans les quadrats de suivis de *G. pneumonanthe* et *P. alcon* pour les sites.

• *Analyses des relations biotiques entre les Myrmica et les autres espèces de fourmis*

Les appâts positifs correspondent aux appâts où des ouvrières de *Myrmica* ont été observées. Afin de voir quelles espèces peuvent interagir avec celles-ci sur chacun des sites, le nombre d'appâts positifs pour chaque espèce de fourmis a été relevé (Tab. XXIV).

Sur le site AEROD, *Myrmica sabuleti* est retrouvée seule sur 35% des appâts positifs. Sur le reste des appâts positifs, elle se retrouve en présence de *Tapinoma erraticum* (65% des appâts positifs), espèce ubiquiste qui affectionne particulièrement les milieux ouverts, mais jamais en présence de *Tetramorium gr. caespitum-impurum*. En ce qui concerne les autres sites (POUCH, PLANZ et ELLOR) l'espèce de *Myrmica* dominante est *Myrmica scabrinodis*. Sur ELLOR et PLANZ, elle est principalement

inventoriée en présence de *Tapinoma erraticum* (56% et 48% des appâts positifs, respectivement). D'autres espèces sont également rencontrées sur les appâts positifs sur ces deux sites mais cela concerne à chaque fois qu'un faible nombre d'appâts. Parmi elles, des espèces du genre *Formica* (*Formica cunicularia*, *Formica fusca*, *Formica rufibarbis*) ou bien du genre *Lasius* (*Lasius platythorax*, *Lasius paralienus*) peuvent être notamment citées. Sur le site POUCH, *Myrmica scabrinodis* se rencontre aussi bien seule (37% des appâts positifs) qu'en présence de *Tapinoma erraticum* (23%) et/ou de *Formica cunicularia* (29%). *Camponotus vagus*, espèce de milieux boisés, et *Lasius platythorax* sont également observées en présence de *M. scabrinodis* mais cela concerne que quelques appâts. Enfin, pour les quatre sites, aucune espèce de *Myrmica* n'est retrouvée en présence d'une autre espèce de *Myrmica* sur les appâts.

Tab. XXIV. Nombres d'appâts où l'espèce *Myrmica* dominante (*Myrmica sabuleti* pour AEROD et *Myrmica scabrinodis* pour POUCH, ELLOR et PANZ) a été retrouvée seule et en présence des autres espèces recensées sur chacun des sites. La présence d'un « x » signifie l'absence de l'espèce sur les appâts positifs aux *Myrmica*.

	AEROD	POUCH	ELLOR	PLANZ
<i>Myrmica</i> seule	6	19	3	3
<i>Tapinoma erraticum</i>	11	12	22	14
<i>Tetramorium</i> gr. <i>caespitum-impurum</i>	0	0	0	1
<i>Lasius platythorax</i>	X	4	1	1
<i>Lasius paralienus</i>	X	X	1	X
<i>Formica cunicularia</i>	X	15	8	4
<i>Formica fusca</i>	X	X	X	6
<i>Formica rufibarbis</i>	X	X	1	0
<i>Formica rufa</i>	X	X	X	0
<i>Formica exaecta</i>	X	X	X	X
<i>Camponotus vagus</i>	X	2	X	X
<i>Aphaenogaster subterranea</i>	X	0	X	X
<i>Plagiolepis pygmaea</i>	X	X	3	X

3.3.4 Réserve naturelle du Pinail

En 2020, une démarche de mise en place de suivis de *G. pneumonanthe* et des pontes de *P. alcon* a été entreprise sur le site de la réserve naturelle du Pinail. Pour cela, 3 quadrats ont été positionnés et dans lesquels le nombre de hampe de *G. pneumonanthe* et le nombre d'œufs de *P. alcon* ont été comptés lors du 25 et 26 août (Tab. XXV). Cette opération a également été réalisée sur le secteur E de la réserve.

Tab. XXV. Dates de passage et nombre de hampes, de bourgeons et fleurs en fonction des quadrats.

