

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

SÉLECTION D'UNE ESPÈCE DE TRICHOGRAMMES POUR LUTTER  
BIOLOGIQUEMENT CONTRE LA TORDEUSE DES CANNEBERGES

MÉMOIRE  
PRÉSENTÉ  
COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DE LA MAÎTRISE EN BIOLOGIE

PAR  
DIDIER LABARRE

JANVIER 2021



## REMERCIEMENTS

La réalisation de ce projet n'aurait pu être possible sans l'implication de près ou de loin de nombreux acteurs. Dans un premier temps, je tiens à remercier mon directeur de recherche, Éric Lucas. En plus d'être un mentor hors pair d'un point de vue scientifique, tu as su m'apporter le soutien nécessaire à la réalisation de chacune des étapes du projet et bien d'autres. Grâce à ton expertise, j'ai pu mettre en œuvre ma créativité et intérêt pour la recherche fondamentale et j'ai pris un énorme plaisir à le faire. Ton ouverture, enthousiasme à participer et embarquer dans tous les projets que j'entreprends ainsi que la liberté que tu me laisses pour combler ce besoin d'exploration que j'ai fait et continue de faire une réelle différence dans mon développement professionnel et personnel. Pour ce soutien inconditionnel, je t'en suis énormément reconnaissant.

J'aimerais également remercier mon codirecteur, Daniel Cormier. Tout comme Éric, tu es toujours partant pour développer de nouveaux projets et explorer de nouvelles thématiques. Ton expertise au niveau appliqué fut des plus appréciées et tu as su me transmettre l'importance de la vulgarisation et transfert de connaissance, un domaine dans lequel tu excelles! Ta passion contagieuse pour l'entomologie en milieu agricole me donne constamment envie d'en faire et d'en apprendre toujours plus. J'ai eu beaucoup de plaisir à travailler avec toi et j'espère sincèrement que nos collaborations se continueront longtemps.

Je tiens également à remercier Isabelle Drolet qui a été l'instigatrice de ce projet et a supervisé les essais terrain. Ta passion pour l'agriculture, ta détermination et ta

conviction qu'il est possible de cultiver dans un plus grand respect de l'environnement m'ont grandement inspiré.

Des remerciements sont également d'augure envers mes employeurs des dernières années, le Club environnemental et technique atocas Québec et L'Association des producteurs de canneberges du Québec. Votre ouverture à engager un étudiant et à accepter mes conditions de conciliation travail-étude ont été grandement appréciées et m'ont permis de me développer énormément d'un point de vue professionnel. Je tiens à mentionner l'appui spécial de François Gervais et Monique Thomas pour votre collaboration et immense confiance. Un merci également à l'équipe technique de ces deux organisations composée de Yannick Arel-Rheault, Alex Audet, Anthony Beaudoin, Catherine Dalpé, François Gagné, Karine Gagné, Josée Mailloux, Josée Maltais, Anne-Julie Verrault et Josée Verville.

Je tiens également à remercier tous les membres du laboratoire de lutte biologique présents et passés. Une équipe de passionnés par la science et les insectes qui permettent de créer un environnement propice à l'apprentissage. Dans un ordre aléatoire, merci à Marie-Ève Gagnon, Stéphane Barriault, Ymilie Francoeur, Julie Marigil, Aurélien Stirnemann, Jonathan Bernardo-Santos, Audrey Lafrenaye, Yacine Ouattara, Alice De Donder, Claudine Desroches, Jesse Tinslay, Arlette Fauteux, Pierre Royer, Julie-Éléonore Maisonhaute, Eleonora Operti, Paula Cabrera, Marie D'Ottavio, Noémie Gonzalez et Mireia Sola. Un énorme merci à Marc Fournier pour le soutien technique et présence amicale.

Il est aussi important de souligner la précieuse collaboration du laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection du Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de

l’Alimentation (MAPAQ) et plus spécialement Jean-Philippe Légaré, Joseph Moisan-De Serres, Mario Fréchette et Martin Breton. Merci également à l’équipe d’Anatis Bioprotection, Silvia Todorova et Mylène St-Onge pour votre collaboration, au Pr Richard Stouthamer de l’Université de la Californie-Riverside ainsi que Guy Boivin et Danielle Thibodeau d’Agriculture et Agroalimentaire Canada. Merci également à tous les producteurs partenaires de ce projet.

Ce projet a été financé par le volet 4 du programme Prime-Vert 2013-2018 du MAPAQ par l’intermédiaire de la Stratégie phytosanitaire québécoise en agriculture 2011-2021.

Enfin, je tiens à remercier ma famille, Louise, Claude, Étienne, Lydia, Jade, Mégane et Héloïse. Votre amour et soutien inconditionnel ont joué un grand rôle dans cette réalisation. Merci, je vous aime.



## DÉDICACE

À mes parents Louise et Claude pour  
avoir su me transmettre votre passion  
et amour pour la nature, l'écologie et  
l'agriculture.



## AVANT-PROPOS

Ce mémoire présente un projet de recherche en phytoprotection portant sur le processus de sélection d'un agent de lutte biologique du genre *Trichogramma* (Hymenoptera : Trichogrammatidae). L'objectif principal est de sélectionner une espèce de trichogrammes présentant un fort potentiel de lutte contre la tordeuse des canneberges, *Rhopobota naevana* (Hübner) (Lepidoptera : Tortricidae) dans la culture de la canneberge au Québec. Le Chapitre 1 est divisé en quatre sections représentants les éléments théoriques principaux associés à cette étude soit : les disciplines de la phytoprotection et lutte biologique, l'utilisation de trichogrammes en tant qu'agents de lutte biologique, la culture de la canneberge au Québec, Canada ainsi que la tordeuse des canneberges.

Il fut suggéré que la première étape dans le processus de sélection d'un agent de lutte biologique est la réalisation d'un inventaire des ennemis naturels au sein de la culture ciblée. En raison de la forte diversité spécifique du genre *Trichogramma* cette étape est même fortement suggérée. Le Chapitre 2 présente donc un inventaire des espèces de trichogrammes naturellement présentes au sein de cannebergières de la principale région productrice de canneberges au Québec : le Centre-du-Québec. Puisque l'identification taxonomique des trichogrammes représente un défi de taille et que la systématique du groupe demeure, encore à ce jour, mal comprise, les spécimens collectés lors de cet inventaire ont été identifiés grâce au séquençage de l'ADN ribosomal de la région de l'espaceur interne transcrit 2 et d'une analyse de similarité avec des spécimens de référence. Les espèces identifiées à cette étape ont donc été

considérées comme candidates potentielles pour lutter contre la tordeuse des canneberges.

Le Chapitre 3, quant à lui, présente une étude de cas réalisée en cannebergières au Québec qui s'affaire à proposer une nouvelle méthode de sélection d'un agent de lutte biologique. Inspiré du concept de synchronisation spatio-temporelle suggéré par Godfray (1994), cette méthode propose de structurer l'inventaire des espèces naturellement présentes dans un système et d'en extraire des indicateurs écologiques d'exploitation du ravageur ciblé en tant que ressource par un ennemi naturel. Cette méthode permet ainsi de restreindre le nombre d'espèces candidates potentielles pour la lutte biologique. L'adéquation de la technique proposée a été validée en laboratoire en évaluant le taux de parasitisme des différentes espèces de trichogrammes inventoriées en cannebergières québécoises sur les œufs de la tordeuse des canneberges.

Cette méthode représente un intermédiaire en termes d'efforts de recherche précédant l'introduction d'un agent de lutte dans un système entre la réalisation d'études extensives et une approche par essais erreur. Cette nouvelle méthode permet de tirer profit au maximum de l'inventaire généralement effectué en début de processus de sélection afin de réduire les efforts et coûts de recherche tout en augmentant les chances de succès de l'utilisation de l'agent de lutte. Enfin, l'espèce ciblée dans le cadre de ce projet représenterait la meilleure candidate afin de mettre sur pied un programme de lutte biologique contre la tordeuse des canneberges au Québec, un sujet qui sera également discuté au Chapitre 4.

Les chapitres 2 et 3 sont présentés sous forme d'articles et seront soumis à l'acceptation de la version finale du présent mémoire.

## TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS .....	ix
LISTE DES FIGURES .....	xv
LISTE DES TABLEAUX .....	xvii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES .....	xix
LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS .....	xxi
RÉSUMÉ .....	xxiii
ABSTRACT .....	xxv
CHAPITRE I	
INTRODUCTION .....	1
1.1    Concepts théoriques en phytoprotection.....	1
1.1.1    La protection des plantes.....	1
1.1.2    Les ravageurs et leur gestion.....	1
1.1.3    La lutte biologique .....	3
1.1.4    Les trichogrammes .....	5
1.2    Système biologique : les cannebergières .....	8
1.2.1    La canneberge .....	8

1.2.2 L'industrie .....	9
1.2.3 Les ravageurs.....	12
1.2.4 La lutte intégrée en production de canneberges .....	13
1.3 La tordeuse des canneberges.....	14
1.3.1 Cycle de vie .....	14
1.3.2 Importance et dommages.....	18
1.3.3 Suivi des populations.....	19
1.3.4 Lutte contre la tordeuse des canneberges .....	20
1.4 Sélection d'un agent de lutte biologique .....	24
1.4.1 Éléments à considérer .....	24
1.4.2 Sélection d'une espèce de trichogrammes.....	29
1.5 Problématique .....	36
1.6 Objectifs et hypothèse .....	37
1.6.1 Objectifs principaux .....	37
1.6.2 Objectifs spécifiques.....	38
1.6.3 Hypothèse de recherche.....	38
1.6.4 Justification méthodologique.....	39
 CHAPITRE II	
SURVEY OF <i>TRICHOGRAMMA</i> (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) NATURAL POPULATIONS IN QUEBEC CRANBERRY BOGS AND IDENTIFICATION USING RDNA ITS-2 SEQUENCE ANALYSIS.....	41
2.1 Résumé.....	42
2.2 Abstract .....	43

2.3	Introduction.....	44
2.4	Material and methods .....	46
2.4.1	Field survey .....	46
2.4.2	Molecular identification.....	48
2.5	Results .....	50
2.6	Discussion.....	53
2.7	Acknowledgements.....	55
2.8	References.....	57

### CHAPITRE III

#### NEW APPROACH FOR NARROWING DOWN POTENTIAL BIOCONTROL AGENTS: A CASE STUDY AIMING TO SELECT A *TRICHOGRAMMA* SPECIES TO CONTROL THE BLACK-HEADED FIREWORM (*RHOPOBOTA NAEVANA*) IN QUEBEC CRANBERRY BOGS .....

3.1	Résumé .....	66
3.2	Abstract.....	67
3.3	Introduction.....	68
3.4	Material and methods .....	72
3.4.1	Data set – Field Survey .....	72
3.4.2	Parasitism Level Assessment .....	73
3.4.3	Statistical analyses .....	74
3.5	Results .....	76
3.5.1	Host-Parasitoid Synchronization.....	76
3.5.2	Parasitism Level Assessment in Petri Dish.....	80
3.6	Discussion.....	81

3.7 Acknowledgements .....	87
3.8 References .....	88
CHAPITRE IV CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES FUTURES .....	95
RÉFÉRENCES .....	103

## LISTE DES FIGURES

Figure	Page
1.1 Morphologie d'une femelle adulte trichogramme (tiré de Pak, 1988; dessin de P. J. Kostense).....	5
1.2 Cycle de vie des trichogrammes (tiré de Hoffman et Frodsham, 1993, traduction libre) .....	7
1.3 Morphologie d'un plant de canneberge montrant (A) des tiges érigées, (B) un stolon et (C) des fruits (tiré de Eck, 1990).....	9
1.4 Stades de développement de la tordeuse des canneberges ( <i>Rhopobota naevana</i> ); (A) œuf, (B) larve, (C) nymphe mâle, (D) adulte. Photos : (A, C) Didier Labarre, UQAM; (B, D) Joseph Moisan-DeSerres, MAPAQ) ...	17
1.5 Champ de canneberges avec (A, C) peu de dommages (< 5 % de perte de rendements) et (B) beaucoup de dommages (> 95 % de perte de rendements) de tordeuse des canneberges (crédit photo : François Gervais, CETAQ, 2017).....	19
2.1 Disposition of black-headed fireworm pheromone traps and <i>Ephestia kuehniella</i> sentinel eggs within the experimental cranberry beds Quebec, Canada during 2016 and 2017 growing seasons.....	47
2.2 Distance dendrogram for the region ITS-2 among reference specimens and the specimens of <i>Trichogramma</i> spp. that emerged from egg masses in Quebec, Canada cranberry bogs during the 2016-2017 growing seasons. Horizontal grey line representing the 15 % distance threshold .....	50

2.3	Relative abundance of parasitized sentinel egg masses among sites (in X) and relative abundance of <i>Trichogramma</i> species that emerged from egg masses within each site (in Y) collected in Quebec, Canada cranberry bogs during the 2016-2017 growing seasons. Dotted lines indicate the absence of either one of the species at a given site.....	51
3.1	Disposition of black-headed fireworm pheromone traps and <i>Ephestia kuehniella</i> sentinel eggs within the experimental cranberry beds Quebec, Canada during 2016 and 2017 growing seasons.....	73
3.2	Logistic regression representing the probability of parasitism on sentinel eggs by <i>Trichogramma minutum</i> , <i>Trichogramma ostriniae</i> , <i>Trichogramma pretiosum</i> and <i>Trichogramma brassicae</i> depending on the number of black-headed fireworm weekly captured in pheromone traps in Quebec, Canada cranberry bogs during the 2016 and 2017 growing seasons. *** $P < 0.001$ .....	77
3.3	Standardized number of individuals of four parasitoid species ( <i>Trichogramma brassicae</i> , <i>Trichogramma minutum</i> , <i>Trichogramma ostriniae</i> and <i>Trichogramma pretiosum</i> ) that emerged from egg masses and black-headed fireworm captured using pheromone traps depending on the distance from the closest dike in Quebec, Canada cranberry bogs during the 2016 and 2017 growing seasons.....	79
3.4	Number of individuals of black-headed fireworm collected using pheromone traps and <i>Trichogramma brassicae</i> , <i>Trichogramma minutum</i> , <i>Trichogramma ostriniae</i> and <i>Trichogramma pretiosum</i> that parasitized sentinel egg masses by Julian day in Quebec, Canada cranberry bogs for the 2016 and 2017 growing seasons. Vertical lines represent black-headed fireworm flight peaks.....	80
3.5	Number of black-headed fireworm eggs parasitized by <i>Trichogramma brassicae</i> , <i>Trichogramma minutum</i> , <i>Trichogramma ostriniae</i> , <i>Trichogramma pretiosum</i> , <i>Trichogramma sibericum</i> and in controls in laboratory conditions. Different letters represent significative differences at $P < 0.05$ . ....	81

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
1.1 Évolution du nombre de producteurs, des superficies en production et du volume de canneberges récoltées au Québec de 2006 à 2018 (tiré de APCQ, 2019) .....	10
1.2 Critères de sélection d'un agent de lutte biologique en fonction du type de lutte (tiré de van Lenteren, 1980; traduction libre) .....	25
1.3 Critères utilisés afin de sélectionner une espèce de trichogrammes pour lutter contre un ravageur appartenant à l'ordre des lépidoptères (tiré de Scholz, 1990; traduction libre) .....	31
2.1 Summary of the number of <i>Ephestia kuehniella</i> sentinel egg masses placed and retrieved, number of mass parasitized and identification of the <i>Trichogramma</i> species that emerged from egg masses in Centre-du-Québec region, Quebec, Canada cranberry bogs for each sampling period in relation to the life cycle of the black-headed fireworm.....	52
3.1 Summary of the zero-inflated negative binomial regression performed to assess the relationship between the number of captures or parasitism occurrence of each species studied ( <i>Rhopobota naevana</i> , <i>Trichogramma brassicae</i> , <i>Trichogramma minutum</i> , <i>Trichogramma ostriniae</i> , <i>Trichogramma pretiosum</i> ) and the distance from the closest dike.....	78

3.2 Slope differences for the relationship between the number of parasitism occurrence and distance from the closest dike among the four species of parasitoid studied ( <i>Trichogramma brassicae</i> , <i>Trichogramma minutum</i> , <i>Trichogramma ostriniae</i> , <i>Trichogramma pretiosum</i> ) and the number of captures of black-headed fireworm in pheromone traps.....	78
--	----

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES**

APCQ	Association des Producteurs de Canneberges du Québec
CETAQ	Club Environnemental et Technique Atocas Québec
CHUL	Centre Hospitalier Universitaire Laval
dNTP	Désoxyribonucléoside triphosphate
F	Forward
FAO	Food and Agriculture Organization
GIEC	Gestion Intégrée des Ennemis des Cultures
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
ITS-2	Internal Transcribed Spacer 2
LEDP	Laboratoire d'Expertise et de Diagnostic en Phytoprotection
MAPAQ	Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec
PCR	Polymerase Chain Reaction
R	Reverse
Taq DNA	Thermostable DNA polymerase I
UQAM	Université du Québec à Montréal



## LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS

©	Copyright
cm	Centimètre
D	Darkness
°C	Degré Celcius
σ	Écart Type / Standard deviation
ha	Hectare
Kg	Kilogramme
L	Lumière / Light
m	Mètre
µL	Microlitre
mL	Millilitre
mm	Millimètre
µ	Moyenne / Mean
O	Obscurité
±	Plus ou moins
Spp.	Plusieurs espèces (species plurimae)
%	Pourcentage
®	Registered
R. H.	Relative Humidity
U	Unité / Units



## RÉSUMÉ

La tordeuse des canneberges, *Rhopobota naevana* (Hübner) (Lepidoptera: Tortricidae) est un ravageur majeur de la canneberge et peut causer des dommages pouvant atteindre jusqu'à 95 % de la récolte annuelle. Actuellement, au Canada, très peu d'options en termes de bio-insecticides sont disponibles et l'efficacité de ces outils est variable et limitée. Ayant démontré leur efficacité pour la lutte biologique de différents lépidoptères, les trichogrammes représentent donc une méthode de lutte alternative potentielle. Ce projet a pour objectif de sélectionner une espèce de trichogrammes prometteuse pour lutter contre ce ravageur majeur de la canneberge. Dans un premier temps, un inventaire des espèces naturellement présentes au sein des cannebergières du Québec a été réalisé afin de dresser une liste des espèces candidates potentielles. Ensuite, une analyse spatio-temporelle comparative entre les différentes espèces de trichogrammes échantillonnés et la présence des œufs de la tordeuse des canneberges a été réalisée afin d'extraire un indicateur d'exploitation de la ressource a été effectué. Cette approche, présentée comme une étude de cas, et est par ailleurs proposée comme un outil permettant d'accélérer le processus de sélection en éliminant les espèces candidates qui ne présentent aucun signe d'utilisation du ravageur ciblé en tant qu'hôte ou proie. Enfin, cette approche fut validée au sein du système à l'étude à l'aide d'essais de parasitisme en laboratoire.

Mots-clés : analyse spatio-temporelle, lutte biologique, parasitoïde, *Rhopobota naevana*



## ABSTRACT

The black-headed fireworm, *Rhopobota naevana* (Hübner) (Lepidoptera: Tortricidae) is a major cranberry pest and can cause up to 95 % yield loss. Currently, in Canada, very few organic certified insecticides are registered and their efficacy is variable and limited. Having demonstrated their potential as biological control agent against various Lepidopteran pests, *Trichogramma* spp. therefore represent a potential alternative control method. The aim of this project is to select a promising *Trichogramma* species to control the black-headed fireworm in Quebec cranberry bogs. Firstly, survey of the species naturally occurring in Quebec cranberry bogs was carried out in order to draw a list of potential candidate species. Then, a comparative space-time analysis among the different *Trichogramma* species sampled and black-headed fireworm eggs was performed and used as an indicator that the parasitoids are using *R. naevana* as a host. This approach, presented as a case study, is also proposed as a tool to accelerate the selection process by narrowing down the list of potential candidate species. Finally, this approach was validated within the system under study using laboratory parasitism tests.

Keywords: biological control, parasitoid, *Rhopobota naevana*, spatio-temporal analysis



## **CHAPITRE I**

### **INTRODUCTION**

#### **1.1 Concepts théoriques en phytoprotection**

##### **1.1.1 La protection des plantes**

L’agriculture a fortement contribué à l’amélioration des conditions de vie et à l’accroissement de la population mondiale, mais en contrepartie, a également rendu l’homme très dépendant des rendements des systèmes agricoles qu’il a mis en place (Larsen, 1995). Les plantes domestiquées par l’homme, comme tout organisme vivant, interagissent avec les autres espèces composant leur écosystème et en subissent parfois leurs agressions (Metcalf et Luckmann, 1994). Champignons, virus, insectes et autres peuvent s’attaquer directement aux tissus des espèces cultivées, alors que les mauvaises herbes entrent en compétition avec leurs ressources. Les différentes interactions avec ces organismes peuvent engendrer des pertes de rendements substantielles aux cultures (Panneton *et al.*, 2000). Afin d’assurer la prospérité des populations humaines dépendantes de ces systèmes agricoles est née la discipline de la phytoprotection ou protection des plantes.

##### **1.1.2 Les ravageurs et leur gestion**

Les ravageurs sont des organismes (plantes, animaux, pathogènes) présents en grande quantité dans un système agricole et qui nuisent à la productivité de ce dernier (Oerke, 2006). Les ravageurs peuvent être classés de façon fonctionnelle en plusieurs catégories soit : réducteurs de biomasse, inhibiteur de photosynthèse, accélérateurs de

la sénescence des feuilles, compétiteurs pour la lumière, l'eau et les ressources nutritives, exploiteurs de sève, consommateur de tissus et réducteur de turgescence (Boote *et al.*, 1983).

Le développement d'outils mécanisés, la production d'engrais et de pesticides chimiques ont contribué à façonner un paysage agricole moderne et graduellement l'orienter vers une dominance des monocultures (Horwith, 1985). Cette perte de biodiversité diminue la résilience des systèmes agricoles et les rend particulièrement vulnérables aux ravageurs (Risch *et al.*, 1983; Metcalf et Luckman, 1994; Altieri et Nicholls, 2004). Afin de limiter d'éventuelles pertes de rendements associées à la présence de ces ennemis des cultures, des mesures dites de « lutte » ou de « gestion des ravageurs » peuvent être alors entreprises. Parmi ces méthodes de lutte, on compte la lutte chimique, la lutte physique, la lutte autocide, l'utilisation de méthodes culturales, l'exploitation de résistances de l'hôte et la lutte biologique (Flint et van den Bosch, 2012). La lutte intégrée, quant à elle, représente l'utilisation de toute méthode de lutte appropriée, et donc fréquemment un amalgame de celles précédemment énumérée, d'une façon compatible afin de limiter les populations sous un niveau où elles causeraient des pertes économiques (FAO, 2004; Adli, 2017). Par ailleurs, en amont des différentes interventions abordées, la lutte intégrée prévoit différentes étapes telles que le développement de connaissances sur les ennemis des cultures, l'utilisation de méthodes préventives d'atténuation des risques, un suivi des populations des ravageurs à l'aide de différentes méthodes de dépistage (Adli, 2017). Également, une étape d'évaluation et de rétroaction sur les interventions est prévue à la suite de l'intervention choisie (Adli. 2017).

Dans les débuts de l'agriculture moderne, il y a environ 10 000 ans, une multitude de techniques étaient utilisées afin de limiter les populations de ravageurs et ainsi assurer la sécurité alimentaire (Thacker, 2002). Or, à la fin de la Seconde Guerre mondiale, le monde agricole a connu l'avènement de molécules synthétiques hautement efficaces et peu dispendieuses; ce qui a eu comme effet de restreindre l'usage et le développement des autres méthodes de lutte, à tout le moins, dans le monde occidental (Winston, 1999). Toutefois, malgré le fait que l'usage des pesticides ait connu une forte croissance au cours du dernier siècle, les dommages aux cultures causés par les ravageurs semblent continuer à augmenter (Pimentel *et al.*, 1991). Par ailleurs, il est à noter que l'évaluation que l'on fait des bénéfices associés l'usage des insecticides, herbicides et fongicides est principalement faite en fonction des rendements des cultures cibles, mais leur usage a également des coûts indirects (Pimentel *et al.*, 1992). Les intrants chimiques peuvent, entre autres, affecter la santé humaine, animale, les ennemis naturels, les communautés de polliniseurs, entraîner le développement de résistances ainsi que contaminer le réseau hydrique et sa communauté biotique (Pimentel *et al.*, 1992). En raison de ces coûts indirects est née une volonté de trouver des alternatives à la lutte chimique et donc explorer, de nouveau, les autres méthodes de lutte possibles (Flint et van den Bosch, 2012). Cet ouvrage s'attardera plus particulièrement à la lutte biologique.