Quadrats	Coordonnées (WGS84)	Type gestion	Date passage 2020	NB de hampes	NB de bourgeons et fleurs	NB total d'œufs
Secteur E	-/-	-/-	25/06	630	1110	1694
Quadrat E	46°41'58.2"N 0°31'15.3"E	Brulis puis fauche	25/08	257	374	351
Quadrat T	46°42'17.4"N 0°30'54.6"E	Fauche	26/08	9	28	7
Quadrat Q	46°42'32.7"N 0°31'14.5"E	Pâturage	26/08	15	18	0

Comme pour les quatre autres sites, les œufs sont majoritairement pondus au niveau des bourgeons et des fleurs (Fig. 132). À noter que sur le quadrat Q aucun n'œuf n'a été observé lors du passage le 26 août et seulement 7 œufs ont été comptés dans le quadrat T.

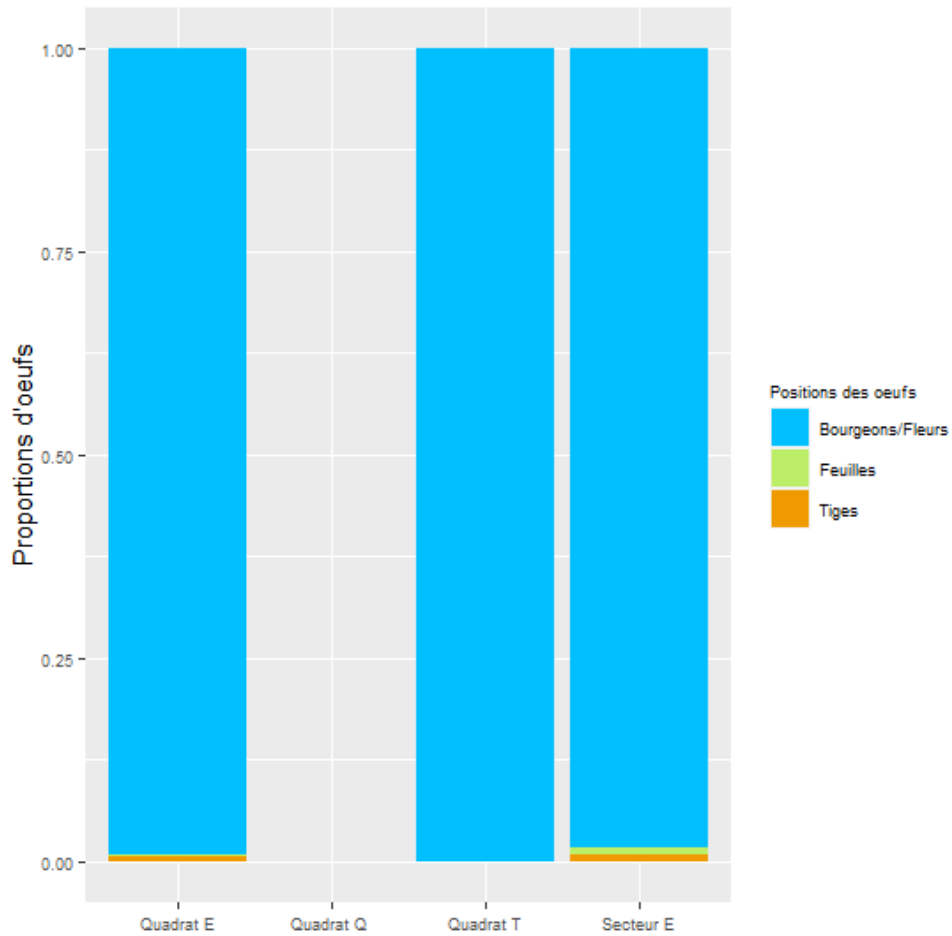


Fig. 132. Proportions d'œufs pondus sur les différentes parties de *G. pneumonanthe* sur 4 secteurs de la réserve du Pinail.

3.4 Discussion

- *Dynamique et phénologie des populations de *Gentiana pneumonanthe**

Le changement climatique peut avoir des conséquences sur les processus démographiques des populations des espèces. Avec l'augmentation des températures moyennes, des changements dans les régimes de précipitations et l'augmentation des événements climatiques extrêmes, les populations ont 3 alternatives : migrer vers un habitat plus favorable, persister dans l'habitat modifié par adaptation ou s'éteindre localement (DAVIS & SHAW, 2001). À travers leur étude réalisée sur des populations de *G. pneumonanthe* situées en Angleterre, ROSE *et al.* (1998) ont montré que les conditions climatiques influencent sur la densité et la vitalité des populations de cette plante. Selon ces auteurs, la mortalité des jeunes pieds et des pieds matures est favorisée par des précipitations abondantes durant la période de dormance, cela étant probablement dû à des inondations prolongées durant les mois d'hiver. La mortalité des jeunes pieds est également favorisée par des sécheresses durant le printemps et l'été, périodes de croissance et de floraison de *G. pneumonanthe* (ROSE *et al.*, 1998). De nombreuses hampes sèches avaient été observées sur le site AEROD en 2019 suite aux deux canicules du mois de juin (MÉTÉO FRANCE, 2019) qui ont occasionné des sécheresses répétées, laissant supposer une diminution du nombre de pieds en 2021. Cependant, les conditions particulièrement humides du printemps 2020 et plus globalement les conditions météorologiques de ces quatre dernières années semblent avoir été favorables aux populations, malgré quelques périodes défavorables, puisque les résultats montrent une augmentation de la densité de pieds entre 2018 et 2020 pour tous les sites. L'analyse du lien entre les données de densité et les données météorologiques prévues en 2021 permettra de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse.

Le changement climatique peut également avoir des conséquences sur les traits des espèces comme la phénologie. Schwartz (2003), in Vitasse (2009) définit la phénologie comme étant « l'étude de la répartition dans le temps des événements biologiques cycliques de la flore ou de la faune qui sont influencés par l'environnement, en particulier par les variations de températures conditionnées par le type de climat ». En étudiant deux populations de *G. pneumonanthe* aux conditions stationnelles différentes en Italie (basse altitude vs haute altitude), CERRATO *et al.* (2016) ont observé une floraison plus précoce sur le site aux conditions plus humides et plus fraîches témoignant le rôle des températures dans la floraison de *G. pneumonanthe* mais aussi de l'humidité atmosphérique et les précipitations. En Nouvelle-Aquitaine, quatre populations de *G. pneumonanthe* sont actuellement étudiées à travers le programme les sentinelles du climat notamment pour l'étude de sa phénologie. Le stade début de bourgeonnement des populations est le paramètre étudié puisque celui-ci est essentiel à *Phengaris alcon*, papillon au cycle de développement qui dépend de la présence de bourgeons ou de fleurs pour le nourrissage de ses chenilles. Des suivis sont effectués depuis maintenant 3 ans sur ces quatre populations. Des différences de floraison avaient déjà été soulignées dès le début des suivis entre les sites avec une floraison plus précoce sur les sites qui présentent un degré d'hygrométrie plus élevé et des précipitations plus abondantes. C'est le cas pour les sites ELLOR situé au Pays Basque (début de floraison fin juin-début août) et PLANZ (début de floraison fin juillet-début août) situé à 800m d'altitude en Béarn. Au contraire, les sites situés en Gironde ont une floraison plus tardive (mi-août-fin août) et un degré d'hygrométrie plus faible. Le calcul, sur trois ans, du jour estimé du début du stade bourgeonnement a permis d'appuyer cette observation. En effet, les deux populations de *G. pneumonanthe* situées dans les Pyrénées-Atlantiques (PLANZ et ELLOR) atteignent le début du stade de bourgeonnement avec 7 jours d'avance (en moyenne sur les 3 ans) par rapport