### 1.1.3 La lutte biologique

La lutte biologique représente l'usage d'un organisme afin de réduire la population ou densité d'un autre organisme (van Lenteren, 2008). Cette technique a été identifiée comme étant le moyen le plus efficace et présentant le moins de danger pour l'environnement pour lutter contre les populations de ravageurs (van Lenteren, 2008). Trois types de lutte biologique ont été identifiés pour réduire les populations de ravageurs dans un système, soit : la lutte biologique conservative, classique et

augmentative (van Lenteren 2008; Heimpel et Mills, 2017). En outre, une lutte biologique naturelle peut s'effectuer sous l'action de processus intrinsèques de l'écosystème (Solomon, 1949). Par définition, elle ne nécessite aucune intervention humaine et représente donc un service écosystémique important de la biodiversité pour l'agriculture (Waage et Greathead, 1988).

La lutte biologique conservative consiste à aménager l'écosystème dans le but de favoriser la biodiversité naturelle et par extension l'établissement et le maintien des populations d'ennemis naturels (Simon *et al.*, 2014). Cette méthode est particulièrement compatible avec l'agriculture biologique puisque les principes de celle-ci favorisent une plus grande biodiversité locale (Simon *et al.*, 2014). L'implantation de sites refuges à proximité des cultures représente un exemple de cette méthode (Landis *et al.*, 2000).

La lutte biologique classique se réfère à la lutte contre un ravageur exotique par l'utilisation d'un ennemi naturel de ce ravageur provenant de son écosystème d'origine (Waage et Greathead, 1988; Pedigo, 1996). Caltagirone (1981) passe en revue certains cas bien connus de la mise en application de ce type de lutte biologique.

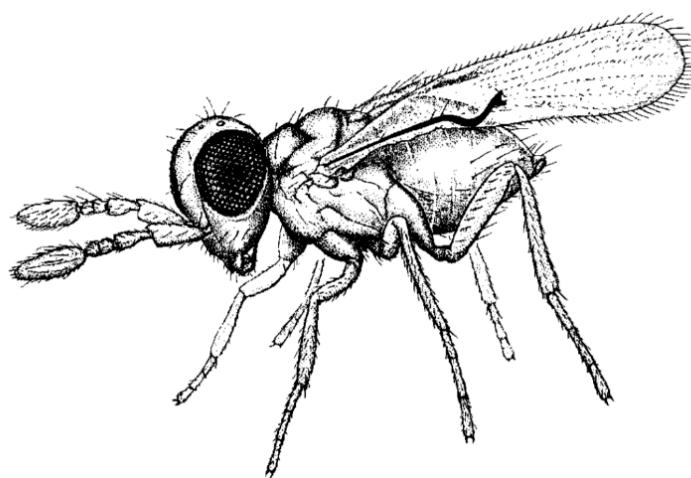
Enfin, la lutte biologique augmentative consiste à relâcher des ennemis naturels au sein d'un système (Waage et Greathead, 1988). Deux types de lutte biologique augmentative ont été identifiés, soit inoculative et inondative. Ce qui distingue ces deux types est que la lutte biologique inoculative est une action ponctuelle d'introduction d'une faible quantité d'individus et qui vise l'établissement et un accroissement naturel des populations de l'agent de lutte (Boivin, 2001). Une variante de celle-ci est la lutte inoculative saisonnière où l'introduction d'un ennemi de lutte est faite périodiquement,

mais dans l'espoir qu'une population locale s'établisse pour une certaine durée de temps (Mansveld et van Lenteren, 1984). La lutte biologique inondative, quant à elle, est utilisée afin de lutter plus spécifiquement contre une génération spécifique d'un ravageur, sans s'attendre à l'établissement d'une population permanente de l'agent de lutte biologique (Waage et Greathead, 1988). Pour cette raison, la lutte biologique inondative implique nécessairement la production d'une grande quantité d'ennemis naturels; une opération appelée élevage de masse (St-Onge, 2016).

#### 1.1.4 Les trichogrammes

##### 1.1.4.1.1 Morphologie, taxonomie et histoire de vie

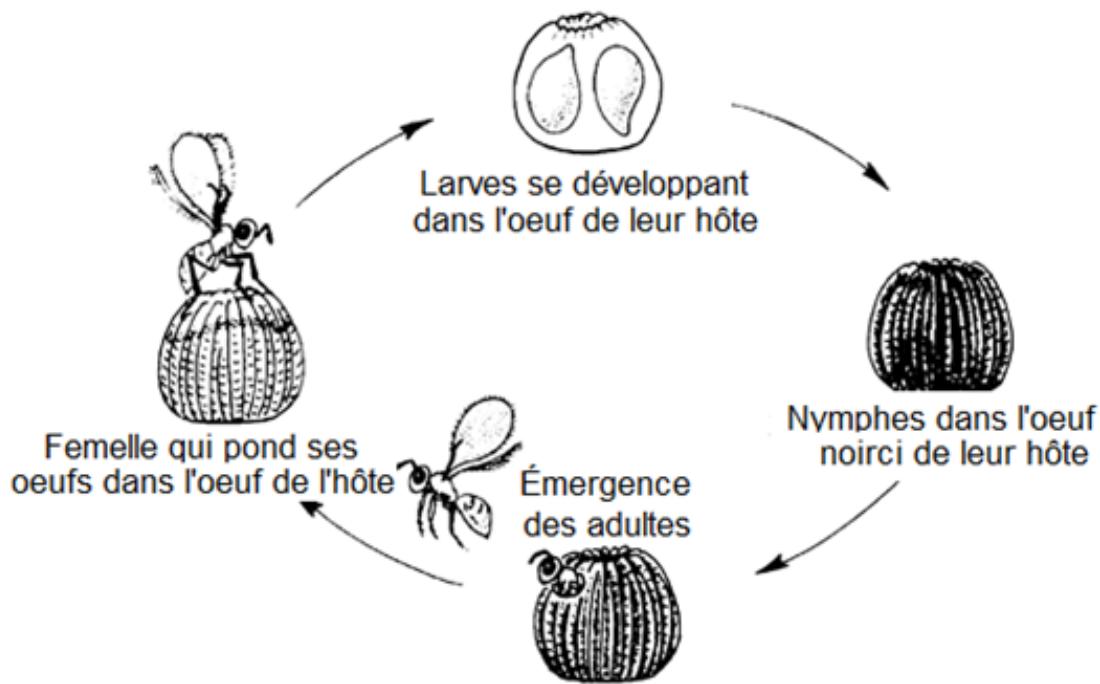
Les trichogrammes sont de très petits insectes, 0,2 à 1,5 mm au stade adulte, appartenant à l'ordre des hyménoptères, la superfamille des Chalcidoidea et la famille des Trichogrammatidae (Fig. 1.1) (Knutson, 1998).



**Figure 1.1** Morphologie d'une femelle adulte trichogramme (tiré de Pak, 1988; dessin de P. J. Kostense).

Actuellement, 145 espèces du genre *Trichogramma* ont été décrites mondialement et 30 d'entre elles seraient originaires d'Amérique du Nord (Pinto et Stouthamer, 1994). Ces derniers sont des parasitoïdes oophages idiobiontes. Comme tous les parasitoïdes, ils entraînent obligatoirement la mort de leur hôte (Godfray, 1994). Ils sont également qualifiés d'oophages puisqu'ils utilisent majoritairement les œufs de leurs hôtes comme ressource alimentaire pour compléter leur développement (Vinson, 1998) et idiobiontes puisqu'ils interrompent le développement de leur hôte au moment du parasitisme (Gordh et Headrick, 2011). Les hôtes appartiennent principalement à l'ordre des lépidoptères (Flanders, 1930; Flanders et Quednau, 1960). Certaines espèces peuvent toutefois parasiter les œufs de coléoptères, diptères, hétéroptères, neuroptères et d'autres hyménoptères (Knutson, 1998).

Les trichogrammes sont des holométaboles; ce qui signifie qu'ils ont un développement complet qui est composé d'un stade œuf, trois stades larvaires, un stade nymphal et un stade adulte (Flanders, 1937). Les adultes pondent leurs œufs à l'intérieur des œufs d'autres insectes et les larves se développent en se nourrissant de l'embryon de leurs hôtes, provoquant ainsi sa mort (Knutson, 1998). Les larves n'ont généralement pas une diète spécialisée permettant ainsi à une seule espèce de trichogrammes d'avoir plusieurs espèces hôtes (Flanders et Quednau, 1960). Au stade de prénymphe, l'insecte sécrète du méconium; ce qui entraîne un noircissement de l'œuf parasité (Pintureau *et al.*, 1999). Un adulte complètement formé émerge par la suite de l'œuf de son hôte en utilisant ses mandibules pour perforer un trou dans le chorion (Knutson, 1998). Le cycle de vie des trichogrammes est illustré dans la Figure 1.2 (Hoffman et Frodsham, 1993).



**Figure 1.2** Cycle de vie des trichogrammes (tiré de Hoffman et Frodsham, 1993, traduction libre).

#### 1.1.4.1.2 Historique

L'intérêt pour la lutte biologique à l'aide de trichogrammes a débuté au début du 20e siècle avec les travaux de Flanders (1930). Par contre, tel que mentionné précédemment, la Seconde Guerre mondiale a entraîné le développement d'insecticides de synthèse puissants et disponibles à faibles coûts (Waage et Greathead, 1988). L'usage de ces derniers s'est rapidement répandu, laissant dans l'oubli la lutte biologique en Amérique du Nord, incluant les programmes de lutte à l'aide de trichogrammes (Smith, 1996). Il a donc fallu attendre les années 1970 avant que l'intérêt pour cette méthode ne refasse surface et qu'on assiste aux premières tentatives

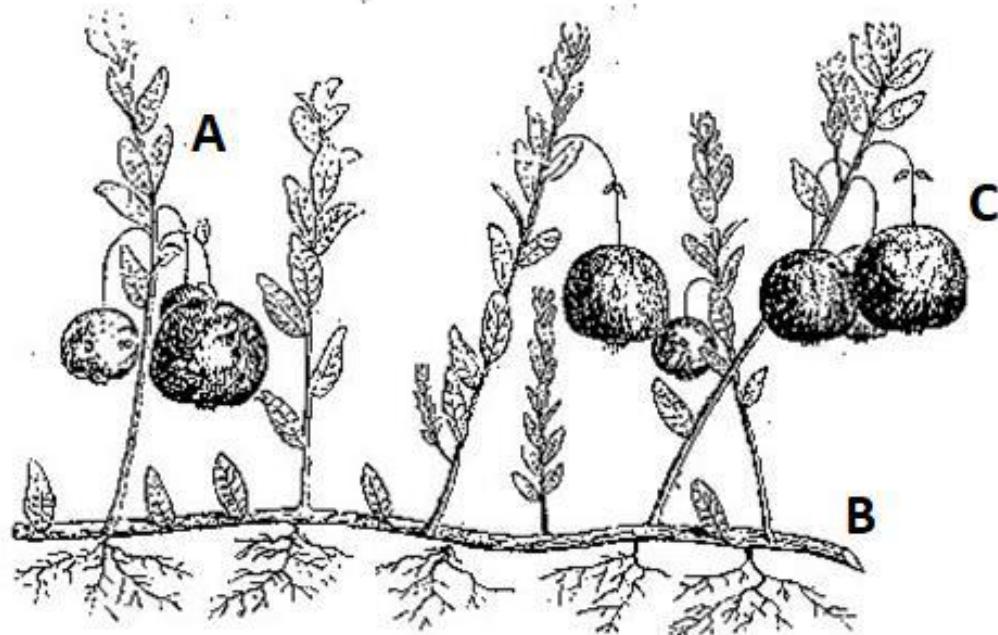
d'élevage de masse et de lâchers inondatifs (Hassan, 1993).

Des essais de lutte biologique à l'aide de trichogrammes ont été réalisés dans un grand nombre de cultures, notamment riz, coton, pommes et tomates, et ont connu leur plus grand succès dans le maïs (Smith, 1996).

## 1.2 Système biologique : les cannebergières

### 1.2.1 La canneberge

La canneberge (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) est une plante ligneuse, vivace, au feuillage vert foncé et persistant appartenant à la famille des éricacées (Marie-Victorin, 1997). Indigène d'Amérique du Nord (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2013), on la retrouve à l'état naturel dans les tourbières à sphaigne (Marie-Victorin, 1997). Elle se présente sous forme d'un petit arbuste appelé vigne (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2011) et possède deux types de tiges : des tiges érigées et des stolons (Thomas, 2003). Les stolons sont des tiges infertiles d'une longueur de 30 à 180 cm qui rampent sur le sol permettant la propagation végétative de la plante (Thomas, 2003). Les tiges fertiles se dressent verticalement à partir des bourgeons axillaires des stolons et peuvent atteindre une hauteur de 30 cm (Thomas, 2003; Trépanier, 2015). À l'extrémité des tiges érigées, on retrouve les bourgeons apicaux, desquels émergent les fleurs menant à la fructification (Fig. 1.3) (Eck, 1990; Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2013). Le fruit est une petite baie rouge acidulée de 0,8 à 1,8 cm de diamètre (Marie-Victorin, 1997). Originellement cueillie par les peuples autochtones, la canneberge est aujourd'hui cultivée de façon intensive au sein des exploitations commerciales, principalement en Amérique du Nord (Poirier, 2010).



**Figure 1.3** Morphologie d'un plant de canneberge montrant (A) des tiges érigées, (B) un stolon et (C) des fruits (tiré de Eck, 1990).

## 1.2.2 L'industrie

### 1.2.2.1 Historique

L'industrie de la canneberge a connu un fort essor au Québec au cours des dernières décennies. Elle a vu le jour dans la province dans les années 1930, mais il a fallu attendre jusque dans les années 1980 avant que l'industrie se développe de façon commerciale et aux années 1990 avant qu'elle ne prenne réellement de l'expansion (Asselin, 2005; Poirier, 2010). En 1992, la province ne comptait que trois producteurs totalisant une superficie de 107 ha en production alors qu'en 2018, on recensait 78

producteurs cultivant une superficie totale de 4 033 ha (Tableau 1.1) (Association des producteurs de canneberges du Québec (APCQ), 2019). De 2008 à 2018, le nombre de producteurs est passé de 55 à 78 et volume total de fruits récoltés est passé de 36M kg à 114M kg (Tableau 1.1) (APCQ, 2019). Ainsi, en seulement 10 ans, le nombre de producteurs de canneberges a connu une croissance de 142 %, la superficie en culture de 241 % et le volume de fruits récoltés de 315 %.

**Tableau 1.1** Évolution du nombre de producteurs, des superficies en production et du volume de canneberges récoltées au Québec de 2006 à 2018 (tiré de APCQ, 2019).

Année	Nombre de producteurs	Superficie en production (ha)	Volume de fruits récoltés (kg)
2006	45	1332	39 167 854
2007	49	1510	29 131 980
2008	55	1672	36 184 757
2009	66	1762	43 703 005
2010	74	1974	41 720 750
2011	76	2380	54 241 188
2012	80	2861	84 303 646
2013	81	3099	73 716 558
2014	84	3446	109 566 923
2015	82	3742	94 591 583
2016	82	3845	125 406 220
2017	80	3979	72 848 710
2018	78	4033	114 029 848

#### 1.2.2.1.2 Production mondiale et locale

Actuellement, le marché de la canneberge est largement dominé par l'Amérique du Nord d'où provenait 96 % de la production mondiale de 2015 (Deloitte, 2016). Cette même année, les États-Unis occupaient le premier rang mondial avec une production de 345M kg suivi par le Canada avec une production de 142M kg (Deloitte, 2016). Le Québec, quant à lui, occupait le troisième rang mondial en tant que région productrice, devancé par les états du Wisconsin et du Massachusetts (Deloitte, 2016). Suite à une excellente récolte en 2016, le Québec est passé au second rang mondial au niveau du volume de production (Thibodeau, 2017). L'industrie de la canneberge de la province se distingue au niveau de la forte proportion des superficies sous gestion biologique. En effet, le Québec domine le marché mondial au niveau de la production de canneberges biologiques (Deloitte, 2020). Parmi les 81 cannebergières québécoises recensées en 2019, 43 d'entre elles étaient sous ce mode de production, représentant près de 40% des superficies en production (APCQ, 2020; Deloitte, 2020).

Près de 90 % de la production de canneberges de la province est cultivée dans la région du Centre-du-Québec (Deloitte, 2016). Les autres régions productrices de canneberges sont Lanaudière, le Saguenay-Lac-Saint-Jean, la Mauricie ainsi que la Côte-Nord (Poirier, 2010). La région du Centre-du-Québec offre plusieurs avantages à l'industrie de la canneberge tels que des sols propices pour cette culture, une bonne disponibilité de l'eau, une haute nappe phréatique ainsi qu'un relief plat; des atouts qui contribuent à diminuer les coûts d'aménagement et production (Poirier, 2010). De plus, cette région a su développer une expertise dans le domaine en y établissant son association de producteurs : l'Association des producteurs de canneberges du Québec (APCQ) ainsi que son club conseil agroenvironnemental : le Club Agroenvironnemental et Technique Atocas Québec (CETAQ) (Poirier, 2010). Par ailleurs, trois usines de transformation

se sont installées sur le territoire centricois, le tout favorisant une étroite collaboration entre les producteurs, conseillers et transformateurs (Deloitte, 2016).

#### 1.2.2.1.3 Retombées économiques

En 2015, l'industrie de la canneberge a engendré près de 190M \$ en retombées économiques pour la province et a permis la création ou consolidation de 1672,7 emplois équivalents à temps complet (Deloitte, 2016). Ces retombées économiques et emplois se divisent en deux secteurs d'activités principaux, soit la production et la transformation, cette dernière étant la plus importante du point de vue économique (Deloitte, 2016)

À l'échelle régionale, la culture de la canneberge a grandement contribué au développement du Centre-du-Québec en offrant beaucoup d'opportunités d'emplois. En effet, un nouvel emploi est créé pour chaque 4 ha mis en production, un total de 300 emplois (réguliers et saisonniers) ont été créés au sein des fermes et 300 emplois (à temps complet et partiel) ont été créés dans les différentes usines de transformation (APCQ, 2017).

#### 1.2.3 Les ravageurs

Les principaux défis rencontrés par les producteurs de canneberges sont les champignons pathogènes, les mauvaises herbes et les insectes (Thomas, 2003). Le climat nordique québécois est peu favorable aux champignons, ces derniers sont donc rarement associés à des pertes de rendements dans la province (Thomas, 2003).

Les mauvaises herbes, quant à elles, peuvent entrer en compétition avec la canneberge pour la lumière, l'eau, les ressources nutritives et les pollinisateurs et constituent un problème principalement dans les premières années d'implantation, mais plus la couverture du sol par la canneberge augmente, plus l'abondance des autres plantes diminue (Thomas, 2003). Il n'en demeure pas moins que des traitements herbicides et du sarclage manuel sont souvent nécessaires afin de limiter la prolifération des mauvaises herbes (Thomas, 2003).

Dans l'Est canadien, une trentaine d'insectes ont été identifiés comme étant des ravageurs de la culture de la canneberge (Le Duc et Turcotte, 2004; Drolet *et al.*, 2018). La majorité d'entre eux appartient à l'ordre des lépidoptères alors que les autres sont des coléoptères, diptères et orthoptères (Landry *et al.*, 2000; Le Duc et Turcotte, 2004; Drolet *et al.*, 2018; Labarre *et al.*, 2020). Une absence de lutte contre les ravageurs de la canneberge se traduit par d'importantes pertes de rendements, des dommages sévères à la plante et, dans certains cas, la mortalité de certaines zones du champ (Sandler, 2010). La plupart des espèces identifiées comme étant des ravageurs de la canneberge cause des dommages aux feuilles, fleurs, fruits et bourgeons, mais certains, tels que le charançon noir de la vigne, *Otiorhynchus sulcatus* (Fabricius) (Coleoptera : Curculionidae) et l'anneleur de la canneberge, *Chrysoteuchia topiaria* (Zeller) (Lepidoptera : Crambidae), peuvent également s'attaquer aux tiges et racines (Le Duc et Turcotte, 2004).

#### 1.2.4 La lutte intégrée en production de canneberges

Dans le but d'optimiser la gestion des insectes ravageurs, le CETAQ offre depuis 1995 un service de dépistage des principaux ravageurs et depuis 2000, un service-conseil en lutte intégrée et fertilisation (APCQ, 2017). L'industrie de la canneberge fait d'ailleurs figure de tête au sein des différents secteurs agricoles québécois quant à l'application

des principes de lutte intégrée selon l'indicateur de gestion intégrée des ennemis des cultures (GIEC) du ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation (MAPAQ), 2012).

C'est en appliquant la stratégie présentée dans le manuel de lutte intégrée de la canneberge de l'Est canadien (Le Duc et Turcotte, 2004) que le CETAQ appuie les producteurs de canneberges dans la gestion des ravageurs en conseillant une combinaison de différentes méthodes de lutte. Un dépistage est effectué hebdomadairement sur la ferme afin d'évaluer les populations des ravageurs (Le Duc et Turcotte, 2004). De plus, des seuils d'intervention ont été déterminés pour chaque insecte afin de limiter les impacts environnementaux et les dépenses des traitements insecticides (Le Duc et Turcotte, 2004). La ferme peut également être aménagée de façon à limiter l'établissement des ravageurs et mauvaises herbes grâce à des méthodes telles que le choix des variétés, la coupe des plants ou encore la plantation de brise-vents (Le Duc et Turcotte, 2004).

### 1.3 La tordeuse des canneberges

#### 1.3.1 Cycle de vie

La tordeuse des canneberges, *Rhopobota naevana* (Hübner) (Lepidoptera : Tortricidae) est un insecte relativement spécialisé pour la canneberge et possède peu de plantes hôtes (Breakey, 1960; Shanks *et al.*, 1990). En Amérique du Nord, on observe deux générations par année, bien qu'une troisième génération soit possible lorsque les conditions climatiques estivales sont particulièrement propices (Fitzpatrick et Troubridge, 1993; Le Duc et Turcotte, 2004; Sylvia et Averill, 2005). Cette dernière a

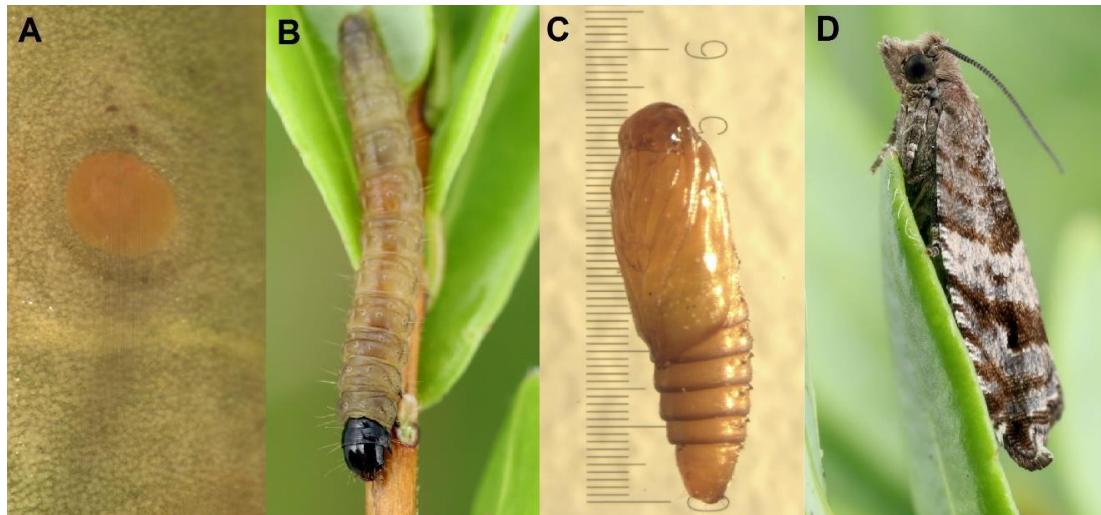
d'ailleurs été observée au Québec en 2018 au sein de fermes ayant des densités de population élevées du ravageur (Labarre, observations personnelles).