aux populations situées en Gironde (AEROD et POUCH). En comparant les données de températures et de précipitations moyennes annuelles entre les sites (CLIMATE-DATA.ORG, 2020), PLANZ est le site qui présente une température moyenne la plus faible (10.8°C) avec des précipitations significatives (883mm). ELLOR est, quant à lui, le site avec les précipitations annuelles moyennes les plus abondantes (1315mm) et également la température moyenne la plus élevée (13.5°C). Ainsi, les températures et les précipitations semblent jouer un rôle dans la phénologie de *G. pneumonanthe* sur ces quatre sites et pourrait expliquer les différences qu'il existe entre eux mais aussi les différences qui peuvent parfois être observées entre années. L'analyse, en 2021, du lien avec les données météorologiques relevées à l'aide des stations météo de chaque site permettra d'explorer ces hypothèses. De plus, l'ajout de la réserve du Pinail comme nouveau site d'étude permettra d'augmenter le jeu de données sur la phénologie de *G. pneumonanthe*.

- ***Interactions entre Phengaris alcon et ses deux hôtes, Gentiana pneumonanthe & Myrmica spp.***

La particularité de *Phengaris alcon* est le besoin de deux hôtes pour accomplir son cycle biologique, soit une plante hôte, *Gentiana pneumonanthe*, et une fourmi-hôte du genre *Myrmica*.

L'interaction entre *Phengaris alcon* et *Gentiana pneumonanthe* intervient lors de la ponte : dès leur émergence, les femelles vont pondre des œufs préférentiellement sur les bourgeons et les fleurs afin d'optimiser les chances de survie des larves puisque les trois premiers stades larvaires s'effectuent dans les fleurs de la plante (DUPONT, 2010a). La bonne coordination des événements phénologiques entre les deux espèces est donc primordiale et détermine ainsi la capacité des populations du papillon à se maintenir. Face aux changements climatiques, cette coordination est susceptible d'évoluer et la capacité des populations de ces deux espèces à modifier leur phénologie définira en partie leur capacité à se maintenir ou bien à s'éteindre dans le futur.

De manière générale la phénologie du vol de *Phengaris alcon* est synchronisée avec celle de sa plante hôte, puisque pour tous les sites et à chaque année, le début du stade bourgeons des populations de *G. pneumonanthe* est atteint bien avant le jour où le nombre d'œufs est maximal. De plus, la forte proportion d'œufs pondus sur les bourgeons et les fleurs chaque année attestent de cette bonne synchronisation des phénologies des deux espèces sur tous les sites. Cependant, il arrive parfois que les populations de *G. pneumonanthe* n'aient pas encore atteint le début du stade bourgeons lorsque les premières femelles de *Phengaris alcon* commencent à pondre. C'est notamment le cas pour le site PLANZ chaque année et en 2020 pour ELLOR et POUCH. Cela peut amener les femelles du papillon à pondre sur des hampes végétatives mais le nombre d'œufs concernés reste relativement faible par rapport au nombre total d'œufs pondus. Par ailleurs, les suivis ont permis de constater que émergences de *P. alcon* semblaient démarrer chaque année de plus en plus tôt, notamment sur les sites PLANZ et ELLOR, alors que la date de début de bourgeonnement sur ces deux sites semble quant à elle être plus tardive au cours du temps. Ces observations tendent à justifier l'hypothèse d'un décalage de phénologie entre les deux espèces. Ces observations n'étant pas encore réalisées en Gironde sur les sites POUCH et AEROD, les suivis répétés dans le temps permettront par la suite de confirmer ou non cette tendance et de mettre en exergue des différences d'évolution entre les sites des de Gironde et ceux des Pyrénées-Atlantiques où les effets du changement climatiques risque d'être plus rapide et plus impactant pour les espèces.