La tordeuse des canneberges passe l'hiver en diapause au stade d'œuf sur le feuillage persistant de la canneberge (Eck, 1990; Le Duc et Turcotte, 2004; Sylvia et Averill, 2005). Les œufs pondus individuellement sont de forme arrondie, plats, fixés au revers des feuilles et mesurent environ 0,7 mm (Fig. 1.4A) (Le Duc et Turcotte, 2004; Sylvia et Averill, 2005). Les œufs éclosent en mai et le développement larvaire, composé de cinq stades, se poursuit jusqu'à la nymphose en juin (Smith, 1903; Plank, 1922; Dittl, 1988; Cockfield *et al.*, 1994a; Le Duc et Turcotte, 2004). Pendant les premiers stades larvaires, la tordeuse des canneberges se nourrit en creusant des trous dans la feuille (Eck, 1990; Sylvia et Averill, 2005). À mesure que la larve se développe et croît, elle commence à joindre des feuilles en tissant des toiles de soie et forme de petites structures semblables à des tentes qui lui servent de refuge (Sylvia et Averill, 2005). Au cours de son développement, une seule larve peut construire jusqu'à 5 ou 6 tentes (Maurice *et al.*, 2000). À maturité, les larves sont jaune pâle avec la tête noire, mesurent environ 10 mm et ont cinq paires de fausses pattes (Fig. 1.4B) (Eck, 1990; Le Duc et Turcotte, 2004; Sylvia et Averill, 2005).

La nymphose de la première génération a lieu au sol ou dans des structures de soie tissées sur le feuillage de la plante (Le Duc et Turcotte, 2004; Sylvia et Averill, 2005). Les nymphes sont de couleur jaunâtre ou brune et mesurent entre 5 et 7 mm (Fig. 1.4C) (Sylvia et Averill, 2005). La nymphose représente le seul stade immature où il est possible de déterminer le sexe de *R. naevana*. Les femelles possèdent trois segments abdominaux (pygidium inclus) sous les ptérothèques alors que les mâles en possèdent quatre (Fig.1.4C) (Fitzpatrick et Troubridge, 1993; Deland *et al.*, 2014). En

cannebergières, la nymphose dure généralement une semaine et demie (Averill et Sylvia, 1998).

La première génération d'adultes émerge vers la fin juin et on peut observer des papillons de cette génération tout le mois de juillet (Shanks *et al.*, 1990; Cockfield *et al.*, 1994b; Le Duc et Turcotte, 2004). Les adultes sont gris et bruns, mesurent environ 6 mm et possèdent une envergure des ailes de 9 à 11mm (Fig. 1.4D) (Le Duc et Turcotte, 2004; Sylvia et Averill, 2005). Ces derniers sont peu mobiles et sont normalement actifs de jour, mais ont tendance à rester au repos lorsqu'il fait chaud (Maurice *et al.*, 2000; Le Duc et Turcotte, 2004). Pour cette raison, il est plus fréquent de les voir en activité en soirée; c'est d'ailleurs à ce moment que l'accouplement a lieu (Maurice *et al.*, 2000; Fitzpatrick *et al.*, 2015). L'accouplement se produit généralement 2 jours après l'émergence des femelles adultes et le début de la ponte se produit le jour suivant l'accouplement (Cockfield *et al.*, 1994b; Fitzpatrick, 2006). En Colombie-Britannique, les femelles de première génération auraient une fécondité de  $78 \pm 3$  œufs, 95 % des œufs éclosent dans les 2 semaines suivant la ponte, moins de 1 % des œufs entrent en diapause et 5 % seraient infertiles (Fitzpatrick et Troubridge, 1993).



**Figure 1.4** Stades de développement de la tordeuse des canneberges (*Rhopobota naevana*); (A) œuf, (B) larve, (C) nymphe mâle, (D) adulte (crédits photos : (A, C) Didier Labarre, UQAM; (B, D) Joseph Moisan-DeSerres, MAPAQ).

Les larves de deuxième génération émergent en juillet et ont un comportement similaire à celles de première génération à l'exception du fait qu'elles peuvent également se nourrir directement sur les fleurs et fruits, qui sont absents lors de la première génération (Le Duc et Turcotte, 2004; Fitzpatrick *et al.*, 2015). Les adultes émergent en août et peuvent être observés en champ jusqu'en septembre (Shanks *et al.*, 1990; Cockfield *et al.*, 1994b; Le Duc et Turcotte, 2004). En Colombie-Britannique (Fitzpatrick et Troubridge, 1993), les femelles de deuxième génération auraient une fécondité de  $80 \pm 3$  œufs, seulement 17 % éclosent alors que 81 % seraient diapausants et 2 % infertiles. Les œufs diapausants sont d'une couleur orangée, les œufs fertiles sont jaunes et légèrement translucides alors que les œufs infertiles sont jaune citron (Fitzpatrick et Troubridge, 1993).

### 1.3.2 Importance et dommages

La tordeuse des canneberges est un ravageur majeur des cultures de canneberges partout en Amérique du Nord (Fitzpatrick et Troubridge, 1993; Cockfield *et al.*, 1994a; Le Duc et Turcotte, 2004; Sylvia et Averill, 2005; Fitzpatrick *et al.*, 2015). Les dommages associés à la tordeuse des canneberges surviennent lors des stades larvaires qui affectent les rendements en diminuant les taux de floraison et rendant les fruits impropres à la consommation (Le Duc et Turcotte, 2004). Cet insecte est uniquement considéré comme ravageur dans la culture de la canneberge (Fitzpatrick, 2009). De plus, en raison du feuillage persistant de la canneberge, cette plante est la seule qui permet aux œufs diapausants de la tordeuse des canneberges de passer l'hiver et d'offrir de la nourriture aux larves de première génération (Fitzpatrick, 2009). Au Québec, des dommages atteignant 60 % des fruits ont été observés dans des champs non traités aux insecticides, mais des pertes de rendements atteignant 95 % de la production annuelle ont également déjà été observées dans d'autres régions productrices (Deland *et al.*, 2014). Lors d'infestations majeures, le couvert végétal prend une couleur brune (Fig. 1.5) et ces dommages peuvent avoir des effets qui se répercutent sur plusieurs années (Le Duc et Turcotte, 2004; Sylvia et Averill, 2005).



**Figure 1.5** Champ de canneberges avec (A, C) peu de dommages (< 5 % de perte de rendements) et (B) beaucoup de dommages (> 95 % de perte de rendements) de tordeuse des canneberges (crédit photo : François Gervais, CETAQ, 2017).

### 1.3.3 Suivi des populations

Aux stades larvaires, les individus sont détectés à l'aide d'un filet fauchoir qui est passé à travers les plants (Le Duc et Turcotte, 2004; Labarre et Piché-Luneau, sous presse). Un seuil d'intervention correspondant à une moyenne d'une larve par 0,4 ha (un acre) a été déterminé (Le Duc et Turcotte, 2004; Labarre et Piché-Luneau, sous presse).

Au stade adulte, des pièges à phéromone de type Diamond® appâté d'une capsule à phéromone synthétique BFM® (Trécé, inc., Adlair, OK, É.-U.) permettent le suivi des populations de tordeuse des canneberges (Le Duc et Turcotte, 2004; Labarre et Piché-Luneau, sous presse). Il n'existe pas de seuil d'intervention officiel concernant les pièges à phéromone, mais la capture hebdomadaire de moins de 30 mâles est considérée comme une menace faible, la capture de 30 à 100 mâles; une menace modérée et la

capture de plus de 100 mâles; une menace élevée (Club environnemental et technique atocas Québec (CETAQ), données non publiées).

#### 1.3.4 Lutte contre la tordeuse des canneberges

##### 1.3.4.1.1 Lutte chimique

La lutte contre les populations de tordeuses des canneberges en Amérique du Nord repose principalement sur la lutte chimique. Actuellement, les insecticides homologués au Canada pour lutter contre la tordeuse des canneberges en régie conventionnelle sont l'Intrepid® (méthoxyfénozide), le Confirm® (tébufénozide), le Delegate® (spinétorame), l'Altacor® (chlorantraniliprole), l'Exirel® (cyantraniliprole), l'Orthene® (acéphate), le Sevin® (carbaryl), le Fyfanon® (malathion), le Malathion® (malathion) et l'Imidan® (phosmet), bien que certains d'entre eux ne soient pas fréquemment utilisés (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2013; Cranberry Institute, 2019). Au niveau de la culture biologique, le seul insecticide homologué et efficace est l'Entrust® (spinosad) (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2013; Deland *et al.*, 2014).

Puisque la possibilité de développer une résistance aux insecticides augmente avec le niveau d'exposition à ces derniers (Georghiou, 1983) et l'absence d'immigration d'individus n'ayant pas été en contact avec le produit (Comins, 1977), la tordeuse des canneberges, plus particulièrement en régie biologique, s'avère être un insecte particulièrement susceptible de développer une résistance. Aux États-Unis, ce phénomène a déjà été observé dans le cas de certains insecticides chez ce ravageur (Le Duc et Turcotte, 2004).

#### 1.3.4.1.2 Méthodes culturelles

L'inondation printanière des champs est une méthode de lutte contre les ravageurs de la canneberge efficace, notamment contre la tordeuse des canneberges (Franklin, 1928; Cockfield et Mahr, 1992; Le Duc et Turcotte, 2004; Fitzpatrick *et al.*, 2015). L'inondation printanière permet de diminuer l'application d'insecticides plus tard en saison et favorise les populations d'ennemis naturels (Averill *et al.*, 1997; van Zoeren *et al.*, 2018).

#### 1.3.4.1.3 Lutte comportementale

La lutte par confusion sexuelle représente une méthode de lutte alternative qui peut être qualifiée de lutte comportementale. Celle-ci consiste à diffuser une phéromone sexuelle d'insectes au sein d'un système agricole afin d'interférer avec la capacité de localisation des femelles par les mâles (Miller et Gut, 2015). Ce faisant, l'accouplement des espèces ciblées peut être retardé ou encore empêché, réduisant ainsi le nombre d'œufs pondus par le ou les ravageurs ciblés (Fitzpatrick *et al.*, 1995; Fadamiro et Baker, 2002; Jones *et al.*, 2008). Des essais préliminaires menés par Fitzpatrick *et al.* (1995) ont montré que l'application manuelle de diffuseurs à phéromones de la tordeuse des canneberges ainsi qu'un mélange de ses composantes permet de réduire significativement le taux d'accouplement en champs. Toutefois, l'application de diffuseurs en cannebergières commerciales nécessite des modifications à l'équipement que possèdent les producteurs ou l'achat d'équipement additionnel (Steffan *et al.* 2017), ce qui a freiné le processus d'utilisation en cannebergières commerciales.

La confusion sexuelle pour lutter contre la tordeuse des canneberges a été mise à l'essai au Québec en 2018, à l'aide de diffuseurs granulaires faits en cire d'abeille et appliqués mécaniquement à l'aide d'un épandeur à engrais (Labarre *et al.*, 2019). Ces essais ont

montré des résultats très prometteurs; des réductions significatives de captures des mâles dans les pièges à phéromone ont été observées sur une période variant de 14 à 21 jours (Labarre *et al.*, 2019). Ces récents efforts de recherche pourraient offrir une solution accessible aux producteurs pour l'utilisation de la confusion sexuelle en cannebergières.

#### 1.3.4.1.4 Lutte biologique

Le premier moyen de lutter biologiquement contre un insecte ravageur constitue de favoriser l'établissement des populations d'ennemis naturels (DeBach et Rosen, 1991). Dans le cas de la tordeuse des canneberges, différents organismes tels que des virus, champignons, araignées et insectes peuvent s'attaquer aux œufs et aux larves (Le Duc et Turcotte, 2004). Par ailleurs, la diffusion de méthyle salicylate, un produit volatil induit par les plantes en cas d'herbivorie (Pichersky et Gershenson, 2002), aurait également le potentiel d'attirer différents prédateurs et parasitoïdes en cannebergières (Rodriguez-Saona *et al.*, 2011; Salamanca *et al.*, 2019). Toutefois, il est à noté que chez certains groupes d'insectes, tels que les parasitoïdes de la famille des *Megaspilidae*, ce composé aurait un effet répulsif plutôt qu'attractif et d'autres composés volatils induits par l'herbivorie produit par les plants de canneberges ont également un effet attractif pour certains groupes de prédateurs (De Lange *et al.*, 2019). Le potentiel d'attraction de ce type de composé volatil pour différents prédateurs et parasitoïdes apparaît donc intéressant, mais beaucoup de chemin reste à faire avant de les utiliser comme méthode de lutte en cannebergières (Rodriguez-Saona, 2011).

L'usage d'insectes parasitoïdes est une méthode de lutte biologique très répandue et s'est avéré efficace dans plusieurs systèmes biologiques (Greathead, 1986). Les

parasitoïdes larvaires *Hemislurmia torlricis* (Coq.) (Diptera : Tachinidae), *Sympiesis bimacuialipennis* (Girault) (Hymenoptera : Eulophidae) et un spécimen du genre *Microplilis* (Hymenoptera : Braconidae) ont été trouvés sur des larves de la tordeuse des canneberges en Colombie-Britannique (Fitzpatrick *et al.*, 1994). Au Québec, deux espèces appartenant à la super-famille des Chalcidoidea ainsi que *Nemorilla pyste* (Walker) (Diptera : Tachinidae) ont également été trouvées parasitant des larves de tordeuse des canneberges (Drolet *et al.*, 2018). À notre connaissance, ils ne font toutefois pas l'objet de programme de lutte biologique pour *R. naevana*.

Enfin, des parasitoïdes oophages du genre *Trichogramma* (Hymenoptera : Trichogrammatidae) ont également été trouvés parasitant des œufs de la tordeuse des canneberges (Franklin, 1916; Peck, 1951; van Driesche et Brodel, 1987; Li *et al.*, 1993).

#### 1.3.4.1.5 Trichogrammes en cannebergières

En 1992, les espèces *Trichogramma sibericum* Sorokina, *Trichogramma minutum* Riley et *Trichogramma evanescens* Westwood ont été retrouvées émergeant d'œufs de *R. naevana* en Colombie-Britannique (Li *et al.*, 1993; Henderson *et al.*, 2001). Aux États-Unis, *T. minutum* a également été retrouvé parasitant les œufs de *R. naevana* (Franklin, 1916; Peck, 1951; van Driesche et Brodel, 1987). Suite à des essais de lâchers en champ de *T. Sibericum* et *T. minutum* en Colombie-Britannique, des taux de parasitisme de 80,3 % et de 43,8 %, respectivement pour ces deux espèces ont été observés (Henderson *et al.*, 2001). À la suite d'essais portant sur la sélection de l'hôte ainsi que le parasitisme, Li *et al.* (1994) concluent également que *T. sibericum* possède un bon potentiel pour lutter biologiquement contre la tordeuse des canneberges.

La souche native de l'Ouest canadien de *T. sibericum*, a déjà été produite commercialement (Henderson *et al.*, 2001) et des essais ont été réalisés en 2001 et 2002

au Québec selon différentes méthodes d'épandage : à la main, avec un pulvérisateur à air forcé, avec un pulvérisateur à rampe terrestre et par avion (Pelletier *et al.*, 2001). L'application à la main a été effectuée à petite échelle et un taux de parasitisme des œufs en diapause de 81 % a été observé (Pelletier *et al.*, 2001). Les taux de parasitisme atteints avec les différents autres modes d'épandage oscillaient entre 6 et 27 % (Drolet, 2003). Ces premières données démontrent un potentiel de l'usage de trichogrammes pour la production de canneberges, mais malheureusement le fournisseur de *T. sibericum* a cessé ses activités et l'agent de lutte biologique n'est plus disponible commercialement. Par ailleurs, les taux de parasitisme observés sur les populations québécoises de la tordeuse des canneberges ont été jugés insuffisants et les perspectives d'usage de la méthode ont été abandonnées.

## 1.4 Sélection d'un agent de lutte biologique

### 1.4.1 Éléments à considérer

La question de l'approche à prendre afin de se lancer dans l'élaboration d'un programme de lutte biologique, peu importe le type de lutte, a longtemps été débattue et maintes fois revisitée au sein de la communauté scientifique (DeBach et Huffaker, 1971; Zwölfer *et al.*, 1976; Pschorr-Walcher, 1977; van Lenteren, 1980; Hoelmer et Kirk, 2005). Au terme de son évaluation de la question, van Lenteren (1980) conclut qu'une approche par essais erreurs d'introductions demeurait la méthode la plus efficace afin d'évaluer le potentiel de lutte d'un agent de lutte biologique. Or, il fut par la suite soulevé que, lorsque de nombreux agents potentiels étaient disponibles, que les ressources budgétaires liées à la recherche étaient limitées et que l'on cherche une solution rapide à une problématique, cette approche n'était pas idéale (Hoelmer et Kirk,

2005). La dualité entre les approches expérimentales prédictives et par essais erreurs seront discutées plus en détail dans le Chapitre 3; qui s'attardera d'ailleurs à proposer une approche intermédiaire et complémentaire afin de limiter le nombre de candidats potentiels. Malgré l'existence d'opinions divergentes sur le sujet, il existe tout de même un consensus quant aux principales caractéristiques faisant d'une espèce un agent de lutte prometteur. Ces dernières ont été passées en revue par van Lenteren (1980, 1986, 2010) (Tableau 1.2) et seront discutées plus en détail dans les sections suivantes. Il est également important de souligner que ces critères ne représentent pas une liste exhaustive et que certains ont une importance relative plus ou moins élevée et qui est variable en fonction du type de lutte ciblé (van Lenteren, 1980).

**Tableau 1.2** Critères de sélection d'un agent de lutte biologique en fonction du type de lutte (tiré de van Lenteren, 1980; traduction libre).

<b>Critères</b>	<b>Types de lutte</b>		
	<b>Inoculative</b>	<b>Inoculative saisonnière</b>	<b>Inondative</b>
1. Synchronisation saisonnière avec l'hôte	+	-	-
2. Synchronisation interne avec l'hôte	+	+	-
3. Adaptation aux conditions climatiques	+	+	+
4. Impacts négatifs	+	+	+
5. Efficacité sur différentes plantes hôtes	+	-	-
6. Méthode de culture	-	+	+
7. Spécificité pour l'hôte ciblé	+	-	-
8. Potentiel de reproduction	+	+	-
9. Réponse densité-dépendante	+	+	±

+ : très important; - : pas important; ± : plus ou moins important

#### 1.4.1.1.1 Synchronisation et potentiel reproductif

Un point de considération essentiel est la faisabilité de l'usage de la méthode de lutte biologique priorisée et l'adéquation de l'ennemi naturel pour cette méthode de lutte. En effet, au terme de sa revue sur le sujet, van Lenteren (2003) indique parmi les points clés, les critères de synchronisation interne et saisonnière ainsi que le potentiel reproductif. La synchronisation interne, d'une part, représente une concordance temporelle entre le temps de développement d'un agent de lutte et de son hôte ou proie; assurant ainsi la disponibilité de la ressource pour un prédateur ou parasitoïde sur de nombreuses générations successives (van Lentenren, 1980). D'autre part, la synchronisation saisonnière implique la présence d'une proie ou hôte à la période dans l'année où l'agent de lutte est présent et au stade de développement adéquat pour l'exploiter en tant que ressource (van Lenteren. 1980). Lorsque l'on vise la mise en application d'une lutte inoculative, ces critères sont essentiels puisque l'efficacité de méthode repose sur le potentiel des agents de lutte à être présents au bon moment et en nombre suffisant pour limiter de façon efficace l'accroissement des populations de ravageurs (van Lenteren, 1986; Waage et Greathead, 1988; Pak, 1990). Dans le cas où seule une bonne synchronisation interne est présente, il est toutefois possible d'envisager une méthode de lutte par inoculations saisonnières (Tableau 1.2). Cependant, dans le cas où l'approche sélectionnée est une méthode de lutte biologique inondative, ces critères ne sont pas justifiés puisqu'il est possible d'interférer artificiellement avec la synchronisation temporelle et l'on ne s'attend pas à un établissement permanent de l'agent de lutte (van Lenteren, 1986; Waage et Greathead, 1988; Pak, 1990). La question de synchronisation spatiale et temporelle sera discutée et développée plus en détail dans le cas de la lutte inondative au chapitre 3. Des distinctions quant à ce paramètre y seront apportées en fonction de sa considération en

tant que finalité (c.-à-d. importance du paramètre sur l’efficacité de la méthode de lutte) par rapport à son utilisation en tant qu’indicateur écologique d’exploitation d’un hôte comme proie ou ressource; un outil potentiel de sélection.

#### 1.4.1.1.2 Production de masse

L’importance relative de la capacité d’effectuer un élevage de masse dépend également du type de lutte visé. Dans le cas de la lutte inondative, un élevage de masse est primordial et dans un tel cas, des questions de faisabilité et rentabilité entrent en ligne de compte (St-Onge, 2016). Dans le cas de la lutte inoculative, il n’est pas nécessaire de faire un élevage de masse, une simple capture et introduction peut parfois s’avérer suffisante (DeBach, 1974; van Lenteren, 1986).

#### 1.4.1.1.3 Impacts écologiques et conditions environnementales

Tout d’abord, des questions liées à l’impact sur les espèces non ciblées utilisant des agents de lutte exotiques (van Lenteren *et al.*, 2003; Heimpel *et al.*, 2004) et aux avantages de l’usage d’espèces indigènes (Michaud, 2002) furent soulevées. Présentant moins de risques d’effets indésirables et étant nécessairement mieux adapté aux conditions environnementales locales (Clausen, 1978), l’usage d’espèces indigènes fut rapidement mis de l’avant. Il existe toutefois des cas d’introductions d’espèce de trichogrammes exotiques telle que *T. ostriniae* (Pang et Chen), introduite en Amérique du Nord dans les années 1990 (Seaman *et al.*, 1996), et dont les impacts écologiques sur les espèces non ciblées ont été jugés négligeables (Wright *et al.*, 2005; Yong et Hoffmann, 2006). Il n’en demeure pas moins que, par mesure de précaution, il est souhaitable d’opter pour un ennemi naturel indigène lorsque possible et que les agents de lutte exotiques devraient être soumis à une évaluation des risques exhaustive précédant leur introduction dans un système.

#### 1.4.1.1.4 Efficacité : acceptabilité et comportement

Hoelmer et Kirk (2005) ont passé en revue l'importance de l'étude et compréhension du contexte écologique (p. ex. environnement, structure des plantes, localisation des hôtes/proies, densités, etc.) en lien avec l'efficacité d'un agent de lutte biologique. Hassan (1994) s'est également penché sur le sujet dans le cas des trichogrammes et ce point sera discuté plus en détail à la section 1.4.2. De façon générale, les travaux sur le sujet suggèrent tous que la meilleure façon de procéder est d'évaluer de façon conjointe l'efficacité en laboratoire et sur le terrain (Hoelmer et Kirk, 2005). Toutefois, il existe des exemples où des évaluations minutieuses, notamment comportementales, en laboratoire permettent de prédire avec justesse les résultats sur le terrain (Casas *et al.*, 2004). L'efficacité sur différentes plantes hôtes, bien que peu important dans le cas de la lutte inondative, peut être primordiale dans le cas de la lutte inoculative. Un bon exemple de cette importance est lors de l'utilisation de plantes réservoirs et d'hôtes alternatifs (Fournier *et al.*, 2017).

#### 1.4.1.1.5 Réponse densité dépendante

L'importance d'une réponse densité dépendante est généralement reconnue dans le cas de la lutte inoculative, où on s'attend à ce que l'agent de lutte soit en mesure de maintenir de façon continue les populations de ravageurs sous un seuil acceptable (van Lenteren *et al.*, 1986). Or, la pertinence de ce critère est débattue dans la littérature en ce qui concerne la lutte inondative (Waage et Hassell, 1982; Murdoch *et al.*, 1985). Cette divergence d'opinions peut s'attribuer à l'interprétation sémantique qui est faite du terme; si on s'y réfère en tant qu'augmentation du nombre d'ennemis naturels par reproduction dans le système, la réponse densité dépendante ne représente pas un point important puisque par définition on ne s'attend pas à un établissement de l'agent de

lutte (Pak, 1988). Toutefois, si on s'y réfère en tant que réponse comportementale des agents de lutte leur permettant d'augmenter leur taux de prédation ou parasitisme en présence de plus grandes populations de ravageurs, ce trait devient donc un attribut d'intérêt (Pak, 1988). Cette deuxième définition a été nommée réponse fonctionnelle (Solomon, 1949; Holling, 1959). Une description détaillée des types de réponses fonctionnelles ainsi qu'une revue de littérature présentant différents exemples de cette relation a été réalisée par Fernández-Arhex et Corley (2003).

#### 1.4.1.1.6 Taxonomie

Il est également important d'avoir des connaissances taxonomiques suffisantes et adéquates sur les espèces cibles et les agents de lutte biologiques potentiels (Hoelmer et Kirk, 2005); un point ne figurant toutefois pas dans le Tableau 1.2. Les problèmes liés à l'identification taxonomique figurent d'ailleurs parmi une des raisons fréquentes d'échec de programme de lutte biologique (Rosen, 1986). Afin de résoudre ces problèmes, Hoelmer et Kirk (2005) suggèrent de mettre un accent particulier sur le développement de méthode d'identifications moléculaires qui procurent une meilleure résolution à l'exercice d'identification. De nombreux travaux ont d'ailleurs été réalisés mettant de l'avant cette technique d'identification et sont revus par Gariépy *et al.* (2007).

#### 1.4.2 Sélection d'une espèce de trichogrammes

La première étape lors de la mise en place d'un programme de lutte biologique inondative à l'aide de trichogrammes est la sélection de l'espèce (Hassan, 1994; Smith, 1996). En raison de la grande quantité d'espèces du genre *Trichogramma* et leur variabilité interspécifique, cette étape peut s'avérer ardue (Hassan, 1994). Bien que ces derniers soient souvent polyphages, les différentes espèces varient au niveau du

comportement de recherche des hôtes, de leur préférence des hôtes, et leur résistance aux conditions environnementales (Hassan, 1994). Il existe d'ailleurs plusieurs exemples d'échecs de programmes de lutte biologique avec des trichogrammes en raison d'une sélection non adaptée à l'hôte ou encore aux conditions environnementales (Stinner, 1977; Hassan, 1993), notamment dans le cas du carpocapse de la pomme, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera : Tortricidae) en Allemagne où plus de quatre espèces de trichogrammes ont déjà été utilisées avec des résultats jugés insatisfaisants dans plusieurs cas (Hassan *et al.*, 1988).

L'un des principaux problèmes associés à la sélection d'une espèce de trichogrammes est l'identification taxonomique, car la systématique du genre demeure, encore à ce jour, mal comprise (Pinto et Stouthammer, 1994). Afin de pallier ce problème, l'identification moléculaire a été suggérée (Vanlerberghe-Masutti, 1994) et est de plus en plus répandue (Stouthammer *et al.*, 1999). Au Québec, le Laboratoire d'Expertise et de Diagnostic en Phytoprotection (LEDP) du Ministère de L'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation (MAPAQ) a récemment intégré l'identification moléculaire de trichogrammes au sein de son champ de compétences, notamment de concert avec le projet présenté dans ce mémoire.

Conformément à toute sélection d'un agent de lutte biologique, il existe une disparité substantielle en ce qui concerne les approches utilisées pour sélectionner une espèce de trichogrammes (Pak, 1990). Dans la plupart des cas, aucun effort de recherche préintroduction n'est réalisé et l'espèce utilisée est celle présente dans le système ciblé ou celle qui est la plus facilement accessible (Tableau 1.3 ; Scholz, 1990). Stinner (1977) passe en revue différents cas où une approche par essais et erreurs a été utilisée; tantôt entraînant des résultats prometteurs, tantôt des résultats jugés insuffisants.

**Tableau 1.3** Critères utilisés afin de sélectionner une espèce de trichogrammes pour lutter contre un ravageur appartenant à l'ordre des lépidoptères (tiré de Scholz, 1990; traduction libre).

Méthodes de sélection	Fréquence (%)
Évaluation préintroduction	8.6
Espèce élevée à partir des œufs du ravageur ciblé	25.7
Espèce la plus abondante dans la région ciblée	31.4
Espèce disponible au sein d'institutions de recherche ou commercialement	20
Espèce utilisée avec succès dans d'autres pays	5.7
Non spécifiée	8.6

L'identification de critères de sélection provient de différents succès encourus dans l'élaboration et mise en application d'autres programmes de lutte biologique, mais qui sont principalement des exemples de lutte inoculative (Pak, 1988). Il est toutefois généralement reconnu (van Lenteren, 1986; Pak, 1990) que, dans le cas des trichogrammes, les critères importants à rencontrer afin qu'une espèce représente un agent de lutte prometteur elle doit :

1. Ne représenter aucun risque environnemental pour des espèces non-cible ;
2. Tolérance aux conditions climatiques dans le système ciblé ;
3. Acceptabilité pour l'hôte ciblé ;
4. Capacité de trouver l'hôte ciblé ;
5. Potentiel de production de masse.

Certains critères abordés précédemment tels que synchronisme avec l'hôte ciblé, le potentiel reproductif ou encore la spécificité pour l'hôte ciblé, bien qu'importants dans le cas de lutte inoculative, ne sont généralement pas considérés importants pour la lutte

inondative, et donc, dans le cas des trichogrammes (van Lenteren, 1986; Pak, 1988). En effet, il est possible de manipuler artificiellement le moment et la fréquence des lâchers lorsqu'on pratique de la lutte inondative (van Lenteren *et al.*, 1982). Toutefois, lorsqu'on utilise les trichogrammes comme agents de lutte, il est primordial de s'assurer de la capacité de l'agent de lutte à localiser rapidement et parasiter l'hôte ciblé (Stinner 1977, Waage et Hassell 1982, Barclay *et al.*, 1985).

Hassan (1993) a proposé d'uniformiser la méthodologie afin d'évaluer la performance des différentes espèces de trichogrammes dans les différents critères énumérés précédemment. Il suggère que la performance de parasitisme et préférence de l'hôte soit évaluée en laboratoire alors que la capacité de recherche et tolérance aux conditions environnementales doivent être mises à l'essai sur le terrain (Hassan, 1993). Il peut toutefois être argumenté que la préférence de l'hôte ne représente pas un critère de sélection fiable puisque les trichogrammes sont souvent relâchés dans le système au moment le plus favorable pour parasiter les œufs de l'espèce ciblée et qu'il est peu probable qu'ils y rencontrent des œufs de différentes espèces. Il est donc plus fréquent de réaliser de simples essais d'acceptabilité de l'hôte en laboratoire (Carli *et al.*, 2017).

Au niveau de la tolérance aux conditions climatiques locales, des essais sur le terrain peuvent s'avérer des bons indicateurs, mais il est plus fréquent qu'un simple inventaire au sein du système ciblé soit réalisé; une pratique justifiée puisqu'une souche naturellement présente dans un système est nécessairement adaptée aux conditions environnementales locales (Clausen, 1978).

En ce qui a trait à la capacité de localisation de l'hôte ciblé, bien que les essais sur le terrain proposés par Hassan (1993) semblent appropriés, il existe certaines situations

où le comportement d'accouplement ou de ponte de l'hôte ciblé ne permettent pas de le faire. En ce sens, les sections suivantes s'attarderont à décrire deux processus de sélection qui sont à la fois complémentaires, faciles à mettre en application et qui devraient être applicables dans la plupart des cas de sélection d'une espèce de trichogrammes.

#### 1.4.2.1.1 Approche écologique par analyses spatio-temporelles

Le concept de synchronisation hôte-parasitoïde fut proposé par Godfray (1994) et représente en fait une application concrète de la sélection naturelle basée sur la valeur adaptative des traits optimaux, une théorie fondamentale en écologie. Selon cette théorie, le résultat de la sélection naturelle appliquée sur les parasitoïdes provoque inévitablement un comportement qui optimise les gains procurés par l'usage des ressources tout en minimisant les coûts relatifs à l'acquisition de cette ressource (MacArthur et Pianka, 1966). Selon Godfray (1994), le patron d'émergence temporel des parasitoïdes exploitant un hôte à générations discrètes donné devrait se caractériser par une distribution idéale libre ajustée à la présence du stade de développement de l'hôte ciblé par les parasitoïdes. En utilisant ce modèle théorique et des données terrain de la présence de l'hôte et des différentes espèces de parasitoïdes, il devient alors possible de cibler quelle(s) espèce(s) de trichogramme(s) possède(nt) une émergence (ou présence en champs) synchronisée avec la présence des œufs d'un hôte en particulier. Cette concordance peut alors par la suite être interprétée comme un indicateur d'utilisation des espèces pour l'hôte à l'étude en tant qu'hôte et suggère un certain potentiel de lutte. Cette approche ne permettrait pas d'indiquer l'espèce la plus prometteuse, mais plutôt d'éliminer celles qui présentent un faible potentiel.

Tel que mentionné précédemment, le synchronisme entre le parasitoïde et son hôte a toujours été négligé comme critère dans le cas où la méthode appliquée était de la lutte

biologique inondative (van Lenteren, 1986; Pak, 1988). Ceci s'explique par le fait qu'il est possible de manipuler artificiellement le moment du lâcher ce qui fait en sorte que la présence ou non d'un synchronisme entre les deux espèces n'affectera pas le niveau d'efficacité de la méthode. Or, ce qui est plutôt proposé par Godfray (1994) est que l'étude de ce paramètre au sein du système à l'étude, en absence de lâchers inondatifs, représente un indicateur de l'interaction entre le ravageur et le parasitoïde. Ainsi, ce paramètre ne représente pas un critère de sélection au sens où il influencera l'efficacité de la technique, mais plutôt un critère ayant le potentiel d'indiquer l'acceptabilité et l'utilisation du ravageur en tant qu'hôte par le parasitoïde.

#### 1.4.2.1.2 Approche expérimentale

Selon Hassan (1994), les principaux facteurs à considérer lors de la sélection d'une espèce de trichogrammes sont le comportement de recherche, la préférence des hôtes, et la résistance aux conditions climatiques. Lorsque possible, il est préférable de débuter le processus de sélection par un inventaire de souches indigènes présentes dans la culture visée, car ces dernières sont susceptibles d'être mieux adaptées aux conditions environnementales (Hassan, 1994). La préférence des hôtes ainsi que le potentiel de parasitisme pour l'hôte ciblé peuvent être évalués en laboratoire tandis que le comportement de recherche se doit d'être évalué sur des plantes en conditions semi-contrôlées ou sur le terrain (Hassan, 1989).

Différents facteurs peuvent affecter les trichogrammes dans leur décision d'acceptation de l'hôte; parmi ceux-ci, on retrouve la taille, la couleur, l'odeur et l'âge de l'œuf (Taylor et Stern, 1971; De Jong et Pak, 1984 ; Dijken *et al.*, 1986). Afin d'évaluer le potentiel de parasitisme des différentes espèces, différentes variables peuvent être

observées suivant la mise en contact entre les adultes d'une souche et les œufs de l'hôte ciblé (p. ex. la fécondité, le rapport des sexes, taux de brachyptérisme, la longévité, la préférence de l'hôte, la capacité de déplacement ainsi que la résistance aux conditions environnementales) (Dijken *et al.*, 1986; Pak *et al.*, 1986; Hassan, 1994; Pavlik, 1993; van Hezewijk *et al.*, 2000). Ces variables peuvent être observées en conditions contrôlées et semi-contrôlées (Hassan, 1994). Par ailleurs, puisque le comportement et la survie des trichogrammes sont influencés par les conditions environnementales, il est conseillé de réaliser les expériences dans des conditions similaires à ce que l'on retrouve dans l'écosystème ciblé (Hassan, 1994).

En somme, dans le but d'obtenir un succès dans le cadre d'un programme de lutte biologique avec des trichogrammes, il est essentiel de sélectionner une espèce qui présente une bonne acceptabilité pour l'hôte ciblé, une bonne capacité à trouver les œufs de cet hôte ainsi qu'une bonne capacité à résister aux conditions environnementales locales.

Dans le cadre de ce projet, les deux approches discutées précédemment seront poursuivies et donc aucune espèce ne sera discréditée sous la base d'analyses spatio-temporelles. L'objectif étant de réaliser une étude de cas cherchant à montrer le potentiel de ces analyses pour accélérer et optimiser le processus de sélection. En cas d'absence de concordance entre les deux approches, les résultats de l'approche expérimentale seront préconisés afin de sélectionner une espèce de trichogrammes pour lutter biologiquement contre la tordeuse des canneberges. Cette approche, contrairement à la concordance spatio-temporelle, a déjà fait ses preuves dans le cadre d'autres projets de sélection d'une espèce de trichogrammes.

### 1.5 Problématique

Tant en régie conventionnelle que biologique, la principale méthode actuellement utilisée pour lutter contre les populations de la tordeuse des canneberges est la lutte chimique (François Gervais, CETAQ, communication personnelle). Toutefois, la liste d'insecticides autorisés pour la culture biologique (Cranberry Institute, 2019) est très limitée et parmi les produits identifiés, seul le spinosad est réellement utilisé (François Gervais, CETAQ, communication personnelle). Les autres bio-insecticides étant jugés peu efficaces. Chaque année, des seuils d'intervention sont atteints pour cet insecte dans les cannebergières biologiques du Québec, ce qui pousse les producteurs à faire usage de bio-insecticides (CETAQ, données non publiées). L'efficacité des produits actuellement autorisés est cependant limitée et il est fréquent de devoir répéter les traitements à plusieurs reprises afin de restreindre les dommages de l'insecte sous le seuil de rendements économiques; c'est-à-dire que les pertes économiques associées à la diminution de rendements ne dépassent pas la marge de profit de l'exploitation (Emery, 1994). Cette pratique engendre des dépenses importantes pour les producteurs, mais également, des conséquences pour la santé humaine, l'environnement et la faune auxiliaire (Savary *et al.*, 2006; Singleton et Mahr, 2011; Cabrera *et al.*, 2017). De plus, l'usage répété d'un insecticide risque d'occasionner le développement de population résistante (Georghiou, 1983); un phénomène qui a déjà été observé dans le cas de la tordeuse des canneberges aux États-Unis (Le Duc et Turcotte, 2004).

Dans l'optique de réduire la vulnérabilité de l'industrie de la canneberge biologique et de limiter les impacts environnementaux de cette culture, il est souhaitable d'explorer une méthode de lutte alternative pour lutter contre la tordeuse des canneberges.

Parallèlement à cette problématique appliquée, ce projet s'attarde également à une problématique fondamentale, soit la méthode à suivre afin de sélectionner un agent de lutte biologique. Tel que mentionné précédemment, la méthode de sélection d'un agent de lutte biologique est un sujet qui demeure controversé au sein de la communauté scientifique (DeBach et Huffaker, 1971; Zwölfer *et al.*, 1976; Pschorn-Walcher, 1977; van Lenteren, 1980; Hoelmer et Kirk, 2005). Ceci est d'autant plus vrai lorsque de nombreux candidats sont considérés (Hoelmer and Kirk, 2005) comme il est souvent le cas lors de l'utilisation de trichogrammes en tant qu'agent de lutte étant donné l'énorme diversité spécifique du genre (Pinto, 1999). Afin d'optimiser ce processus de sélection, il serait donc souhaitable de développer une nouvelle approche, rapide et peu dispendieuse afin de limiter le nombre d'espèces candidates.

## 1.6 Objectifs et hypothèse

### 1.6.1 Objectifs principaux

1. Cibler une espèce de trichogramme prometteuse pour lutter contre la tordeuse des canneberges dans l'optique de développer une méthode de lutte biologique inondative contre ce ravageur ;
2. Proposer une nouvelle approche, basée sur la théorie de synchronisation hôte parasitoïde présentée par Godfray (1994), pour faciliter et accélérer le processus de sélection d'un agent de lutte biologique.

### 1.6.2 Objectifs spécifiques

1. Identifier les espèces candidates potentielles – Chapitre 2
  - 1.1. Réaliser un inventaire des espèces de trichogrammes présentes naturellement en cannebergières au Québec.
2. Analyse spatio-temporelle et sélection – Chapitre 3
  - 2.1 Investiguer la présence de correspondances spatio-temporelles entre chacune des espèces de trichogrammes présentes en cannebergières et la tordeuse des canneberges ;
  - 2.2 Évaluer en laboratoire le taux de parasitisme des œufs de la tordeuse des canneberges par les espèces de trichogrammes récoltées en cannebergières.
  - 2.3 Évaluer le potentiel de l'utilisation d'analyses spatio-temporelles comme approche pour limiter le nombre d'espèces candidates et optimiser le processus de sélection.

### 1.6.3 Hypothèse de recherche

L'hypothèse principale du projet proposé est que l'analyse spatio-temporelle de concordance entre les espèces de trichogrammes et les captures de mâles adultes de la tordeuse des canneberges permettra de cibler adéquatement les espèces présentant le meilleur potentiel de lutte (objectif spécifique 2.1). Ainsi, on s'attend à ce que l'espèce ou les espèces ciblées par ces analyses soient celles qui performeront le mieux lors des essais de parasitisme en laboratoire (objectif spécifique 2.2).

#### 1.6.4 Justification méthodologique

L'hypothèse de recherche émet le postulat que l'analyse spatio-temporelle de concordance entre les espèces de trichogrammes et les captures de mâles adultes de la tordeuse des canneberges permettra de cibler adéquatement les espèces présentant le meilleur potentiel de lutte. Or, cet indicateur prévoit une concordance entre l'ennemi naturel et le stade approprié de son hôte ou sa proie; ce qui, dans notre cas, représenterait plutôt la présence des œufs de la tordeuse des canneberges en champs. Dans le cadre de cette étude, la capture des mâles adultes a toutefois été utilisée comme variable de substitution pour la présence des œufs du ravageur ciblé. Ceci se justifie par le fait que la tordeuse des canneberges pond la majorité de ses œufs 48h après l'accouplement qui se produit généralement dans les 24h suivant l'émergence des adultes (Fitzpatrick et Troubridge, 1993). Ainsi, une évaluation hebdomadaire des captures devrait prédire de manière relativement fidèle la présence des œufs du ravageur.



## **CHAPITRE II**

### **SURVEY OF *TRICHOGRAMMA* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) NATURAL POPULATIONS IN QUEBEC CRANBERRY BOGS AND IDENTIFICATION USING RDNA ITS-2 SEQUENCE ANALYSIS**

Labarre, D.<sup>1,2</sup>, Drolet, I.<sup>3</sup>, Légaré, J.-P.<sup>4</sup>, Breton, M.<sup>4</sup>, Cormier, D.<sup>5</sup>, Lucas, E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Biological control lab, Université du Québec à Montréal, CP 8888, succursale Centre-Ville Montréal, Montreal, Québec, Canada H3C 3P8

<sup>2</sup> Quebec Cranberry Growers Association, 859 Ancienne route de l'église, Notre-Dame-de-Lourdes, Québec, Canada G0S 1T0

<sup>3</sup> Club environnemental et technique atocas Québec, Notre-Dame-de-Lourdes, Québec, Canada G0S 1T0

<sup>4</sup> Laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection, Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de L'Alimentation du Québec, Complexe scientifique 2700, rue Einstein, D.1.200h Québec, Québec, Canada G1P 3W8

<sup>5</sup> Research and development institute for the agri-environment, 335 rang des Vingt-Cinq Est, Saint-Bruno-de-Montarville, Québec, Canada J3V 0G7

## 2.1 Résumé

La province de Québec, Canada est la plus importante région productrice de canneberges biologiques au monde. Cependant, les méthodes de lutte contre les ravageurs sont limitées et les producteurs font face à des pertes de rendements importantes chaque année. Ces pertes de rendements sont principalement causées par des insectes de l'ordre des Lépidoptères, notamment la tordeuse des canneberges, *Rhopobota naevana* (Hübner) et la pyrale des atocas, *Acrobasis vaccinii* Riley qui sont les deux principaux ravageurs de la culture au Québec. Les parasitoïdes oophages du genre *Trichogramma* sont des agents de lutte biologique efficaces contre les lépidoptères nuisibles dans de nombreux systèmes forestiers et agricoles. L'objectif de cette étude est de réaliser un inventaire extensif de trichogrammes à l'aide d'œufs sentinelles d'*Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) au sein de cannebergières biologiques au Québec. Les échantillons collectés ont été identifiés par séquençage de l'ADN ribosomal de la région de l'espaceur interne transcrit 2 (ITS-2) et soumis à une analyse de ressemblance avec des échantillons de référence pour identification. Nos résultats confirment la présence de quatre espèces de trichogrammes au sein de l'agroécosystème étudié. Ces espèces sont *Trichogramma brassicae*, *Trichogramma minutum*, *Trichogramma ostriniae* et *Trichogramma pretiosum*. Bien que certaines espèces aient déjà été signalées en cannebergières dans le passé, il s'agit de la première mention de *T. brassicae* et *T. ostriniae* ainsi que la première mention de *T. minutum* dans les cannebergières du Québec. À l'exception de *T. ostriniae*, toutes les espèces récoltées sont indigènes de l'est du Canada. Les perspectives futures en matière de lutte biologique au sein des cannebergières québécoises sont discutées.

Mots-clés: *Acrobasis vaccinii*, agent de lutte biologique, espèces exotiques, espèces indigènes, identification moléculaire, lépidoptères, parasitoïdes oophage, pyrale des atocas, *Rhopobota naevana*, tordeuse des canneberges

## 2.2 Abstract

The province of Quebec, Canada is the most important organic cranberry growing regions worldwide. However, insect pest management methods are limited, and growers face significant yield loss each year. These yield losses are mostly caused by lepidopteran pests, such as the black-headed fireworm, *Rhopobota naevana* (Hübner) and the cranberry fruitworm, *Acrobasis vaccinii* Riley; the two major pests in Quebec. Egg parasitoids of the genus *Trichogramma* are effective biocontrol agent of lepidopteran pests in many forest and agricultural systems. Herein, a two-year, large-scale populations survey of *Trichogramma* spp. was performed using *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) as sentinel eggs in Quebec organic cranberry bogs. Collected specimens were identified by sequencing ribosomal DNA of the Internal Transcribed Spacer 2 (ITS-2) region and subjected to resemblance analysis with reference specimens for identification. Our results confirm that at least four *Trichogramma* species naturally occur in the studied agroecosystem. Those species are *Trichogramma brassicae*, *Trichogramma minutum*, *Trichogramma ostriniae* and *Trichogramma pretiosum*. While some species have already been reported in cranberry bogs, this represents the first mention of *T. brassicae* and *T. ostriniae* as well as the first mention of *T. minutum* in Quebec cranberry bogs. All species collected are native from Eastern Canada except *T. ostriniae*. Future perspectives for biocontrol in Quebec cranberry bogs are discussed.

Keywords: *Acrobasis vaccinii*, biocontrol agent, black-headed fireworm, cranberry fruitworm, egg parasitoids, exotic species, Lepidoptera, molecular identification, indigenous species, *Rhopobota naevana*

### 2.3 Introduction

In 2018, 97 % of the world's cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) production came from the United States of America and Canada (Cranberry Institute, 2019). While the state of Wisconsin is the most important growing region in the United States as well as worldwide (Cranberry Institute, 2019), most Canadian cranberries are grown in the province of Quebec (Agriculture and Agri-Food Canada, 2019). Quebec cranberry industry distinguishes itself with 1839 ha of certified organic production, ranking as the world's most important organic cranberry growing regions (Association des producteurs de canneberges du Québec (APCQ), 2020).

The management of insect pests in organic production has proven to be a significant challenge since there are currently very few organic certified insecticide registered in Canada (Cranberry Institute, 2020), and their efficacy is fairly limited (Polavarapu and Peng, 1998; Patten and Metzger, 2009; Deland *et al.*, 2014; Drolet, 2018). In eastern Canada, there are about 30 insect species that were identified as a pest for the crop, and among those, 25 belong to the order Lepidoptera (Le Duc and Turcotte, 2004; Drolet *et al.*, 2018). These lepidopteran cause significant damage to the crop, and yield losses can reach 30% in the case of the cranberry fruitworm, *Acrobasis vaccinii* Riley (Lepidoptera: Pyralidae) (Drolet, 2004) and 60 to 95 % in the case of the black-headed fireworm, *Rhopobota naevana* (Hübner) (Lepidoptera: Tortricidae) (Deland *et al.*, 2014).

*Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) are minute egg parasitoids of Lepidoptera (Knutson, 1998). More than 150 species are currently described worldwide and about 30 are native to North America (Pinto and Stouthamer, 1994;

Pinto, 1999). Their use as biocontrol agent is relatively widespread, and their use has been investigated in more than 50 countries. *Trichogramma* spp. are released on more than 15 million ha every year (Hassan, 1993; van Lenteren *et al.*, 2018). Their popularity comes from the fact that they have proven to be effective against many pest species in many agricultural and forest ecosystems and can easily be reared on factious hosts, facilitating their production (Smith, 1996; El-Wakei, 2007; Sithanantham *et al.*, 2013).