Une critique est toutefois réalisable sur l'analyse de la synchronisation des phénologies puisque les calculs d'écart se basent sur des jours estimés pour le début du stade bourgeonnement des

populations de *G. pneumonanthe* alors que les jours de pic d'œufs et de premières observations de pontes se basent sur la date d'observation à laquelle ces deux paramètres sont observés à l'intérieur des quadrats de suivis. Cela peut constituer un biais puisque ces jours ne correspondent probablement pas aux jours réels d'observation de ces deux paramètres. Afin de corriger ce biais, il serait opportun d'estimer le jour de pic d'œufs à l'aide d'un modèle et pour les premières observations de pontes il pourrait être défini par la date de première émergence. Cependant cela imposerait aux chargés de suivis de se rendre sur le terrain tous les jours à partir de la période de début de vol estimé afin de définir ce jour. Or, cela n'est pas envisageable en termes de temps d'investigation de terrain qui serait beaucoup trop important.

Outre la bonne coordination des événements phénologiques avec sa plante hôte, les populations de *P. alcon* peuvent également dépendre de la dynamique de floraison de *G. pneumonanthe*. Une des hypothèses émises est que plus le nombre de bourgeons et de fleurs est important, plus les femelles auront de possibilités pour pondre et moins la concurrence intraspécifique entre les chenilles sera élevée. Le nombre moyen d'œufs par bourgeon et fleur a donc été analysé afin de voir si des variations étaient observées entre années. En 2018, pour tous les sites, les bourgeons et fleurs portaient en moyenne moins d'œufs qu'en 2020, à l'exception du site PLANZ pour lequel aucune variation significative n'a été détectée. En parallèle, les analyses ont révélé que, pour tous les sauf PLANZ, les hampes ou pieds fleuris portant des pontes avaient en moyenne plus de bourgeons et de fleurs, ce qui pourrait donc éventuellement expliquer un nombre moyen d'œufs par bourgeon/fleur plus faible cette année-là. De plus, selon ROSE *et al.* (1998), le nombre de pieds fleuris et le nombre de fleurs par pied sont influencés par les précipitations et les températures : un hiver très pluvieux est défavorable à la floraison alors qu'une année chaude et sèche favorise la floraison pour les deux années suivantes. L'analyse, en 2021, des données météorologiques disponibles pour chaque site permettra de répondre à cette hypothèse.

L'interaction de *Phengaris alcon* avec son deuxième hôte correspond à l'étape d'adoption des chenilles par des fourmis du genre *Myrmica* qui dépend de la répartition de leurs fourmilières et de leur densité. En effet, d'une part, l'adoption est possible si la distance entre le nid et les hampes avec pontes n'excède pas la distance d'affouragement des ouvrières (de 2 à 8 m selon l'espèce, ELMES (1974); MCGLYNN (1994) in ELMES & *al.*, (1998)). Les chenilles qui proviennent de hampes de *G. pneumonanthe* poussant dans un secteur où la densité de fourmilières hôtes est faible, auront peu de chance d'être adoptées. D'autre part, en cas de faible densité des fourmilières hôtes, la capacité d'accueil de celles-ci risquerait d'être dépassée (en moyenne 6 chenilles par nid, en fonction de la taille de la colonie ; THOMAS & ELMES (1998) in FORGEOT (2007)), ce qui provoquerait la mort des chenilles en surnombre.

En 2020, un inventaire des fourmis biaisé en faveur des *Myrmica* a donc été réalisé sur chacun des sites afin, dans un premier temps de déterminer l'espèce de fourmi-hôte principale sur chaque site et, dans un second, de vérifier la bonne présence de *Myrmica* au sein des quadrats de suivis de *G. pneumonanthe* et des pontes de *P. alcon* par la recherche de nids dans l'objectif de vérifier la viabilité des pontes situées dans les quadrats de suivis.

- ***Inventaire des espèces de fourmis sur les sites d'étude***

Les inventaires fourmis ont permis de recenser au total 3 espèces de *Myrmica* tous sites confondus. D'après ROZIER & GUERIN (2014), il existe une adaptation locale du papillon à l'espèce de fourmis hôte la plus abondante dans le milieu. *Myrmica scabrinodis* est l'espèce la plus fréquemment rencontrée

sur les sites POUCH, ELLOR et PLANZ, laissant ainsi supposer qu'il s'agit de la fourmi hôte principale des populations de *Phengaris alcon* sur ces trois sites. En Nouvelle-Aquitaine, d'autres études (BERTOLINI *et al.*, in prep. ; SELLIER & BEAUNE, 2016) ont également permis d'identifier les espèces de fourmis présentes sur quelques sites abritant des populations de *Phengaris alcon* et seule *Myrmica scabrinodis* a été récoltée à proximité des zones de ponte du papillon. *Myrmica scabrinodis* pourrait donc être la fourmi hôte principale en Nouvelle-Aquitaine comme cela l'a été déterminé pour trois populations en France (LHONNORE, 1998 ; ROZIER, 1999 ; STOECKEL & MERCIER, 2001 ; LOUVEAUX *et al.*, 2004 ; BRIERE *et al.*, 2008 in DUPONT, (2010a))

Myrmica sabuleti a également été contactée sur trois sites : POUCH, ELLOR et AEROD. Sur ce dernier, elle est d'ailleurs la seule espèce de *Myrmica* qui a été recensée au niveau de la zone de suivis de *G. pneumonanthe* et *P. alcon*. Si *M. sabuleti* n'a été constatée comme fourmi hôte que dans les Pyrénées-Ariégeoises (Stevens com. pers., 2018 in GOURVIL *et al.*, in prep), il s'agit d'une fourmi hôte pour l'écotype « rebeli » de *Phengaris alcon* (STEINER *et al.*, 2003) ce qui laisse supposer que les chenilles de l'écotype « alcon » peuvent également être adoptée par cette fourmi. *Myrmica sabuleti* viendrait donc remplacer *Myrmica scabrinodis* lorsque l'habitat est plus sec ce qui est notamment le cas sur AEROD où la végétation de lande humide présente une strate herbacée relativement basse et ouverte avec de forts pourcentages de lichens et de sol nu (ROBERT, 2020). En période estivale, les conditions environnementales sont alors plutôt chaudes et sèches ce qui correspond à l'écologie de *Myrmica sabuleti*. Toutefois, d'autres inventaires seraient nécessaires pour vérifier l'absence de *M. scabrinodis* dans les secteurs de pontes, d'autant que l'espèce a également été observée sur une lande mésohygrophile de structure plus haute et se trouvant de l'autre côté de la route jouxtant la zone de suivis (Robert com. pers., 2020). Des imagos de *P. alcon* y sont d'ailleurs fréquemment aperçus lors des suivis rhopalocères de landes humides réalisés au mois d'août et des pieds de *G. pneumonanthe* y sont également présents mais la zone reste beaucoup moins favorable à son développement.

- **Densité de nids de *Myrmica* au sein des quadrats**

Les nids de *Myrmica* étant visibles uniquement sur les sites POUCH et PLANZ, leur recherche au sein des quadrats de suivis n'a pu être réalisée que sur ces deux sites. Le site POUCH, qui semblait être le site le plus favorable aux *Myrmica*, avec 52% des appâts positifs, est celui qui présente la densité de nids au m² la plus faible (0,05 nid/m² pour le quadrat n°1 et 0,01 nid/m² pour le quadrat n°2), celle relevée sur le quadrat suivi en 2020 sur le site PLANZ étant deux fois plus élevée (0.12 nid/m²). Ces densités peuvent apparaître relativement faible comparées aux données issues de la bibliographie (0.25, 0.39, 0.34 et 0.37 nid/m², ROZIER (1999); 0.48–0.65 nid/m², THOMAS (1984)). Cependant, les populations de *P. alcon* sur ces sites sont stables depuis de nombreuses années (critère de sélection des sites). Par conséquent, ces densités semblent suffisantes au maintien des populations du papillon sur ces deux sites d'autant que la densité en nids de *Myrmica* au sein des quadrats n'est pas forcément représentative de celle du site. En effet, d'après ELMES (1974) in FORGEOT (2007), les fourmis montrent une tendance agrégative aux endroits propices et selon l'étude de LOUVEAUX *et al.* (2004), le nombre de nids à un endroit donné peut fortement varier d'une année à l'autre, ce qui est probablement lié en partie à l'extrême mobilité des nids de *M. scabrinodis*. Ainsi, malgré les densités relativement faibles de nids de *Myrmica* observées au sein des quadrats des sites PLANZ et POUCH, ces quadrats apparaissent comme valides pour l'étude des populations de *P. alcon* au regard du changement climatique.