The first step in the development of a biocontrol program, whether it is using a *Trichogramma* species or any other natural enemy, is the selection of an appropriate agent (Hassan, 1994; Smith, 1996). Therein, concerns have been previously raised in regards to adverse effect of using exotic species on non-target species (Louda *et al.*, 2003; van Lenteren *et al.*, 2003; Heimpel *et al.*, 2004). When available and applicable in practice, using indigenous species as biocontrol agents present many advantages (Bartlett, 1978; Michaud, 2002). Thus, it has been suggested that indigenous strain or species should be preferred for the development of a biocontrol program using *Trichogramma* (van Lenteren *et al.*, 2003). However, in the process of selecting a species, taxonomic identification has proven to be a challenge because the systematic of the group remains poorly understood (Pinto and Stouthamer, 1994). To address this problem, molecular identification was suggested (Vanlerberghe-Masutti, 1994) and is now widespread for the identification of *Trichogramma* using ribosomal DNA of the Internal Transcribed Spacer 2 (ITS-2) region (Stouthamer *et al.*, 1999).

Many *Trichogramma* species were previously reported parasitizing cranberry lepidopteran pests. *Trichogramma deion* Pinto & Oatman was found parasitizing *A. vaccinii* and *Sparganothis sulfureana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae) eggs in Quebec (Fournier and Boivin, 1998). *Trichogramma evanescens* Westwood,

*Trichogramma minutum* Riley and *Trichogramma sibericum* Sorokina were also successfully reared from *R. naevana* eggs in British Columbia (Li *et al.*, 1993; Henderson *et al.*, 2001). *Trichogramma minutum* was also reported parasitizing *S. sulfureana* (Marucci, 1953) and *A. vaccinii* (Franklin, 1916; Peck, 1951; van Driesche and Brodel, 1987) eggs in the United States. Finally, *Trichogramma pretiosum* Riley was also previously reported for parasitizing *A. vaccinii* eggs in the United States (Franklin, 1916; van Driesche and Brodel, 1987; Simser, 1995) and in Quebec (Huber, 2014, as cited in Drolet, 2018). However, to our knowledge, other than coincidental captures, no extensive survey of *Trichogramma* has ever been performed in Quebec cranberry bogs.

Herein, we present the results of a two-year intensive survey of *Trichogramma* spp. in Quebec cranberry bogs using sentinel eggs of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) and molecular identification using characterization of ITS-2 sequences. This method has proven to be effective in many other *Trichogramma* surveys (Pinto *et al.*, 1997; Silva *et al.*, 1999; Stouhamer *et al.*, 1999; Liz and Rui, 2002; Pinto *et al.*, 2002; Ercan *et al.*, 2011; Nasir *et al.*, 2013).

## 2.4 Material and methods

### 2.4.1 Field survey

This study was realized in organic commercial cranberry bogs in the region of Centre-du-Québec (46°17'N 72°04'W), in the province of Quebec, Canada in 2016 and 2017. Within each bog, one bed, ranging from 0.8 to 2 ha (2 to 5 acres), was selected based upon *R. naevana* and *A. vaccinii* infestation history using past years monitoring data from the Club environnemental et technique atocas Québec (CETAQ). These species

were targeted because they are the most damaging pests in Quebec organic cranberry bogs (Club environnemental et technique Atocas Québec (CETAQ), unpublished data).

Within each selected bed, three sampling stations were determined; the first was in the first half of the bed (starting from the north-east end) and 4 m away from the dike, the second in the second half of the bed and 8 m away from the dike and the third located at 12 m from the end of the bed (Fig. 2.1). A mass of around 1000 fresh (< 24h old) and UV-sterilized *E. kuehniella* sentinel eggs were placed within the vines. They were disposed in a conic structure made with fine nylon mesh (1 x 1.2 mm) with a clear plastic top to allow access of the parasitoids while preventing predation on the sentinel eggs and deterioration caused by irrigation systems. Sentinel egg masses were collected and replaced by fresh ones twice a week. Collected *E. kuehniella* eggs were placed in growth room at 24 °C, 16L: 8D and R.H. 70 % and observed daily for the characteristic blackening of eggs parasitized by *Trichogramma* females. Egg masses presenting blackening of at least one egg were noted as parasitized. *Trichogramma* emerging from *E. kuehniella* eggs collected from the field were preserved individually in 90 % ethanol until identification.

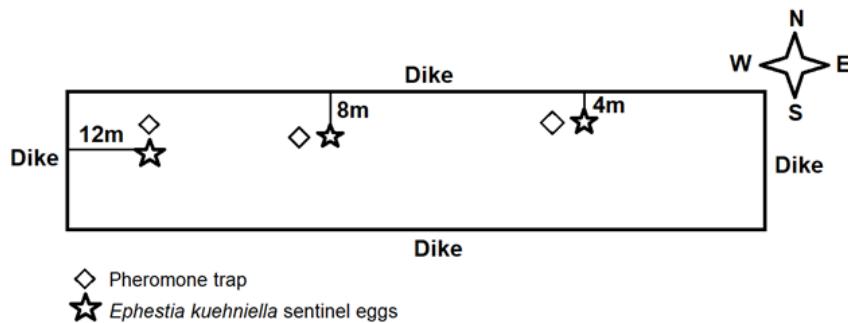


Figure 2.1 Disposition of black-headed fireworm pheromone traps and *Ephestia kuehniella* sentinel eggs within the experimental cranberry beds Quebec, Canada during 2016 and 2017 growing seasons.

Both years, this experimental design was implemented in 8 and 15 cranberry bogs during the first and second flights of the black-headed fireworm, respectively. To assess flight periods, black-headed fireworm populations were monitored weekly using diamond® traps and BHF® synthetic pheromones capsules (Trécé, Inc., Adlair, OK, USA) (Fig. 2.1). The first flight of *R. naevana* is generally well synchronized with the flight of *A. vaccinii* (Steffan *et al.*, 2017), in such a way, no pheromone traps were installed to monitor the latter and no additional sampling period was needed. Additionally, in 2017, *E. kuehniella* egg masses were also disposed in beds during spring emergence of *R. naevana* larvae (mid-May to early June).

#### 2.4.2 Molecular identification

Molecular identification, including DNA extraction, amplification by chain reaction (PCR) and electrophoresis, were conducted in the Laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection of the Quebec Ministry of Agriculture (LEDP-MAPAQ).

DNA was extracted from adult *Trichogramma* individuals by using DNeasy Blood & Tissue Kits (Qiagen) according to the manufacturer's specifications and resultant DNA eluted in 100 µL of HPLC water was kept in the 1.5 mL micro-tubes until amplification.

As pointed out by Stouthamer *et al.* (1999), the ITS-2 is a highly conserved region that can be used to describe and discriminate some *Trichogramma* species. The primers used to amplify this region were ITS-2F (5'-TGTGAACTGCAGGACACATG-3') and ITS-2R (5'-GTCTTGCCTGCTCTGCTCTGAG-3'). The PCR was performed in a total volume of 50 µL using a thermocycler (11.70 µL of sterile HPLC water, 5 µL amplification buffer 10X, 1 µL MgCl<sub>2</sub>, 25 µL trehalose (10 %), 1 µL dNTP's (2 mM),

0.5 µl forward and 0.5 µL reverse primers, 0.3 µL Taq DNA polymerase (5U/ µL) and 5 µL DNA template). A control sample was also prepared using 5 µL of sterile HPLC water instead of the DNA sample. Amplifications were performed in a thermocycler set at 95 °C for three minutes followed by 45 cycles of 45 seconds at 92 °C, 45 seconds at 53 °C and 45 seconds at 72 °C with a final extension step of three minutes at 72 °C. After the final extension step, samples rested at 10 °C before being stored.

PCR products were electrophoresed by using QIAxcel Advanced System (Quiagen) with QIAxcel DNA kits according to the manufacturer's specifications. Negative control without DNA was used in each run. DNA samples that showed fragments corresponding to 500 bp were used for sequencing.

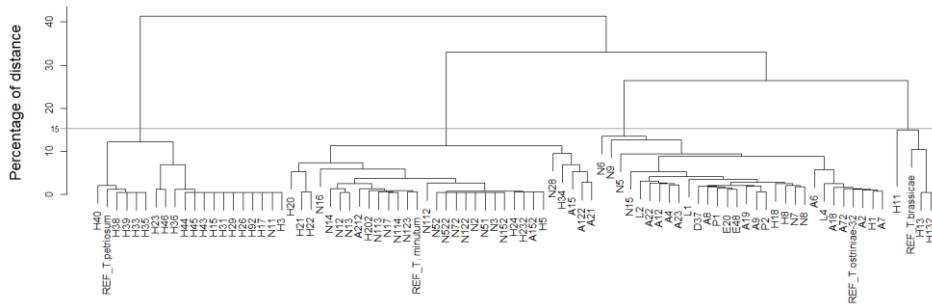
Sequencing were performed by the Plateforme de séquençage et de génotypage des génomes of the CHU of Quebec Center of Research- CHUL using 3730xl DNA Analyzer with a BigDye Terminator 3.1 kit (Applied Biosystems, USA). Sequences were edited and analyzed by using Geneious version 8.0.5 software (Biomatters). A search for similarity in the sequences was performed in GenBank (NCBI – National Center for Biotechnology Information) using the BLAST program (Altschul *et al.*, 1990). Each sequence was also compared with reference sequences provided by Dr. Richard Stouthamer (Department of Entomology, University of California) using Geneious version 8.0.5 software (Biomatters).

Distance percentage for the ITS-2 region among sampled and reference specimens were plotted in a dendrogram using the *hclust* function (Müllner, 2013) of the *stats* package (R Core Team, 2019). Specimens were considered belonging to the same species as the closest reference specimen if the distance percentage were beneath 15 % (Li and Shen, 2002; Li *et al.*, 2004).

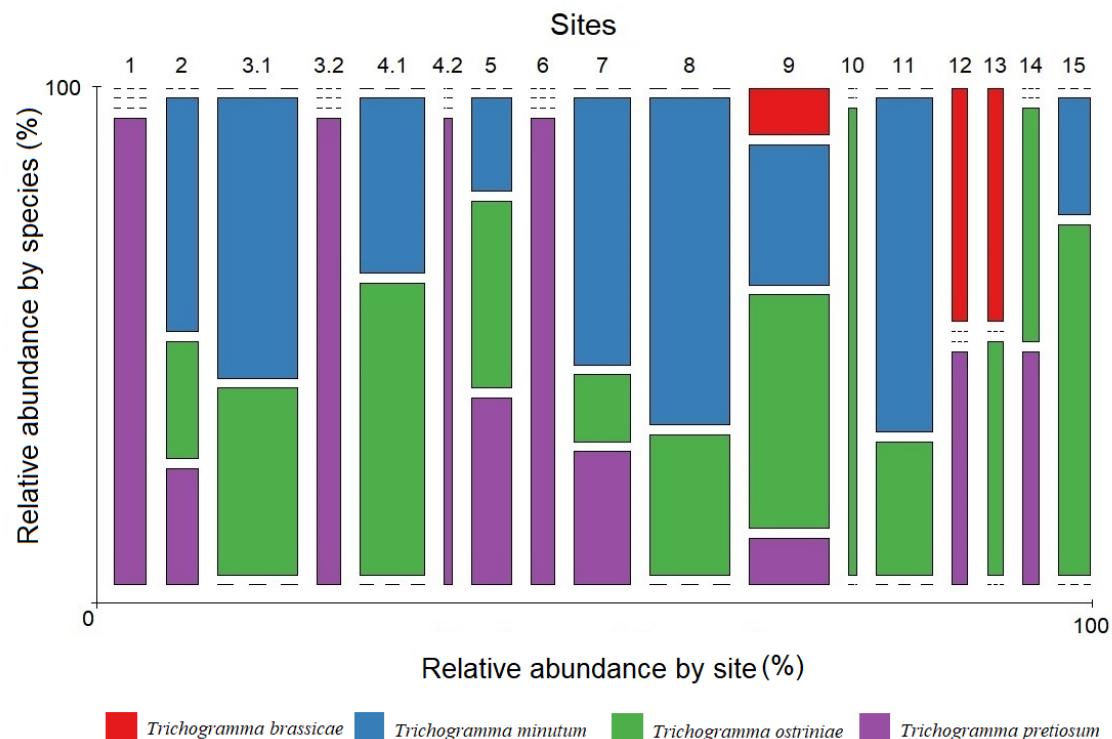
## 2.5 Results

During the 2016 and 2017 growing seasons, 1668 *E. kuehniella* sentinel egg masses of about 1000 eggs were placed and 932 (55,87 %) of them were successfully retrieved from the studied beds. The others were either predated or simply washed off by rains or irrigation systems. Among those retrieved , 159 (17.06 %) showed the blackening of at least one egg, indicating parasitism by *Trichogramma*. Of those 159 egg masses with at least one parasitized egg, it has been possible to extract DNA from an emerged adult, sequence and successfully identify it to a *Trichogramma* species for 82 cases.

The genetic ITS-2 distance dendrogram and the reference specimens indicate that four *Trichogramma* species were identified in Quebec's organic cranberry bogs (Fig. 2.2). Specimens successfully identified belonged to the species *T. brassicae* Bezdenko (n = 3), *T. minutum* (n = 31), *T. ostriniae* (Pang and Chen) (n = 29) and *T. pretiosum* (n = 19).



The relative importance of those species within each experimental site as well as the relative importance of individuals that emerged from egg masses among sites is presented in Figure 2.3 and the sampling period where they were collected in Table 2.1.



**Figure 2.3** Relative abundance of parasitized sentinel egg masses among sites (in X) and relative abundance of *Trichogramma* species that emerged from egg masses within each site (in Y) collected in Quebec, Canada cranberry bogs during the 2016-2017 growing seasons. Dotted lines indicate the absence of either one of the species at a given site.

**Table 2.1** Summary of the number of *Ephestia kuehniella* sentinel egg masses placed and retrieved, number of mass parasitized and identification of the *Trichogramma* species that emerged from egg masses in Centre-du-Québec region, Quebec, Canada cranberry bogs for each sampling period in relation to the life cycle of the black-headed fireworm.

Pest life cycle stage	Year	Dates	N parasitized egg masses (N adult <i>Trichogramma</i> successfully identified)	Species (N)
Black-headed fireworm first flight - Cranberry fruitworm flight	2016	July 6 to August 2	61 (41)	<i>T. minutum</i> (25); <i>T. ostriniae</i> (16)
	2017	July 2 to July 31	11 (2)	<i>T. minutum</i> (1); <i>T. pretiosum</i> (1)
Black-headed fireworm second flight	2016	August 22 to September 23	16 (1)	<i>T. pretiosum</i> (1)
	2017	August 14 to September 18	53 (26)	<i>T. minutum</i> (4); <i>T. ostriniae</i> (6); <i>T. pretiosum</i> (16)
End of overwintering period	2017	May 12 to June 2	18 (12)	<i>T. brassicae</i> (3); <i>T. minutum</i> (1); <i>T. ostriniae</i> (7); <i>T. pretiosum</i> (1)
<b>Total</b>			<b>159 (82)</b>	<i>T. brassicae</i> (3); <i>T. minutum</i> (31); <i>T. ostriniae</i> (29); <i>T. pretiosum</i> (19)

## 2.6 Discussion

To our knowledge, this project represents the world's first extensive *Trichogramma* inventory in cranberry bogs. As mentioned earlier, *T. minutum*, and *T. pretiosum* were previously reported in north-American cranberry bogs (Franklin, 1916; Peck, 1951; van Driesche and Brodel, 1987; Li *et al.*, 1993; Simser, 1995; Huber, 2014, as cited in Drolet, 2018). While *T. pretiosum* was already found in Quebec cranberry bogs, our results represent the first mention of *T. minutum* in Eastern Canada cranberry bogs. Even though *T. deion* has previously been reported in Quebec cranberry bogs (Fournier and Boivin, 1998), it was not sampled during this project. However, *T. deion* is known to be particularly similar morphologically to *T. pretiosum*, a species that was sampled in this project, and has even been described as a cryptic species (Pinto *et al.*, 1986; 1993). It is possible that the specimen collected in previous studies has been misidentified, which underline the pertinence and usefulness of molecular identification tools such as those used herein.

This project also represents the first mention of *T. ostriniae* and *T. brassicae* presence in cranberry bogs. *Trichogramma ostriniae* is a native parasitoid of *Ostrinia furnacalis* Guenée (Lepidoptera: Crambidae) in China (Yong *et al.*, 2007) and therefore an exotic species in North America. It was introduced in the continent in the 90s as part of mass releases to control *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Crambidae) in corn production (Seaman *et al.*, 1996). Its ability to overwinter and establish itself has been confirmed in New York, USA (Gardner *et al.*, 2013), but its permanent establishment remains unclear in Quebec. However, its mass release in corn fields significantly increased in the province over the last decade (St-Onge, 2016; Charbonneau *et al.*, 2019) which could explain why specimens were collected from cranberry bogs in Quebec. The Centre-du-Québec region is an important agricultural region in the

province and, even though there is a high concentration of cranberry bogs, there is also a significant amount of grain, forage crop and vegetable fields on the territory (Ministère de L’Agriculture, des Pêcheries et de l’Alimentation (MAPAQ), 2013), and sometimes neighbouring cranberry bogs. Since there are large numbers of inundative releases of the species in the region to control *O. nubilalis*, it can thus be hypothesized that individuals released in corn fields nearby might have migrated in cranberry bogs. It has been reported that *T. ostriniae* can disperse to significant distances from the release point (Wright *et al.*, 2001) and that the wind significantly influences this dispersal capacity (Fournier and Boivin, 2000). Similar reasoning can also apply to the native species *T. brassicae*, which has also been used extensively in the past to control *O. nubilalis*; most likely in corn fields nearby cranberry bogs (St-Onge, 2016; Charbonneau *et al.*, 2019).

Except for *T. ostriniae*, all other *Trichogramma* species collected during this project are native from Canada (Pinto, 1999). As for *T. minutum*, it demonstrated a good biological control potential against various pests in forest ecosystems (Bai *et al.*, 1995), against the oblique-banded leafroller, *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Lepidoptera: Tortricidae) in raspberries and blueberries (McGregor *et al.*, 1998) as well as in apple orchards (Cormier *et al.*, 2019). *Trichogramma pretiosum* has proven to be an effective biocontrol agent against various vegetable lepidopteran pests and (Oatman and Platner, 1971) and *T. brassicae* against *O. nubilalis* in sweet corn (Mertz *et al.*, 1995) and various lepidopteran pests in cruciferous crops (Lundgren *et al.*, 2002).

Herein, parasitoid species were not found parasitizing any cranberry pest, but rather collected using a factious host. Major cranberry pest species in Quebec lay eggs individually (Le Duc and Turcotte, 2004; Drolet *et al.*, 2018). For instance, the black-

headed fireworm and the cranberry fruitworm will lay beneath leaves and in the fruit calyx, respectively (Le Duc and Turcotte, 2004; Sylvia and Averill, 2005; Fitzpatrick *et al.*, 2015). Thus, sampling eggs represents substantial amount of work that could not have been performed every week during the species flights on that many sites. The use of sentinel eggs was therefore preferred to increase the sample size and generate a more realistic picture of the egg parasitoid community in the agroecosystem. Moreover, there is currently no mass rearing protocol that has been developed for *R. naevana* nor *A. vaccinii*. Even though *Trichogramma* spp. are generally considered generalist (Mackauer and Sequeira, 1993) using sentinel eggs of the targeted species would not only have identified parasitoid species present in the agroecosystem, but also confirm their ability to parasitize the pests. Considering the importance of *R. naevana* and *A. vaccinii* damages in cranberry bogs, developing rearing protocols would prove useful for a variety of further studies on these species.

In conclusion, our results demonstrate that there are at least four *Trichogramma* species naturally occurring in Quebec organic cranberry bogs. In decreasing order of abundance, there is *T. minutum*, *T. ostriniae*, *T. pretiosum* and finally, *T. brassicae*. Our study is the first step to develop a biological control program against a specific cranberry lepidopteran pest in Quebec organic bogs. The collected *Trichogramma* species represent potential suitable candidates for developing such method in accordance with van Lenteren *et al.* (2003) recommendation of using local strains or species.

## 2.7 Acknowledgements

This project was conducted under the volet 4 of the Prime-vert 2013-2018 and was funded by the Quebec Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAPAQ) through

the Stratégie phytosanitaire québécoise en agriculture 2011-2021. We would also like to thank the Quebec Cranberry Growers Association (APCQ) and the Club environnemental et technique Atocas Québec (CETAQ), Mylène St-Onge and Silvia Todorova from Anatis Bioprotection, Dr. Richard Stouthamer from the University of California Riverside (UCR) for their collaboration as well as the members of the UQAM bio-control lab. Technical assistance included (in last name alphabetical order): Yannick Arel-Rheault, Alex Audet, Anthony Beaudoin, Catherine Dalpé, François Gagné, Karine Gagné, Josée Mailloux, Josée Maltais, Anne-Julie Verrault et Josée Verville.

## 2.8 References

- Agriculture and Agri-Food Canada Pest Management Program. (2019). *Crop Profile for Cranberry in Canada, 2016*. Retrieved from [http://www.publications.gc.ca/collections/collection\\_2019/aac-aafc/A118-10-6-2016-eng.pdf](http://www.publications.gc.ca/collections/collection_2019/aac-aafc/A118-10-6-2016-eng.pdf)
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, 215(3), 403-410.
- Association des producteurs de canneberges du Québec. (2020). *Quebec Cranberry Statistics*, Retrieved from <http://www.notrecanneberge.com/Content/Page/Stats>
- Bai, B., Cobanoğlu, S. & Smith, S. M. (1995). Assessment of *Trichogramma* species for biological control of forest lepidopteran defoliators. *Entomologia experimentalis et applicata*, 75(2), 135-143.
- Bartlett, B. R. (1978). *Introduced parasites and predators of arthropod pests and weeds: a world review* (No. 480). Washington, D. C.: US Department of Agriculture.
- Charbonneau, A., Boisclair, J., Boislard, T., Cormier, D., Belzile, L. & Godonou, D. (2019). *Utilisation à grande échelle des trichogrammes contre la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*) dans le maïs sucré frais et de transformation au Québec* (PV-3.2-2016-001). Retrieved from [https://irda.blob.core.windows.net/media/4840/boisclair-et-al-2019-utilisation\\_a\\_grande\\_echelle\\_des\\_trichogrammes\\_contre\\_la\\_pyrale\\_du\\_maïs\\_dans\\_le\\_maïs\\_sucré\\_frais\\_et\\_de\\_transformation\\_rapport.pdf](https://irda.blob.core.windows.net/media/4840/boisclair-et-al-2019-utilisation_a_grande_echelle_des_trichogrammes_contre_la_pyrale_du_maïs_dans_le_maïs_sucré_frais_et_de_transformation_rapport.pdf)
- Cormier, D., Pelletier, F., Chouinard, G. & Vanoosthuyse, F. (2019). Host finding and parasitism efficiency of obliquebanded leafroller egg masses by *Trichogramma minutum* after inundative releases in apple orchards. *Acta Horticulturae*, 1261, 243-249.
- Cranberry Institute. (2019). *About Cranberries, Crop Statistics*. Retrieved from <https://cranberryinstitute.org/about-cranberries/crop-statistics>
- Cranberry Institute. (2020). 2020 Canadian Pesticide Chart annual report. Carver, MS: John S. Wilson.

- Deland, J.-P., Vanoosthuyse, F. & Cormier, C. (2014). *Évaluation de l'efficacité des insecticides biologiques azadirachtine et B. thuringiensis var. kurstaki pour lutter contre la tordeuse des canneberges dans la production de canneberges* (10-INNO1-14). Retrieved from [https://www.mapaq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/Recherche\\_Innovation/Petitsfruits/10INNO114.pdf](https://www.mapaq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/Recherche_Innovation/Petitsfruits/10INNO114.pdf)
- Drolet, I. (2004). *Récolte à la main des larves de la pyrale des atocas (Acrobasis vaccini Riley)* (Internal report Club environnemental et technique atocas Québec). Notre-Dame-de-Lourdes.
- Drolet, I. (2018). *Biodiversité des ravageurs lépidoptères et de leurs parasitoïdes en cannebergières biologiques et conventionnelles au Centre-du-Québec* (Master's Thesis). Laval University. Retrieved from <https://corpus.ulaval.ca/jspui/bitstream/20.500.11794/32533/1/34243.pdf>
- Drolet, I., Landry, J.-F. & Moisan-De Serres J. (2018). *Insectes ravageurs de la canneberge au Québec : Guide d'identification* (2<sup>nd</sup> ed.). Québec : CRAAQ.
- El-Wakeil, N. E. (2007). Evaluation of efficiency of *Trichogramma evanescens* reared on different factitious hosts to control *Helicoverpa armigera*. *Journal of Pest Science*, 80(1), 29.
- Ercan, S. F., Oztemiz, S., Tuncbilek, S. A. & Stouthamer, R. (2011). Sequence analysis of the ribosomal DNA ITS2 region in two *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Archives of Biological Sciences*, 63(4), 949-954.
- Fitzpatrick, S.M., Wong, W., Elsby, M. & van Dokkumburg, H. (2015). *Integrated pest management for cranberries in western Canada* (2<sup>nd</sup> ed.). Abbotsford: BC Cranberry Marketing Commission. Retrieved from <https://www.bccranberries.com/pdfs/ipm-booklet/IPM%20for%20Cranberries%20High%20Res.pdf>
- Fournier, F. & Boivin, G. (1998). Selection and use of *Trichogramma* spp. for the biological control of *Acrobasis vaccinii* and *Sparganothis sulfureana* in cranberry production. *Cranberry Institute Research Compilation*, 1998, 11: 161-166.

- Fournier, F. & Boivin, G. (2000). Comparative dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to environmental conditions. *Environmental Entomology*, 29(1), 55-63.
- Franklin, H. J. (1916). Report of cranberry substation for 1915. *Massachusetts Agricultural Experimental Station, Amherst Bulletin*, 168(48), 486-487.
- Gardner, J., Yong, T. H., Pitcher, S. A. & Hoffmann, M. P. (2013). Overwintering of *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) within target and non-target host eggs. *Biocontrol science and technology*, 23(4), 367-380.
- Hassan, S. A. (1993). The mass rearing and utilization of *Trichogramma* to control lepidopterous pests: achievements and outlook. *Pesticide Science*, 37(4), 387-391.
- Hassan, S. A. (1994). Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In *Biological control with egg parasitoids*. Wallingford: CABI.
- Heimpel, G. E., Ragsdale, D. W., Venette, R., Hopper, K. R., O' Neil, R. J., Rutledge, C. E. & Wu, Z. (2004). Prospects for importation biological control of the soybean aphid: anticipating potential costs and benefits. *Annals of the Entomological Society of America*, 97(2), 249-258.
- Henderson D.E., Li S.Y. & Prasad R. (2001). 49 *Rhopobota naevana* (Hübner), blackheaded fireworm (Lepidoptera: Tortricidae). In *Biological Control Programmes in Canada, 1981-2000*. Wallingford: CABI.
- Knutson, A. (1998). The *Trichogramma* manual: a guide to the use of *Trichogramma* for biological control with special reference to augmentative releases for control of bollworm and budworm in cotton. Texas College Station: Agricultural Extension Service, the Texas A&M University System.
- Le Duc, I. & Turcotte, C. (2004). Manuel de lutte intégrée de la canneberge de l'Est canadien. Notre-Dame-De-Lourdes : Club environnemental et technique atocas Québec (CETAQ).
- Li, Z. & Shen, Z. (2002). Application of rDNA-ITS2 sequences to the molecular identification of *Trichogramma* spp. Kun chong xue bao. *Acta entomologica Sinica*, 45(5), 559-566.

- Li, S.Y., Sirois, G.M., Luczynski, A. & Henderson, D.E. (1993). Indigenous *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae) parasitizing eggs of *Rhopobota naevana* (Lep.: Tortricidae) on cranberries in British Columbia. *Entomophaga*, 38, 313–315.
- Li, Z. X., Zheng, L. & Shen, Z. R. (2004). Using internally transcribed spacer 2 sequences to re-examine the taxonomic status of several cryptic species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *European Journal of Entomology*, 101(3), 347-358.
- Liz, Xi. & Rui, S. Z. (2002). Application of rDNA-ITS2 sequences to the molecular identification of *Trichogramma* spp. *Acta Entomologica Sinica*, 5.
- Louda, S. M., Pemberton, R. W., Johnson, M. T. & Follett, P. (2003). Nontarget effects—the Achilles' heel of biological control? Retrospective analyses to reduce risk associated with biocontrol introductions. *Annual review of Entomology*, 48(1), 365-396.
- Lundgren, J. G., Heimpel, G. E. & Bomgren, S. A. (2002). Comparison of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) augmentation with organic and synthetic pesticides for control of cruciferous Lepidoptera. *Environmental entomology*, 31(6), 1231-1239.
- Mackauer, M. & Sequeira, R. (1993) Patterns of development in insect parasites. In Beckage, N.E., Thompson S.N. & Federici, B.A. (eds.), *Parasites and Pathogens of Insects* (vol. 1, p. 1-20), New York: Academic Press.
- Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation (2013). *Portrait agroalimentaire du Centre-du-Québec*. Retrieved from <https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/Regional.pdf>
- Marucci, P.E. (1953). The Sparganothis Fruitworm in New Jersey. In *Proceedings of the 83rd American Cranberry Growers' Association Meeting*. Pemberton, New Jersey, USA.

- McGregor, R., Hueppelsheuser, T., Luczynski, A. & Henderson, D. (1998). Collection and Evaluation of *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) as Biological Controls of the Oblique-Banded Leafroller *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Lepidoptera: Tortricidae) in Raspberries and Blueberries. *Biological Control*, 11(1), 38-42.
- Mertz, B. P., Fleischer, S. J., Calvin, D. D. & Ridgway, R. L. (1995). Field assessment of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Bacillus thuringiensis* for control of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in sweet corn. *Journal of economic entomology*, 88(6), 1616-1625.
- Michaud, J. P. (2002). Classical biological control: a critical review of recent programs against citrus pests in Florida. *Annals of the Entomological Society of America*, 95(5), 531-540.
- Müllner, D. (2013). fastcluster: Fast hierarchical, agglomerative clustering routines for R and Python. *Journal of Statistical Software*, 53(9), 1-18.
- Nasir, M. F., Hagedorn, G., Büttner, C., Reichmuth, C. & Schöller, M. (2013). Molecular identification of *Trichogramma* species from Pakistan, using ITS-2 region of rDNA. *BioControl*, 58(4), 483-491.
- Oatman, E. R. & Platner, G. R. (1971). Biological control of the tomato fruitworm, cabbage looper, and hornworms on processing tomatoes in southern California, using mass releases of *Trichogramma pretiosum*. *Journal of Economic Entomology*, 64(2), 501-506.
- Patten K. & Metzger C. (2009). Cranberry Pest Management with OP Alternative Insecticides. *Acta Horticulturae*, 810, 411–415.
- Peck, O. (1951). Chalcidoidea. In *Hymenoptera of America north of Mexico. Synoptic catalog* (No. 595.7/K93). US Government Printing Office.
- Pinto, J. D. (1999). Systematics of the North American species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Sistemática de las especies norteamericanas de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Memoirs of the Entomological Society of Washington*, 22, 1-287.

- Pinto, J. D., Koopmanschap, A. B., Platner, G. R. & Stouthamer, R. (2002). The North American *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitizing certain Tortricidae (Lepidoptera) on apple and pear, with ITS2 DNA characterizations and description of a new species. *Biological Control*, 23(2), 134-142.
- Pinto, J. D., Oatman, E. R. & Platner, G. R. (1986). *Trichogramma pretiosum* and a new cryptic species occurring sympatrically in Southwestern North America (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 79(6), 1019-1028.
- Pinto, J. D., Platner, G. R. & Sassaman, C. A. (1993). Electrophoretic study of two closely related species of North American *Trichogramma*: *T. pretiosum* and *T. deion* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annals of the entomological Society of America*, 86(6), 702-709.
- Pinto, J. H. & Stouthamer, R. (1994). Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on *Trichogramma*. In *Biological control with egg parasitoids*. Wallingford: CABI.
- Pinto, J. D., Stouthamer, R. & Platner, G. R. (1997). A new cryptic species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) from the Mojave Desert of California as determined by morphological, reproductive and molecular data. In *Proceedings of the entomological society of Washington* 99 (1997). - ISSN 0013-8797, 238 - 247.
- Polavarapu, S. & Peng, H. (1998). Evaluation of insecticides against blackheaded fireworm in cranberries, 1997. *Arthropod Management Tests*, 23(1), 53-53.
- RCore Team (2019). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Seaman, A., Hoffmann, M. P., Gardner, J. & Chenus, S. A. (1996). Pilot testing of *Trichogramma ostriniae* releases in fresh market sweet corn for control of European corn borer. In *New York State Vegetable Project Reports Relating to IPM. NYS IPM Publication #122*. Cornell Cooperative Extension.

- Silva, I. M., Honda, J., van Kan, F., Hu, J., Neto, L., Pintureau, B. & Stouthamer, R. (1999). Molecular differentiation of five *Trichogramma* species occurring in Portugal. *Biological Control*, 16(2), 177-184.
- Simser, D. (1995). Parasitism of cranberry fruitworm (*Acrobasis vaccinii*; Lepidoptera: Pyralidae) by endemic or released *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Great Lakes Entomologist*, 27(4), 189-196.
- Sithanantham, S., Ballal, C. R., Jalali, S. K. & Bakthavatsalam, N. (2013). Biological control of insect pests using egg parasitoids. New Delhi: Springer.
- Smith, S. M. (1996). Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. *Annual review of entomology*, 41(1), 375-406.
- Steffan, S. A., Singleton, M. E., Sojka, J., Chasen, E. M., Deutsch, A. E., Zalapa, J. E. & Guédot, C. (2017). Flight Synchrony among the Major Moth Pests of Cranberries in the Upper Midwest, USA. *Insects*, 8(1), 26.
- St-Onge, M. (2016). Optimisation de l'élevage de masse du parasitoïde *Trichogramma ostriniae* (Doctoral dissertation). Université du Québec à Montréal.
- Stouthamer, R., Hu, J., van Kan, F. J., Platner, G. R. & Pinto, J. D. (1999). The utility of internally transcribed spacer 2 DNA sequences of the nuclear ribosomal gene for distinguishing sibling species of *Trichogramma*. *BioControl*, 43(4), 421-440.
- Sylvia, M. M. & Averill, A. L. (2005). Cranberry insects of the Northeast. U. mass. Extension Publication.
- van Driesche, R. G. & Brodel, W. (1987). Potential for increased use of biological control agents in Massachusetts cranberry bogs (Research Bulletin). *Massachusetts Agricultural Experiment Station*, (718), 35-44.
- van Lenteren, J. C., Babendreier, D., Bigler, F., Burgio, G., Hokkanen, H. M. T., Kuske, S., ... & Tommasini, M. G. (2003). Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control. *BioControl*, 48(1), 3-38.

- van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W. J. & Urbaneja, A. (2018). Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*, 63(1), 39-59.
- Vanlerberghe-Masutti, F. (1994). Molecular identification and phylogeny of parasitic wasp species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) by mitochondrial DNA RFLP and RAPD markers. *Insect Molecular Biology*, 3(4), 229-237.
- Wright, M. G., Hoffmann, M. P., Chenus, S. A. & Gardner, J. (2001). Dispersal behavior of *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in sweet corn fields: implications for augmentative releases against *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Biological Control*, 22(1), 29-37.
- Yong, T. H., Pitcher, S., Gardner, J. & Hoffmann, M. P. (2007). Odor specificity testing in the assessment of efficacy and non-target risk for *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biocontrol Science and Technology*, 17(2), 135-153.

## **CHAPITRE III**

### **NEW APPROACH FOR NARROWING DOWN POTENTIAL BIOCONTROL AGENTS: A CASE STUDY AIMING TO SELECT A *TRICHOGRAMMA* SPECIES TO CONTROL THE BLACK-HEADED FIREWORM (*RHOPOBOTA NAEVANA*) IN QUEBEC CRANBERRY BOGS**

Labarre, D.<sup>1,2</sup>, Drolet, I.<sup>3</sup>, Cormier, D.<sup>4</sup>, Lucas, E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Biological control lab, Université du Québec à Montréal, CP 8888, succursale Centre-Ville Montréal, Montreal, Québec, Canada H3C 3P8

<sup>2</sup> Quebec Cranberry Growers Association, 859 Ancienne route de l'église, Notre-Dame-de-Lourdes, Québec, Canada G0S 1T0

<sup>3</sup> Club environnemental et technique atocas Québec, Notre-Dame-de-Lourdes, Québec, Canada G0S 1T0

<sup>4</sup> Research and development institute for the agri-environment, 335 rang des Vingt-Cinq Est, Saint-Bruno-de-Montarville, Québec, Canada J3V 0G7

### 3.1 Résumé

La sélection d'un ennemi naturel approprié est l'une des étapes les plus critiques de l'élaboration d'un programme de lutte biologique efficace. Pourtant, le processus de sélection a suscité beaucoup de controverses au cours des dernières décennies. Alors que certains estiment que des essais extensifs précédant l'introduction permettent de prédire avec succès l'efficacité d'un ennemi naturel, d'autres soutiennent qu'il est impossible de prédire un tel résultat. Quoi qu'il en soit, l'urgence fréquente de trouver une solution efficace dans les systèmes agricoles, accompagnés de fonds de recherche souvent limités, justifie d'explorer des techniques innovantes pour accélérer ce processus. Ici, nous proposons une méthode de structurer des inventaires terrain afin d'extraire des indicateurs écologiques pouvant être utilisés pour identifier les candidats prometteurs. Une étude de cas visant à sélectionner une espèce de trichogrammes pour lutter contre la tordeuse des canneberges (*Rhopobota naevana*) au sein de cannebergières au Québec est présentée. L'analyse spatio-temporelle effectuée suggère que l'espèce indigène *Trichogramma minutum* pourrait représenter une espèce candidate prometteuse tandis que *Trichogramma pretiosum* et *Trichogramma brassicae* ne montrent aucun signe qu'ils exploitent les œufs de *R. naevana* comme ressource . Ce résultat a ensuite été confirmé par une évaluation du niveau de parasitisme sur les œufs de *R. naevana* en laboratoire.

Mots-clés: ravageur agricole, indicateurs écologiques, parasitoïdes, analyse spatio-temporelle, sélection d'agents de lutte biologique

### 3.2 Abstract

The selection of a suitable natural enemy is one of the most critical steps of the elaboration of an effective biological control program. Yet, over the last decades, the selection process has in fact generated its lot of controversy. While some believe that thorough preintroduction work can successfully predict the efficacy of a natural enemy, others maintain that no amount of preintroduction work can accurately predict the outcome. Be that as it may, the frequent urgency for finding an effective solution in agricultural systems, in conjunction with limited research funds, justify exploring innovative techniques for fast-tracking this process. Herein, we propose a framework to perform and structure on-site surveys in order to extract ecological insights that will be used later to identify promising candidates, while discarding others. A case study aiming to select a *Trichogramma* species to control the black-headed fireworm (*Rhopobota naevana*) in Quebec cranberry bogs is presented using this method. The two years spatio-temporal analysis suggests that the native species *T. minutum* might represent a promising candidate while *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma brassicae* do not show any sign that they exploit *R. naevana* eggs as a resource. This result was then confirmed by an assessment of parasitism level on *R. naevana* eggs in laboratory conditions.

Keywords: agricultural pest, ecological insights, parasitoids, spatio-temporal analysis, biocontrol agent selection

### 3.3 Introduction

The success of a biological control program is closely related to the selection of a suitable natural enemy, making this, arguably the most critical step in the elaboration of a biological control program (Zwölfer *et al.*, 1976; Pak, 1990; Hassan, 1994; Smith, 1996; Hoelmer and Kirk, 2005). In fact, this subject has generated a certain amount of controversy among researchers and applied workers over the last decades (van Lenteren, 1980). While most generally agree upon the characteristics of efficient biocontrol agents (reviewed by van Lenteren, 1980; 1986; 2010), opinions differ over the approach that should be adopted in the selection process (summarized by van Lenteren, 1980). This controversial subject has often been referred to a confrontation of “art versus science”, generally opposing theoretical and applied researchers (Krebs, 1972; Harris 1973; van Lenteren, 1980; Hokkanen and Sailer, 1985; Pak, 1990). On the one hand, fundamental researchers believe in a predictive approach based on a thorough preintroduction assessment of biocontrol agent through well-designed experiments and efficiency predictive models (Kuenen, 1962; Kiritani and Dempster, 1973; Ehler, 1976; Beddington *et al.*, 1978). On the other hand, applied researchers tend to favour an empirical approach, arguing that no prior experiments or models can adequately predict the outcome of a natural enemy introduction given the intricate nature of an ecosystem, and believe that a trial-and-error approach is the most efficient way to proceed (Zwölfer *et al.*, 1976; Huffaker, 2012). This divergence of opinions may be explained by the fact that applied workers need readily applicable solutions to pest problems, while fundamental researchers are rather interested in the understanding of underlying principles of population dynamics (Bakker, 1964; Way, 1973). At the end of his review on the evaluation of natural enemies, van Lenteren (1980) brought some nuances to the topic. Since fundamental research are often expensive, time-

consuming, and do not ensure success, a trial-and-error approach preceded by some general pre-introductory research remains the most efficient approach to select a biological control agent (van Lenteren, 1980).

Although a trial-and-error approach was often perceived as the “cheapest” way to proceed, it may also become expensive when many candidates are considered (Hoelmer and Kirk, 2005). Recent papers focused on the improvement of an efficient method through the identification of key criteria allowing to narrow down the list of potential agents (Hoelmer and Kirk, 2005; van Lenteren, 2010). Those criteria such as predation rate, negative impact on non-target species or adaptions to local climatic conditions might not be sufficient for ranking biocontrol agent and identifying the best candidate (van Lenteren, 2010). However, van Lenteren (2010), argued that using these allows to discard most potential species, and therefore fast-track the process allowing to focus more advanced studies on promising candidates, which represented significant advancement.

Nevertheless, these criteria may not be sufficient when it comes to a diversified genus such as *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), in which there are currently around 145 described species worldwide and more than 30 in North America (Knutson, 1998). Even though *Trichogramma* spp. are generally considered polyphagous, species differ in their searching behaviour, host preferences and resistance to environmental conditions (Hassan, 1994). In fact, several biological control programs using *Trichogramma* spp. failed because of the selection of an unsuitable species (Hassan, 1993).

According to Hassan (1994), the selection process of a *Trichogramma* species should begin by a survey within the targeted crop since species naturally occurring in the

agroecosystem are probably adapted to environmental conditions. Host preference and parasitism potential can be evaluated through laboratory experiments while searching behaviour should be evaluated in semi-controlled or field experiments (Hassan, 1989; 1994). This framework represents a practical approach to target promising candidates but does not ensure that every species collected during field surveys represents a suitable agent and a significant amount of resources might be wasted on natural enemies presenting no control potential. The development of additional criteria or even a new approach would, therefore, prove useful to avoid wasting time and resources on further trials.

The concept of host-parasitoid synchronization has been proposed by Godfray (1994) and represents a concrete application of the optimal foraging theory. This fundamental theory in ecology stipulates that natural selection inevitably results in a behaviour optimizing gains while minimizing costs associated with resources acquisition (MacArthur and Pianka, 1966). According to Godfray (1994), temporal emergence patterns of parasitoids exploiting a given host with discrete generations should be characterized by an ideal free distribution adjusted to the appropriate development stage of that host. Temporal synchronization has been overlooked and generally set aside as a selection criterion for biological control using *Trichogramma* spp., as well as for any inundative biological control program because introduction timing can be artificially manipulated (van Lenteren, 1980; 1986; Pak, 1988; Pak, 1990). In fact, seasonal synchronization with the pest was identified as an important selection criterion only for inoculative biocontrol (van Lenteren, 2010). However, this is true when the parameter is considered for practical ends; a predator or parasitoid species used in an inoculative biocontrol program must have a good temporal synchronism with the pest to offer an effective control. On the other hand, what Godfray (1994) proposes is that

synchronization represents an indicator that a predator or parasitoid exploit a given pest, with discrete generations, in a natural environment, and therefore that this pest might represent a suitable host or prey for that natural enemy.

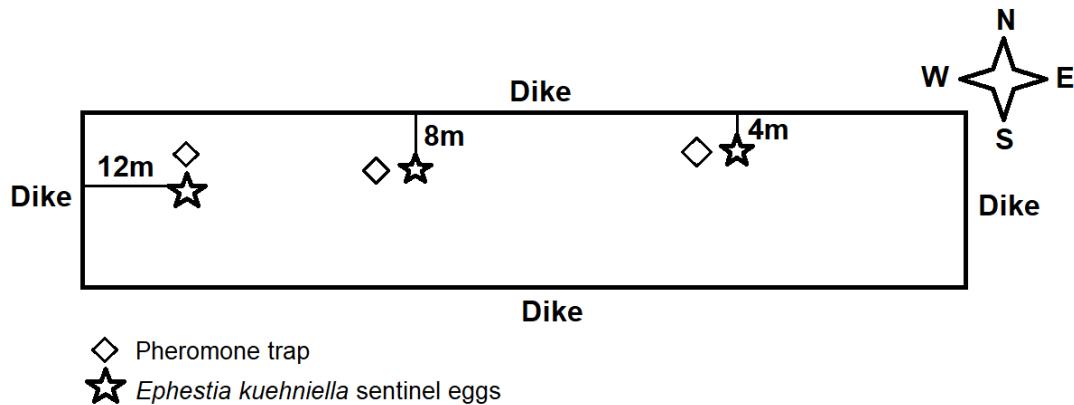
Herein, we propose a new approach applying Godfray's (1994) host-parasitoid synchronization theory to narrow down the list of potential *Trichogramma* species for the biological control of the black-headed fireworm in Quebec's cranberry bogs. To do so, we used a recent *Trichogramma* spp. natural population survey (Labarre, chpt. 2), where field collections were designed in a systematic fashion. We then performed a spatio-temporal analysis among sampled species and the black-headed fireworm aiming to detect concordance between a parasitoid species occurrence and the targeted pest relative density. This approach allows to extract as much information as possible from this field survey and use it as ecological insights of parasitoid species resource utilization. An assessment of the level of parasitism on *R. naevana* eggs of each species sampled was then performed in the laboratory to evaluate the efficiency of the new approach proposed.

To our knowledge, *Trichogramma evanescens* Westwood, *Trichogramma minutum* Riley and *Trichogramma sibericum* Sorokina are the only three *Trichogramma* species have been reported parasitizing black-headed fireworm eggs and they were either collected in British Columbia, Canada or in the United-States (Franklin, 1916; Peck, 1951; van Driesche & Brodel, 1987; Li *et al.*, 1993; Henderson *et al.*, 2001).

### 3.4 Material and methods

#### 3.4.1 Data set – Field Survey

The data set from a *Trichogramma* spp. population survey in cranberry bogs was obtained from Labarre (chpt. 2). This sampling was realized in organic commercial cranberry bogs in the region of Centre-du-Québec (46°17'N 72°04'W), in the province of Quebec, Canada in 2016 and 2017. Both years, a single bed within eight and 15 bogs was sampled during the first and second flights of the black-headed fireworm, respectively. Additionally, a sampling in spring of 2017 was conducted to collect parasitoids during the spring emergence of the black-headed fireworm performed (Labarre, chap. 2). Within each bed, sampling devices were disposed at three locations; 1) in the first half of the bed (starting from the north-east end) and 4 m away from the dike, 2) in the second half of the bed and 8 m away from the dike and 3) at 12 m from the end of the bed (Fig. 3.1). Around 1000 fresh (< 24h old) and sterilized *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) sentinel eggs were placed within the vines. Sentinel egg masses were collected and replaced by new ones twice a week. Sentinel eggs were then brought in growth room at 24°C, 70 % R.H., 16L:8D and observed daily to note the characteristic blackening indicating parasitism by *Trichogramma* spp. Specimens emerging from sentinel eggs were then identified by sequencing the Internal Transcribed Spacer 2 (ITS-2) region and comparing sequences to reference specimen following Stouthamer *et al.* (1999). Moreover, at every sampling station, black-headed fireworm populations were monitored weekly using diamond® traps and BHF® synthetic pheromones capsules (Trécé, Inc., Adlair, OK, USA) (Fig. 3.1).



**Figure 3.1** Disposition of black-headed fireworm pheromone traps and *Ephestia kuehniella* sentinel eggs within the experimental cranberry beds Quebec, Canada during 2016 and 2017 growing seasons.