En ce qui concerne les sites AEROD et ELLOR, aucun nid n'a pu être localisé du fait de la difficulté à les détecter (pas de solarium formé par les *Myrmica*, entrées des nids probablement à même le sol). Cependant, la pose d'appâts a permis de mettre en évidence la présence de *Myrmica* dans le quadrat de suivis de 2020 sur le site ELLOR avec 12 appâts positifs aux *Myrmica* ce qui permet de valider également ce quadrat. En revanche dans les deux quadrats de suivis du site AEROD, aucun appât positif aux *Myrmica* n'a été relevé. Il semblerait donc qu'aucun nid de *Myrmica* ne soit présent dans les deux quadrats de suivis sur ce dernier site. Cependant, ces résultats peuvent être dus à un problème de détection lors de l'application du protocole puisque seul du miel a été utilisé comme appât et qu'il a été réalisé début août, période qui n'est pas la plus optimale puisque l'activité annuelle des fourmis est en général maximale entre le 15 avril et le 15 juillet (KAUFMANN *et al.*, 2014). Par conséquent, en 2021, il sera nécessaire de refaire le protocole de pose d'appâts dans les deux quadrats de suivis du site AEROD afin de confirmer ou non l'absence de *Myrmica*. Si tel est bien le cas, le déplacement des quadrats de suivis sera à envisager afin de palier à l'absence de fourmis-hôtes qui pourrait constituer un biais quant à l'évaluation du rôle du changement climatique dans une éventuelle observation d'une diminution des pontes de *P. alcon*.

Ainsi, afin de vérifier la bonne présence continue de *Myrmica* au sein des quadrats de suivis au cours des ans, un protocole simplifié sera mis en place dès 2021 sur tous les sites. Ce protocole consistera à rechercher les nids de *Myrmica* dans les quadrats pour les sites où ils sont visibles, c'est-à-dire pour POUCH et PLANZ, pour lesquels une densité de nids au m² sera calculée. Pour les deux autres sites, ELLOR et AEROD, pour lesquels les nids ne sont pas visibles, la méthode de la pose d'appâts (miel et rillettes de saumon) dans les 25 sous-quadrats composant les quadrats de suivis sera employée et permettra de renseigner la présence ou l'absence de *Myrmica* dans ceux-ci. Ces protocoles seront effectués chaque année lors du premier suivi des pieds de *G. pneumonanthe* sur tous les sites. Un seul quadrat sera donc échantillonné chaque année au même titre que les suivis de *G. pneumonanthe* et *P. alcon*.