### 3.4.2 Parasitism Level Assessment

All species collected by Labarre (chpt. 2) were considered as potential candidates. Thus, *Trichogramma brassicae* Bezdenko, *T. minutum*, *Trichogramma ostriniae* (Pang and Chen) and *Trichogramma pretiosum* Riley were subjected to this experiment assessing parasitism levels on *R. naevana* eggs. Additionally, the species *T. sibericum* was added to the experiment since it was previously identified by Li *et al.* (1994) and Henderson *et al.* (2001) as the most promising species to control the black-headed fireworm in British Columbia. *Trichogramma brassicae*, *T. minutum*, *T. ostriniae* and *T. pretiosum* strains were those collected in cranberry bogs by Labarre (chpt. 2) while *T. sibericum* strain was obtained from Guy Boivin Lab at the Saint-Jean-sur-Richelieu Research and Development Center, Agriculture and Agri-Food Canada. This strain was originally collected in British Columbia (Li *et al.*, 1993) and is the one used previously by Henderson *et al.* (2001) to assess parasitism level on *R. naevana* eggs.

*Trichogramma* strains were reared on *E. kuehniella* eggs, in glass tubes (10 mm x 100 mm), at 24°C, 70 % R.H. and 16L:8D. First generation black-headed fireworms were collected as adults in an organic cranberry bog at twilight using a sweep net. They were placed in plastic cages (20 cm x 20 cm x 10 cm) containing fresh cranberry stems stuck in wet floral foam and placed in a growth room at 24°C, 70% R.H.,16L:8D to allow females to lay eggs.

For the experiment, 15 cranberry leaves, each presenting one fresh (>24h) egg of *R. naevana* were placed in a 50 mm ventilated Petri dish on a moist grade 1 Whatman© filter paper. A single, 24-h-old mated *Trichogramma* female was then introduced at the centre of the Petri dish and placed in a growth room at 24°C, 70 % R.H. and 16L:8D for 24h before being removed. Fifteen replicates were undergone for each candidate species and 15 replicates without *Trichogramma* were used as control. Petri dishes were disposed in a completely randomized design in the growth room. Parasitism levels were assessed 8 days after the introduction of females *Trichogramma*. The number of parasitized *R. naevana* eggs per Petri dish was noted by counting eggs presenting blackening.

### 3.4.3 Statistical analyses

Statistical analyses were performed using R version 3.5.3 (R Development Core Team, 2019) and results were considered significant at  $P < 0.05$ .

In the first step of our analyses, the general relationship between the occurrence each *Trichogramma* species and the number of black-headed fireworm captured in pheromone traps was assessed. The aim of this analysis is to explore whether, the probability of capturing each parasitoid species significantly increases with the

increase of black-headed captures, and thus an increase of resource availability. To do so, the presence or absence of each parasitoid species was coded by a dummy variable for every *E. kuehniella* egg mass applied and retrieved from the beds. This data frame was merged with the number of male black-headed fireworm captured weekly in the pheromone traps using the function *merge* from the *base* package (R Core Team, 2019). Mixed effect logistic regressions were performed for each species identified, using the function *glmer* from the package *lme4* (Bates *et al.*, 2015). The occurrence of parasitism was used as response variable while the number black-headed fireworms captured in pheromone traps was used as fixed effect predictor and the site and year of study as random effect predictors. *P*-values were generated by loading the *lmerTest* package (Kuznetsova *et al.*, 2017).

Secondly, the spatial distribution of each *Trichogramma* species inventoried as well as the spatial distribution of black-headed fireworm were assessed within the studied beds. The maximum number of captures in pheromone traps was extracted for each sampling station, at each site for both study years using the function *aggregate* from the *stats* package (R Core Team, 2019). Accordingly, the sum of each *Trichogramma* species that emerged from egg masses at each sampling station, at each site for both study years was also extracted using the same function. The objective was to assess spatially parasitoids-pest density dependence relationships by comparing the number of parasitism occurrence by distance regression slope among species. To do so, a mixed effect, no-intercept, zero-inflated negative binomial regression was performed using the *glmm.zinb* function from the *NBZIMM* package (Zhang and Yi, 2020). The number of individuals sampled for each species (parasitoid and pest) was used as independent variable, the species, the distance from the closest dike and the interaction between both factors was used as fixed effect predictors, and the species, the site and the year were used as random effect predictor. Slopes were then compared among species by

generating a contrast matrix of the species-distance interactions and by performing a multiple comparison using the *glht* function from the *multcomp* package (Hothorn *et al.*, 2008). The zero-inflated negative binomial model was preferred to perform this analysis because of an excess of zeros in the response variable probability distribution (Long, 1997). For the parasitoid sampling, the absence of capture does not necessarily indicate the absence of the species, but those two processes (detection limit and absence of the species) cannot be modelled independently and thus justify the model choice (Long, 1997).

Thirdly, the temporal pattern of capture was graphically assessed for the black-headed fireworm and each *Trichogramma* species collected. The average number of captures of black-headed fireworm and the sum of parasitism occurrence of each parasitoid species were calculated by Julian day using the *aggregate* function from the *stats* package (R Core Team, 2019) for the two years. Then, they were vertically plotted along with lines indicating black-headed fireworm flight peaks of captures to allow comparison.

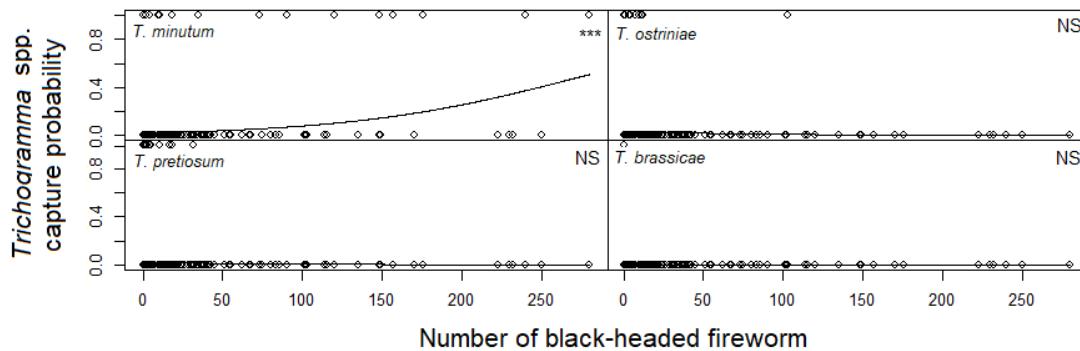
Finally, the number of parasitized eggs by Petri dish was compared among species using a Kruskal-Wallis test followed by a multiple comparison Dunn's test from the *FSA* package (Ogle *et al.*, 2018).

### 3.5 Results

#### 3.5.1 Host-Parasitoid Synchronization

The mixed effect logistic regressions performed to assess the relationship between the parasitism occurrence of each *Trichogramma* species and the number of black-headed

fireworm captures in pheromone traps showed no significant relationship between the fireworm and *T. brassicae* ( $z = -0.002$ ;  $P = 0.999$ ) nor with *T. ostriniae* ( $z = -1.127$ ;  $P = 0.260$ ) and *T. pretiosum* ( $z = -1.028$ ;  $P = 0.304$ ). However, a positive, significant relationship was detected in the captures between the black-headed fireworm and occurrence of parasitism by *T. minutum* ( $z = 5.275$ ;  $P < 0.05$ ), indicating that the probability of capturing this parasitoid species increases with an increase of black-headed fireworm captures in pheromone traps (Fig. 3.2).



**Figure 3.2** Logistic regression representing the probability of parasitism on sentinel eggs by *Trichogramma minutum*, *Trichogramma ostriniae*, *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma brassicae* depending on the number of black-headed fireworm weekly captured in pheromone traps in Quebec, Canada cranberry bogs during the 2016 and 2017 growing seasons. \*\*\* $P < 0.001$

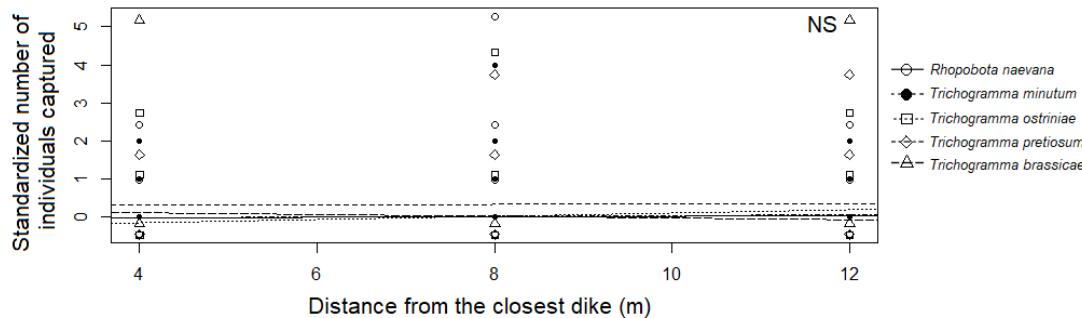
Regarding the spatial distribution analysis, no significant relationship was detected between the number of captures and the distance from the closest dike for either of the pests and parasitoid species (Table 3.1). Accordingly, there was also no difference in slopes for this relationship among species (Table 3.2; Fig. 3.3).

**Table 3.1** Summary of the zero-inflated negative binomial regression performed to assess the relationship between the number of captures or parasitism occurrence of each species studied (*Rhopobota naevana*, *Trichogramma brassicae*, *Trichogramma minutum*, *Trichogramma ostriniae*, *Trichogramma pretiosum*) and the distance from the closest dike.

<b>Species-distance interaction</b>	<b>Value</b>	<b>Std.Error</b>	<b>t-value</b>	<b>P-value</b>
<i>R. naevana</i>	-0.022	0.023	-0.945	0.345
<i>T. brassicae</i>	-0.108	0.192	-0.564	0.573
<i>T. minutum</i>	0.036	0.068	0.536	0.592
<i>T. ostriniae</i>	0.107	0.070	1.529	0.127
<i>T. pretiosum</i>	0.043	0.077	0.558	0.577

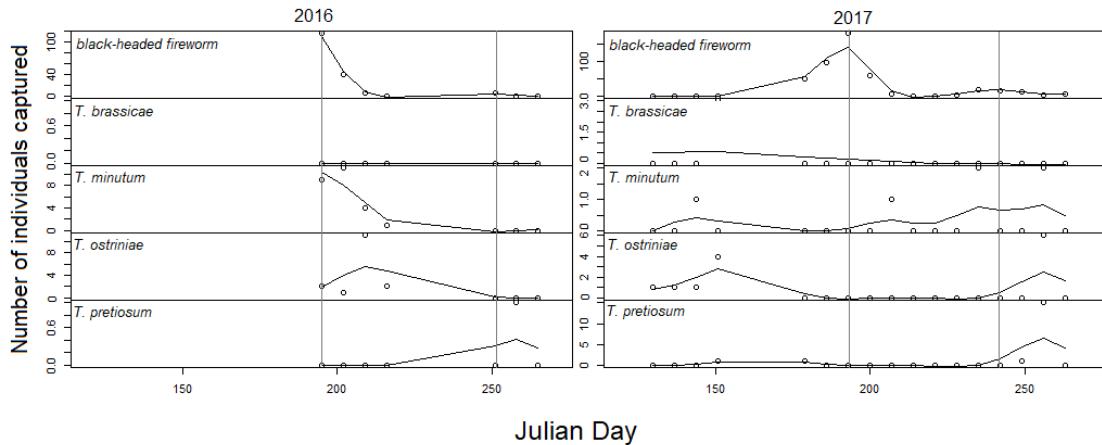
**Table 3.2** Slope differences for the relationship between the number parasitism occurrence and distance from the closest dike among the four species of parasitoid studied (*Trichogramma brassicae*, *Trichogramma minutum*, *Trichogramma ostriniae*, *Trichogramma pretiosum*) and the number of black-headed fireworm captures in pheromone traps.

<b>Contrasts among species-distance interaction</b>	<b>Estimate</b>	<b>Std.Error</b>	<b>z value</b>	<b>P-value</b>
<i>R. naevana</i> vs. <i>T. brassicae</i>	-0.108	0.189	-0.570	0.976
<i>R. naevana</i> vs. <i>T. minutum</i>	0.036	0.067	0.543	0.980
<i>R. naevana</i> vs. <i>T. ostriniae</i>	0.107	0.069	1.548	0.496
<i>R. naevana</i> vs. <i>T. pretiosum</i>	0.043	0.076	0.565	0.977
<i>T. brassicae</i> vs. <i>T. minutum</i>	0.145	0.198	0.729	0.942
<i>T. brassicae</i> vs. <i>T. ostriniae</i>	0.215	0.199	1.082	0.794
<i>T. brassicae</i> vs. <i>T. pretiosum</i>	0.151	0.202	0.750	0.936
<i>T. minutum</i> vs. <i>T. ostriniae</i>	0.071	0.091	0.779	0.927
<i>T. minutum</i> vs. <i>T. pretiosum</i>	0.007	0.096	0.069	1.000
<i>T. ostriniae</i> vs. <i>T. pretiosum</i>	-0.064	0.098	-0.657	0.960



**Figure 3.3** Standardized number of individuals of four parasitoid species (*Trichogramma brassicae*, *Trichogramma minutum*, *Trichogramma ostriniae* and *Trichogramma pretiosum*) that emerged from egg masses and black-headed fireworm captured using pheromone traps depending on the distance from the closest dike in Quebec, Canada cranberry bogs during the 2016 and 2017 growing seasons.

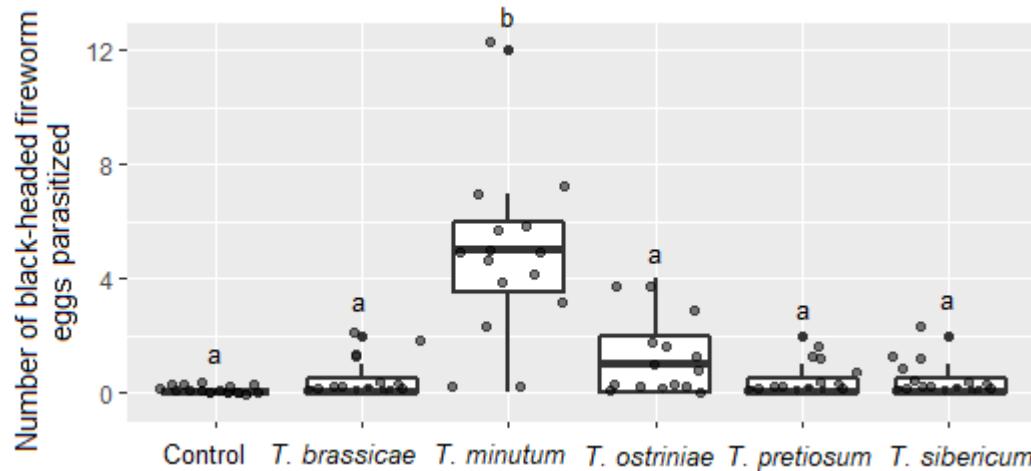
The black-headed fireworm is a bivoltine species (Le Duc and Turcotte, 2004; Sylvia and Averill, 2005; Fitzpatrick *et al.*, 2015) and our results suggest that it reached its first flight peak around the Julian day 193 in 2017 and then its second flight peak at Julian day 251 in 2016 and at Julian day 235 in 2017 (Fig. 3.4). However, our data do not allow an accurate determination of *R. naevana* first flight peak in 2016, since the first week of data represents the higher number of captured moths (Fig. 3.4). To fill this gap, pest monitoring data from the Club environnemental et technique atocas Québec (CETAQ) were consulted to estimate that *R. naevana* 2016 first flight peak occurred around Julian day 195. The species *T. brassicae* was collected by Labarre (chpt. 2), but it was only collected at Julian day 151 in 2017 (Fig. 3.4). *Trichogramma minutum* reached a peak of parasitism occurrence at Julian day 202 but had no other peak that year. The species reach 3 distinct peaks in 2017 at Julian days 144, 207 and 246 (Fig. 3.4). *Trichogramma ostriniae* reached only one peak at Julian day 209 in 2016 while it reached 2 peaks at Julian day 151 and Julian day 256 in 2017 (Fig. 3.4). Finally, *T. pretiosum* reached one peak both years of the study. It occurred at Julian day 258 in 2016 and at Julian day 256 in 2017 (Fig. 3.4).



**Figure 3.4** Number of individuals of black-headed fireworm collected using pheromone traps and *Trichogramma brassicae*, *Trichogramma minutum*, *Trichogramma ostriniae* and *Trichogramma pretiosum* that parasitized sentinel egg masses by Julian day in Quebec, Canada cranberry bogs for the 2016 and 2017 growing seasons. Vertical lines represent black-headed fireworm flight peaks.

### 3.5.2 Parasitism Level Assessment in Petri Dish

The Kruskal-Wallis test followed by Dunn's multiple comparison test revealed many significant differences in the number of *R. naevana* eggs parasitized among the *Trichogramma* species. *Trichogramma minutum* ( $\mu = 4.73$ ;  $\sigma = 2.96$ ) parasitized significantly more eggs than *T. brassicae* ( $\mu = 0.40$ ;  $\sigma = 0.74$ ;  $z = 4.46$ ;  $P < 0.05$ ), *T. ostriniae* ( $\mu = 1.20$ ;  $\sigma = 1.47$ ;  $z = 2.98$ ;  $P < 0.05$ ), *T. pretiosum* ( $\mu = 0.33$ ;  $\sigma = 0.62$ ;  $z = 4.53$ ;  $P < 0.05$ ), *T. sibericum* ( $\mu = 0.33$ ;  $\sigma = 0.62$ ;  $z = 4.53$ ;  $P < 0.05$ ) as well as the control ( $\mu = 0.00$ ;  $\sigma = 0.00$ ;  $z = 5.71$ ;  $P < 0.05$ ). However, no other significant differences were observed in the parasitism level among species (Fig. 3.5).



**Figure 3.5** Number of black-headed fireworm eggs parasitized by *Trichogramma brassicae*, *Trichogramma minutum*, *Trichogramma ostriniae*, *Trichogramma pretiosum*, *Trichogramma sibiricum* and in controls in laboratory conditions. Different letters represent significative differences at  $P < 0.05$ .

### 3.6 Discussion

Even though it is generally recognized that the first step in the elaboration of a biocontrol program is the selection of a suitable natural enemy (Zwölfer *et al.*, 1976; Pak, 1990; Hassan, 1994; Smith, 1996; Hoelmer and Kirk, 2005), targeting candidate species can prove to be the overriding criterion when many candidate species are available. For practical reasons, limitations of time and/or funding as well as the urgency of readily applicable solutions for growers; finding ways to narrow down the list of potential candidates is a matter of concern for biocontrol researchers (Hoelmer and Kirk, 2005; van Lenteren, 2010). The study presented aimed to propose an innovative approach to rapidly target promising natural enemies in order to fast track the selection process. Our approach suggests structuring in a systematic fashion field surveys that are routinely performed when it comes to identifying candidate species

(Hassan, 1994), in order to extract ecological insights that can later be used to narrow down the list of potential species.

Herein, a case study aiming to select a *Trichogramma* species to control the black-headed fireworm in Quebec cranberry bogs is presented. The general relationship of four *Trichogramma* species as well as their spatial and temporal relationship with the targeted host were assessed. To confirm the potential of the approach, parasitism levels were then assessed in the laboratory.

Our results showed a positive, significant relationship between the number of moths captured in pheromone traps and the probability of parasitism by *T. minutum* on sentinel eggs. Among the four species of *Trichogramma* collected by Labarre (chpt. 2), this relationship was only observed for *T. minutum*. The probability of collecting it using sentinel eggs goes from 0 %, when no black-headed fireworm is captured to over 40 % when many moths are captured. This significant increase demonstrates the strong relationship between both species. When looking to the spatial distribution of the studied pest and the sampled parasitoids, no specific trend was observed for neither of the species. It is generally believed that the black-headed fireworm lay more eggs close to the dikes because these artificial structures form a microclimate favouring vegetative growth, and therefore an abundance of fresh young leaves (Le Duc and Turcotte, 2004; Fitzpatrick and al., 2015). According to Cockfield *et al.* (1994), such a diet promotes larval growth and could explain this pattern. One could therefore expect to capture a greater number of black-headed fireworm male adults close from the dikes. However, it was not observed in this study. This can be explained by the fact that the effective range of attraction of pheromone traps for the black-headed fireworm is unknown. Significant variances for this parameter have been reported for other lepidopteran

species, ranging from a few metres to several hundreds of meters (Turchin and Odendaal, 1996; Hicks and Blackshaw, 2008; Sufyan *et al.*, 2011; Östrand and Anderbrant, 2003). Therefore, this result underlines the importance of assessing the effective range of attraction of pheromone traps prior to using it in spatial analysis. This sampling method was selected herein since the use of those traps is quick and easy, which was consistent with our objective of proposing a practical approach, readily accessible with minimal manipulations. Additionally, our choice of sampling technique was motivated by the fact that *R. naevana* is recognized to display limited flight capacity and it is believed that it disperses only few metres in cranberry beds (Eck, 1990). In further study however, it could be interesting to assess spatial distribution at the larval stage instead and using an alternative technique, such as transects using a sweep net, which can also be performed relatively quickly.

While spatial data did not show any specific pattern, temporal data did. As shown in Figure 3.4, the peaks of parasitism occurrence by *T. minutum* are well synchronized with the first peak of flight of the black-headed fireworm in 2016 and both peaks in 2017. This graphical analysis supports and explains the results from the general relationship assessment. Moreover, it is worth noting that peaks are relative to the abundance of each species, but on an absolute scale of collected individuals, *T. minutum* is not only the most synchronized species, it is also the most abundant (Labarre, chpt. 2). *Trichogramma brassicae* was collected only three times during this study and they were all at the same date; it is therefore difficult to draw any conclusions about this species. As for *T. ostriniae*, there is also no recurring pattern that can be drawn. However, it is worth noting that it is an exotic species known to parasitize at least a dozen lepidopteran hosts (Hoffmann *et al.*, 1995). Using exotic biocontrol agent is a controversial subject (De Clercq *et al.*, 2011). We do not believe that an ecological approach, such as the one presented in this study, should be used when dealing with an

exotic species, especially when its establishment has not been confirmed or if it remains unclear for how long it has been established. To our knowledge, this information remains unknown for *T. ostriniae* in Quebec. Nonetheless, it is worth noting that there are large numbers of inundative releases of the species in the region to control *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Crambidae) in sweet corn production (St-Onge, 2016). It can thus be hypothesized that individuals released in corn fields nearby might have migrated in cranberry bogs. It has been reported that *T. ostriniae* can disperse to significant distances from the release point (Wright *et al.*, 2001) and that the wind significantly influences this dispersion capacity (Fournier and Boivin, 2000). Finally, *T. pretiosum* temporal distribution does not match the one of the targeted host species, but still displays a consistent pattern since it has only been parasitizing sentinel eggs around day 255 for both years of study. This period represents the approximate egg laying period of *S. sulfureana* (Deutsch *et al.*, 2015), another major cranberry pest.

Herein, captures of adult male *R. naevana* using pheromone traps were used as surrogate variable for eggs presence. This is based on the fact that the species lay the majority of their eggs 48 hours after mating, and mating usually occurs within 24 hours of adult emergence (Fitzpatrick and Troubridge 1993). Thus, using weekly captures in pheromone traps represents a reliable indicator of egg presence, to the extent that abiotic conditions allowed the females to lay eggs.

Laboratory experiment assessing parasitism levels of *Trichogramma* species confirm insights raised by the spatio-temporal analyses. As a matter of fact, *T. minutum*, whose probability of parasitism in cranberry beds showed a significant relationship with the captures of *R. naevana*, parasitized significantly more eggs of this pest in the laboratory. The consistency between both approaches suggests that spatio-temporal

analysis, such as those performed herein, represents a potential approach for fast-tracking selection process. However, further case studies are needed to confirm trends observed here, as well as the potential of the suggested approach. Additionally, our results suggest that *T. sibericum*, even though it has been identified previously as the most promising species in British Columbia (Li *et al.*, 1994; Henderson *et al.*, 2001), does not appear to constitute a suitable species to control the black-headed fireworm in Quebec. This result is supported by field trials carried out in Quebec in early 2000s showing that *T. sibericum* parasitism rate on *R. naevana* eggs varied from 6 to 27 % in Quebec cranberry bogs (Drolet, 2003). That being said, since *T. sibericum* was not collected in field surveys (Labarre, chpt. 2), no spatio-temporal analysis were performed on the species. Moreover, lab trials were performed using a strain that has been reared on *E. kuehniella* as a factious host for many generations (Danielle Thibodeau, personal communication). It has been shown for many *Trichogramma* species that, when reared on a factious host for multiple generations, the parasitoids' fitness decreases when assessed on the targeted host (Corrigan and Laing, 1994; Bertin *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2020). Therefore, our data might also be insufficient to discard *T. sibericum* completely as a potential suitable biocontrol agent.