- ***Relations biotiques entre les Myrmica et les autres espèces de fourmis***

Les résultats ont montré que *M. scabrinodis* ou *M. sabuleti* se rencontraient très fréquemment avec *Tapinoma erraticum* au niveau des appâts. Cette dernière est une espèce compétitrice qui peut être agressive envers *M. scabrinodis* (LOUVEAUX *et al.*, 2004) et pourrait par conséquent venir perturber la phase d'adoption des chenilles de *P. alcon* par les *Myrmica*, soit en écartant les ouvrières, soit en prédatant les chenilles. En étudiant les interactions de *P. alcon* avec ses deux hôtes sur le marais de l'Ozance en Brenne, LOUVEAUX *et al.* (2004) ont toutefois observé un comportement agressif de *M. scabrinodis* envers *T. erraticum* dans certaine zone. En testant le comportement de ces deux espèces en situation contrôlée de compétition pour une source alimentaire en laboratoire, ils ont également observé un comportement très agressif de *M. scabrinodis* envers les ouvrières de *T. erraticum* qui passaient leur temps à fuir et à se défendre. Ils ont ainsi mis en évidence qu'en situation forcée *M. scabrinodis* est capable de se défendre face à des espèces compétitrices comme *T. erraticum*. C'est donc davantage le nombre d'espèces compétitrices et leur abondance qui seront susceptibles d'interférer avec la récupération des chenilles de *P. alcon* par les *Myrmica* : plus il y aura d'espèces compétitrices, moins les chenilles auront de chances d'être récupérées par une ouvrière de *Myrmica*. D'autres espèces compétitrices ont également été inventoriées sur des appâts où étaient présentes des ouvrières de *Myrmica* : *Tetramorium gr caespitum-impurum*, *Lasius platythorax*, *Camponotus*

vagus et *Aphaenogaster subterranea*, *Formica* spp. (KAUFMANN & MERCIER, 2013) mais la proportion d'appâts concernés est beaucoup plus faible pour ces espèces.

Les comportements de compétition entre espèces de fourmis peuvent également intervenir durant la (re)colonisation d'un milieu à la suite d'une perturbation telles qu'une modification du micro-climat (température, humidité) ou de la structure de végétation auxquelles les *Myrmica* sont directement sensibles (ELMES *et al.*, 1998). A plus ou moins long terme, le changement climatique est susceptible d'entraîner de telles perturbations (vagues de chaleur et épisodes pluvieux intenses, etc.) pouvant engendrer des phénomènes de compétition entre espèces pour l'accès aux sites de nidification et aux ressources alimentaires lors de la recolonisation du milieu. Les *Myrmica* étant généralement des espèces peu compétitrices, elles pourraient alors s'en trouver défavoriser, impactant les populations de *P. alcon* si les nids de *Myrmica* venaient à se situer en dehors des zones de pontes du papillon. Le protocole de suivis de la présence de *Myrmica* au sein des quadrats de suivis permettra en outre d'écarter ce paramètre si le nombre d'œufs venait à diminuer.

3.5 Conclusion

Les suivis sur plusieurs années ont permis de mettre en évidence des décalages des événements phénologiques relatifs aux deux espèces, *P. alcon* et *G. pneumonanthé* dont les évolutions au cours du temps dépendent du contexte géographique. Sur les sites des Pyrénées-Atlantiques, un décalage entre l'émergence du papillon et le début du stade bourgeons a d'ailleurs été mis en évidence sans pour autant affecter la qualité des pontes puisque le pic d'œufs est toujours postérieur au début du stade bourgeonnement des populations de *G. pneumonanthé*. Ce sont les suivis répétés dans le temps qui permettront de confirmer cette tendance et de mettre exergues des différences d'évolution entre les sites des Pyrénées-Atlantiques et ceux de Gironde en lien avec le changement climatique. L'analyse, en 2021, de ces différentes observations en lien avec les données météorologiques récoltées sur chaque site, permettra en outre de comprendre ces différences entre sites.

Les inventaires fourmis de cette année ont permis déterminer les espèces de *Myrmica* les plus abondantes et d'identifier la potentielle espèce hôte principale sur chacun des sites. La recherche de présence de *Myrmica* au sein des quadrats de suivis a permis de valider les quadrats pour les sites ELLOR, PLANZ et POUCH. Pour les quadrats du site AEROD, le protocole devra être reconduit en 2021 afin de s'assurer que l'absence de *Myrmica* au sein des quadrats n'était pas due à un biais du protocole. Si tel est bien le cas, le déplacement des quadrats de suivis sera à envisager afin de palier à l'absence de fourmis-hôtes qui pourrait constituer un biais quant à l'évaluation du rôle du changement climatique dans une éventuelle observation d'une diminution des pontes de *P. alcon*.