To confirm with certainty that *T. minutum* represents the most promising biocontrol agent, it would be preferable to perform field trials in semi-controlled conditions to assess searching behaviour (Hassan, 1989). Nevertheless, the spatio-temporal analysis of field survey data in conjunction with simple laboratory experiment suggests that *T. brassicae* and *T. pretiosum* do not present any potential of control against the black-headed fireworm in Quebec cranberry bogs. As mentioned earlier, it would be audacious to draw any conclusion of the analyses on *T. ostriniae* since it is an exotic species and field trial might be preferable before completely discarding it, even though it did not show significantly higher parasitism level than the controls . Nonetheless,

other than the case of an exotic species, the innovative approach proposed herein allowed to discard half of the collected species from further investigation in field trials, which represents a significant gain in time and resources. Indeed, if we were to follow the previously proposed frameworks (Hassan, 1989; 1994; Hoelmer and Kirk, 2005; van Lenteren, 2010) field trials would have been needed for every sampled species collected by Labarre (chpt. 2). Following the same methodology, our results suggest that it might be worth looking into *T. pretiosum* as a potential biological control agent for *S. sulfureana*.

In conclusion, this study was carried out with the objective of suggesting an additional and complementary technique for discriminating *Trichogramma* species from further investigation in the selection process of a biological control agent. The proposed approach was extrapolated from Godfray's (1994) host-parasitoid synchronism theory and proposes a way to structure parasitoid field surveys to detect spatio-temporal insight and use it as a tool to facilitate selection processes. More specifically, this approach can prove to save time and funds in cases where many candidates are considered. It is believed to be economically advantageous since field surveys are often routinely performed as a first step in the selection process (Hassan, 1994). Spending a bit more time on structuring them in a systematic fashion and sampling targeted pests with simple methods remains a preferable approach than performing expensive and time-consuming field trials on an extended list of potential candidates. That being said, it is important to mention that these results only represent a case study and further trials on this method are needed to confirm its potential. Finally, even though parasitoids were studied herein, no indication suggests that this approach cannot be adopted in biocontrol programs using predators, but further studies are needed to confirm this.

However, limited applications of this method are to be expected with generalist predators since they can exploit multiple resources.

### 3.7 Acknowledgements

This project was conducted under the volet 4 of the Prime-vert 2013-2018, funded by the Quebec Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAPAQ) through the Stratégie phytosanitaire québécoise en agriculture 2011-2021. We would also like to thank the Quebec Cranberry Growers Association (APCQ) and the Club environnemental et technique Atocas Québec (CETAQ), Mylène St-Onge and Silvia Todorova from Anatis Bioprotection, Dr. Richard Stouthammer from the University of California Riverside (UCR) for their collaboration as well as the members of the UQAM bio-control lab. Technical staff included (in last name alphabetical order): Yannick Arel-Rheault, Alex Audet, Anthony Beaudoin, Catherine Dalpé, François Gagné, Karine Gagné, Josée Mailloux, Josée Maltais, Anne-Julie Verrault et Josée Verville.

### 3.8 References

- Bakker, K. (1964). Backgrounds of controversies about population theories and their terminologies. *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, 53(1-4), 187-208.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S., Christensen, R. H. B., Singmann, H., ... & Bolker, M. B. (2015). Package ‘lme4’. *Convergence*, 12(1), 2.
- Beddington, J. R., Free, C. A. & Lawton, J. H. (1978). Characteristics of successful natural enemies in models of biological control of insect pests. *Nature*, 273(5663), 513-519.
- Bertin, A., Pavinato, V. A. C. & Parra, J. R. P. (2017). Fitness-related changes in laboratory populations of the egg parasitoid *Trichogramma galloii* and the implications of rearing on factitious hosts. *BioControl*, 62(4), 435-444.
- Corrigan, J. E. & Laing, J. E. (1994). Effects of the rearing host species and the host species attacked on performance by *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Environmental Entomology*, 23(3), 755-760.
- Cockfield, S. D., Olson Jr, J. B. & Mahr, D. L. (1994). Blackheaded fireworm (Lepidoptera: Tortricidae) larval phenology model based on diet-specific developmental rates. *Environmental entomology*, 23(2), 406-413.
- De Clercq, P., Mason, P. G. & Babendreier, D. (2011). Benefits and risks of exotic biological control agents. *BioControl*, 56(4), 681-698.
- Deutsch, A. E., Rodriguez-Saona, C. R., Zalapa, J. E. & Steffan, S. A. (2015). Temperature-mediated development thresholds of *Sparganothis sulfureana* (Lepidoptera: Tortricidae) in cranberries. *Environmental entomology*, 44(2), 400-405.
- Drolet, I. (2003) Application automnale du parasitoïde *Trichogramma sibiricum* pour lutter contre la tordeuse des canneberges (*Rhopobota naevana* (Hübner)).  
Notre-Dame-de-Lourdes : Club environnemental et technique atocas Québec.
- Eck, P. (1990). The American cranberry. New Brunswick: Rutgers University Press.

- Ehler, L. E. (1976). The relationship between theory and practice in biological control. *Bulletin of the ESA*, 22(3), 319-321.
- Fitzpatrick, S. M. & Troubridge, J. T. (1993). Fecundity, number of diapause eggs, and egg size of successive generations of the blackheaded fireworm (Lepidoptera: Tortricidae) on cranberries. *Environmental entomology*, 22(4), 818-823.
- Fitzpatrick, S.M., Wong, W., Elsby, M. & van Dokkumburg, H. (2015). *Integrated pest management for cranberries in western Canada*. 2nd edition. Abbotsford: BC Cranberry Marketing Commission. Retrieved from <https://www.bccranberries.com/pdfs/ipm-booklet/IPM%20for%20Cranberries%20High%20Res.pdf>
- Fournier, F. & Boivin, G. (2000). Comparative dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to environmental conditions. *Environmental Entomology*, 29(1), 55-63.
- Franklin, H. J. (1916). Report of cranberry substation for 1915. *Massachusetts Agricultural Experimental Station, Amherst Bulletin*, 168(48), 486-487.
- Godfray, H. C. J. (1994). *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology* (Vol. 67). Princeton: Princeton University Press.
- Harris, P. (1973). The selection of effective agents for the biological control of weeds. *The Canadian Entomologist*, 105(12), 1495-1503.
- Hassan, S. A. (1989). Selection of suitable *Trichogramma* strains to control the codling moth *Cydia pomonella* and the two summer fruit tortrix moths *Adoxophyes orana*, *Pandemis heparana* [Lep.: Tortricidae]. *Entomophaga*, 34(1), 19-27.
- Hassan, S. A. (1993). The mass rearing and utilization of *Trichogramma* to control lepidopterous pests: achievements and outlook. *Pesticide Science*, 37(4), 387-391.
- Hassan, S. A. (1994). Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In *Biological control with egg parasitoids*. Wallingford: CABI.

- Henderson D.E., Li S.Y. & Prasad R., 2001. 49 *Rhopobota naevana* (Hübner), blackheaded fireworm (Lepidoptera: Tortricidae). In *Biological Control Programmes in Canada, 1981-2000*. Wallingford: CABI.
- Hicks, H. & Blackshaw, R. P. (2008). Differential responses of three *Agriotes* click beetle species to pheromone traps. *Agricultural and Forest Entomology*, 10(4), 443-448.
- Hoelmer, K. A. & Kirk, A. A. (2005). Selecting arthropod biological control agents against arthropod pests: Can the science be improved to decrease the risk of releasing ineffective agents?. *Biological control*, 34(3), 255-264.
- Hoffmann, M. P., Walker, D. L. & Shelton, A. M. (1995). Biology of *Trichogramma ostriniae* (Hym.: trichogrammatidae) reared on *Ostrinia nubilalis* (Lep.: pyralidae) and survey for additional hosts. *Entomophaga*, 40(3-4), 387-402.
- Hokkanen, H. M. & Sailer, R. I. (1985). Success in classical biological control. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 3(1), 35-72.
- Hothorn, T., Bretz, F. & Westfall, P. (2008). Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal: Journal of Mathematical Methods in Biosciences*, 50(3), 346-363.
- Huffaker, C. B. (2012). *Theory and practice of biological control*. Amsterdam: Elsevier.
- Kiritani, K. & Dempster, J. P. (1973). Quantitative evaluation of natural enemy effectiveness. *Journal Applied Ecology*, 10, 323-330.
- Knutson, A. (1998). The *Trichogramma* manual. Bulletin/Texas Agricultural Extension Service; no. 6071.
- Krebs, C. J. (1972). *The experimental analysis of distribution and abundance*. Ecology. New York: Harper and Row.
- Kuenen, D. J. (1962). General considerations on the significance of predators and parasites in orchards. *Entomophaga*, 7(3), 221-226.
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B. & Christensen, R. H. B. (2017). lmerTest package: tests in linear mixed effects models. *Journal of statistical software*, 82(13).

- Le Duc, I. et Turcotte, C. (2004). *Manuel de lutte intégrée de la canneberge de l'Est canadien*. Notre-Dame-De-Lourdes: Club environnemental et technique atocas Québec.
- Li, S. Y., Henderson, D. E. & Myers, J. H. (1994). Selection of Suitable *Trichogramma* Species for Potential Control of the Blackheaded Fireworm Infesting Cranberries. *Biological Control*, 4(3), 244-248.
- Li, S.Y., Sirois, G.M., Luczynski, A. & Henderson, D.E. (1993). Indigenous *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae) parasitizing eggs of *Rhopobota naevana* (Lep.: Tortricidae) on cranberries in British Columbia. *Entomophaga*, 38, 313–315.
- Long, J. S. (1997). Regression models for categorical and limited dependent variables. *Advanced quantitative techniques in the social sciences*, 7.
- MacArthur, R. H. & Pianka, E. R. (1966). On optimal use of a patchy environment. *The American Naturalist*, 100(916), 603-609.
- Ogle, D. H., Wheeler, P. & Dinno, A. (2018). FSA: fisheries stock analysis. R package version 0.8. 22.
- Östrand, F. & Anderbrant, O. (2003). From where are insects recruited? A new model to interpret catches of attractive traps. *Agricultural and Forest Entomology*, 5(2), 163-171.
- Pak, G. A. (1988). Selection of *Trichogramma* for inundative biological control (Doctoral dissertation). Wageningen University.
- Pak, G. A. (1990). Inundative release of *Trichogramma* for the control of cruciferous Lepidoptera: preintroductory selection of an effective parasitoid. Dans Diamondback moth and other crucifers pests: Proceedings of the second International Workshop, Tainan, Taiwan.
- Panneton, B., Vincent, C. & Fleurat-Lessard, F. (2000). Place de la lutte physique en phytoprotection. Dans C. Vincent, B. Panneton et F. Fleurat-Lessard (dir.), *La lutte physique en phytoprotection* (p.1-25). Institut national de la recherche agronomique.
- Peck, O. (1951). Chalcidoidea. In *Hymenoptera of America north of Mexico. Synoptic catalog* (No. 595.7/K93). US Government Printing Office.

- R Core Team (2019). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Smith, S. M. (1996). Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. *Annual review of entomology*, 41(1), 375-406.
- St-Onge, M. (2016). Optimisation de l'élevage de masse du parasitoïde *Trichogramma ostriniae* (Doctoral dissertation). Université du Québec à Montréal.
- Stouthamer, R., Hu, J., van Kan, F. J., Platner, G. R. & Pinto, J. D. (1999). The utility of internally transcribed spacer 2 DNA sequences of the nuclear ribosomal gene for distinguishing sibling species of *Trichogramma*. *BioControl*, 43(4), 421-440.
- Sufyan, M., Neuhoff, D. & Furlan, L. (2011). Assessment of the range of attraction of pheromone traps to *Agriotes lineatus* and *Agriotes obscurus*. *Agricultural and Forest Entomology*, 13(3), 313-319.
- Sylvia, M. M. & Averill, A. L. (2005). *Cranberry insects of the Northeast*. U. mass. Extension Publication.
- Turchin, P. & Odendaal, F. J. (1996). Measuring the effective sampling area of a pheromone trap for monitoring population density of southern pine beetle (Coleoptera: Scolytidae). *Environmental Entomology*, 25(3), 582-588.
- van Driesche, R. G. & Brodel, W. (1987). Potential for increased use of biological control agents in Massachusetts cranberry bogs (Research Bulletin). *Massachusetts Agricultural Experiment Station, Amherst Bulletin*, (718), 35-44.
- van Lenteren, J.C. (1980). Evaluation of control capabilities of natural enemies: does art have to become science? *Netherlands Journal of Zoology*, 30, 369–381.
- van Lenteren, J. C. (1986). Evaluation, mass production, quality control and release of entomophagous insects. *Biological Plant and Health Protection. Stuttgart, Fischer*, 31-56.

- van Lenteren, J. C. (2010). Ecology: cool science, but does it help?. Wageningen Universiteit.
- Way, M. J. (1973). Population structure in aphid colonies. *Bulletin of the Entomological Society of New Zealand*, 1973(2), 76-84.
- Wright, M. G., Hoffmann, M. P., Chenus, S. A. & Gardner, J. (2001). Dispersal behavior of *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in sweet corn fields: implications for augmentative releases against *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Biological Control*, 22(1), 29-37.
- Xu, W., Wen, X. Y., Hou, Y. Y., Desneux, N., Ali, A. & Zang, L. S. (2020). Suitability of Chinese oak silkworm eggs for the multigenerational rearing of the parasitoid *Trichogramma leucaniae*. *PLoS One*, 15(4), e0231098.
- Zhang, X. & Yi, N. (2020). Fast Zero-Inflated Negative Binomial Mixed Modeling Approach for Analyzing Longitudinal Metagenomics Data. *Bioinformatics*, 36(8), 2345-2351.
- Zwölfer, H., Ghani, M. A. & Rao, V. P. (1976). Foreign exploration and importation of natural enemies. In *Theory and practice of biological control*. New York: Academic Press.



## **CHAPITRE IV**

### **CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES FUTURES**

L'objectif de ce projet était de sélectionner une espèce de trichogrammes pour lutter biologiquement contre la tordeuse des canneberges au Québec. La sélection d'un ennemi naturel approprié représente la première étape dans le développement d'un programme de lutte biologique (Smith, 1996). Cette étape est cruciale puisque la sélection d'un agent approprié est une qualité intrinsèque d'un programme de lutte biologique réussi, efficace et prospère (Zwölfer *et al.*, 1976; Pak, 1990; Hassan, 1994; Smith, 1996; Hoelmer and Kirk, 2005). Afin de dresser une liste d'espèces candidates potentielles, il est fréquent et même recommandé de débuter par un inventaire au sein de l'agroécosystème ciblé (Hassan, 1994). Cette approche permet de limiter les potentiels effets adverses de l'introduction d'une espèce absente de l'écosystème (Louda *et al.*, 2003; van Lenteren *et al.*, 2003; Heimpel *et al.*, 2005). Par ailleurs, on note de nombreux avantages à l'utilisation d'espèces et souches indigènes et naturellement présentes dans le système (Bartlett, 1978; Michaud, 2002). Entre autres, il est possible d'assumer que ces espèces sont nécessairement adaptées aux conditions environnementales locales (Clausen, 1978).

La question première à se poser est : **quelles espèces se retrouvent naturellement dans les cannebergières?** En ce sens, la première étape de l'étude présentée ici fut de réaliser un inventaire au sein de cannebergières au Québec afin de dresser une liste d'espèces candidates potentielles (chap. 2; objectif spécifique 1). Cet inventaire extensif a été réalisé en 2016 et 2017 au sein de 17 cannebergières (13 pendant les deux

années du projet et 4 pour une année seulement) situées dans la principale région productrice de canneberges de la province : le Centre-du-Québec. Cette démarche a permis de révéler la présence de quatre espèces de trichogrammes naturellement présentes au sein de l'agroécosystème ciblé, soit *T. brassicae* Bezdenko, *T. minutum*, *T. ostriniae* et *T. pretiosum* Riley.

De nombreuses espèces de trichogrammes avaient déjà été reportées en cannebergières à divers endroits en Amérique du Nord. *Trichogramma minutum*, *T. sibericum* et *T. evanescens* Westwood avaient déjà été retrouvés parasitant les œufs de la tordeuse des canneberges en Colombie-Britannique, Canada (Li *et al.*, 1993; Henderson *et al.*, 2001). *Trichogramma minutum* a également été reporté parasitant les œufs d'autres ravageurs de la canneberge dont, la tordeuse soufrée *Sparganothis sulfureana* (Clemens) (Lepidoptera : Tortricidae) (Marucci, 1953) et la pyrale des atocas, *Acrobasis vaccinii* Riley (Lepidoptera: Pyralidae) aux États-Unis (Franklin, 1916; Peck, 1951; van Driesche and Brodel, 1987). Également, *T. pretiosum* a aussi été rapporté parasitant des œufs de *A. vaccinii* aux États-Unis (Franklin, 1916; van Driesche and Brodel, 1987; Simser, 1995) et au Québec (Huber, 2014, as cited in Drolet, 2018). Par ailleurs, au Québec, *T. deion* Pinto & Oatman a été retrouvé parasitant les œufs de *A. vaccinii* et *S. sulfureana* (Fournier and Boivin, 1998). Bien que précédemment retrouvée au sein de cannebergières au Québec, cette espèce ne fut pas retrouvée lors de notre inventaire. Or, *T. deion* est reconnue pour être semblable morphologiquement à *T. pretiosum*, une espèce retrouvée dans le cadre de ce projet, et les deux espèces sont même reconnues pour former un complexe d'espèces cryptiques (Pinto *et al.*, 1986; 1993). Il est donc possible que les identifications morphologiques effectuées dans le passé aient été erronées; ce qui souligne l'importance et la pertinence de l'utilisation d'outil d'identification précis tel que des analyses moléculaires.

La seconde question était : **comment s'assurer de l'identification taxonomique des espèces retrouvées?** Tel que mentionné en introduction, ce projet réalisé de concert avec le laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection (LEDP) du Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ) a permis de mettre en application pour la première fois au Québec l'utilisation de l'identification moléculaire pour les trichogrammes. Il s'agit donc d'une retombée importante et parallèle au projet que l'ajout de cette expertise au Québec et la méthode pourra donc être utilisée dans le futur pour d'autres projets portant sur les trichogrammes. Grâce à l'utilisation de technique moléculaire , les identifications taxonomiques sont jugées exactes.

Nos résultats présentent la première mention de présence de *T. brassicae* et *T. ostriniae* à la fois au sein de cannebergières au Québec, mais également en Amérique du Nord. Toutes les espèces échantillonnées sont indigènes de l'Amérique du Nord à l'exception de *T. ostriniae* (Pinto, 1999). Toutefois, cette dernière est déjà utilisée en tant qu'agent de lutte biologique au Québec pour lutter contre la pyrale du maïs, *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Crambidae) (St-Onge, 2016; Charbonneau *et al.*, 2019). Les probabilités que l'introduction de cette espèce ne cause des effets adverses ont été jugées faibles sur les espèces indigènes en raison de faibles taux d'émigration hors des cultures observés (Wright *et al.* , 2005; Yong et Hoffmann, 2006). En ce sens, *T. ostriniae* fut conservée parmi les espèces candidates potentielles. À celle-ci, toutes les autres espèces échantillonnées pendant cette étude, soit *T. brassicae*, *T. minutum* et *T. pretiosum*, furent ajouté à la liste d'espèces candidates. Cette liste de quatre espèces candidates répond donc à la première étape du processus de sélection et à l'objectif général du Chapitre 2.

Alors que les espèces mentionnées en cannebergières dans le passé ont été échantillonnées en récoltant des œufs de ravageurs de la culture, l'inventaire présenté au Chapitre 2 a été réalisé à l'aide d'une hôte factice, soit *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera : Pyralidae). Cette méthode a été préférée puisque la collecte des œufs de la tordeuse des canneberges représente un défi de taille. Les femelles pondent des œufs individuellement, d'une taille de 0,7 cm, au revers des feuilles (Le Duc et Turcotte, 2004; Sylvia et Averill, 2005). Il n'aurait pas été possible de dresser un portrait aussi détaillé de la communauté de trichogrammes présente en cannebergières en procédant uniquement à un échantillonnage des œufs de la tordeuse des canneberges. La définition spatiale et temporelle ainsi acquise a permis de développer, proposer et mettre à l'essai une nouvelle approche de sélection qui est présentée au Chapitre 3.

La troisième question de cette étude était : **quelle espèce de trichogramme sélectionner comme agent de lutte contre la tordeuse des canneberges?** En effet, en utilisant les données de l'inventaire de trichogrammes présenté au Chapitre 2 ainsi qu'un suivi du vol de la tordeuse des canneberges, le Chapitre 3 présente une analyse de concordance spatio-temporelle entre le parasitisme de trichogrammes et de mâles adultes du ravageur ciblé (objectif spécifique 3). Dans le cadre de ce projet, les captures au sein des pièges à phéromone furent utilisées en tant que variable de substitution pour la présence des œufs de ce ravageur. Cet usage s'appuie sur le fait que la tordeuse des canneberges pond la majorité de ses œufs 48h après l'accouplement et celui-ci se produit généralement dans les 24h suivant l'émergence des adultes (Fitzpatrick et Troubridge, 1993). Ainsi l'utilisation du nombre de captures hebdomadaires des adultes permet d'avoir une mesure adéquate de la ponte de ces derniers, dans la mesure où les conditions abiotiques ont permis aux femelles de pondre. L'analyse générale entre les occurrences de parasitisme des parasitoïdes et celles du ravageur ciblé a

montré une relation significative entre la probabilité de parasitisme des œufs sentinelles par *T. minutum* en cannebergières et le nombre d'individus de la tordeuse des canneberges capturées au sein des pièges à phéromone. Cette relation montre que la probabilité de parasiter les œufs sentinelles de *T. minutum* en champs passe de 0 % lorsqu'aucun adulte de la tordeuse des canneberges n'est capturé dans les pièges à phéromone, jusqu'à 40 % lorsqu'un très grand nombre d'individus sont capturés; ce qui représente une augmentation substantielle.

Au niveau des analyses spatiales, aucun patron spécifique n'a été noté, que ce soit pour les différentes espèces de trichogrammes ou pour la tordeuse des canneberges. Dans le cas de *R. naevana*, il fut suggéré un effet de bordure observé où le nombre d'individus augmente en s'approchant des digues (Le Duc and Turcotte, 2004; Fitzpatrick and al., 2015). L'absence de détection de ce patron dans le cadre de cette étude n'indique toutefois pas qu'il n'existe pas. Il serait important d'évaluer la portée d'attraction des pièges à phéromone pour cette espèce, potentiellement opter pour une méthode d'échantillonnage différente telle que le filet fauchoir ou une observation visuelle des œufs et enfin prioriser l'utilisation de transects en tant que stratégie d'échantillonnage. La confirmation de la présence d'un tel patron serait une information pertinente à valider puisqu'il serait possible par la suite de cibler des interventions phytosanitaires, que ce soit par de la lutte biologique, chimique ou physique, pour une zone donnée et ainsi optimiser la lutte contre ce ravageur. Une telle approche ciblée est d'ailleurs en accord avec des principes d'agriculture de précision et raisonnée, des concepts à favoriser pour le développement durable de la culture.

Du côté temporel, tout comme pour la relation générale, *T. minutum* semble avoir une bonne synchronisation temporelle avec la présence en champs des adultes de la tordeuse des canneberges. Ce résultat suggère que l'analyse de concordance spatio-

temporelle entre les différentes espèces de trichogrammes et la présence en champs des adultes de la tordeuse des canneberges indique que l'espèce *T. minutum* exploite probablement les œufs de *R. naevana* en tant que ressource.

La question suivante était logiquement : **cette nouvelle méthode de sélection permet-elle de cibler les espèces présentant le meilleur potentiel de lutte biologique?** Afin de valider le potentiel des analyses spatio-temporelles comme approche de sélection potentielle, toutes les espèces échantillonnées dans le cadre de l'inventaire ont été soumises à des essais de parasitisme en laboratoire (chap. 3; objectif spécifique 4). En plus de ces quatre espèces, l'espèce *T. sibericum* a également été incluse dans ces essais puisqu'elle avait été identifiée comme étant l'espèce présentant le meilleur potentiel de lutte biologique contre la tordeuse des canneberges en Colombie-Britannique (Henderson *et al.*, 2001). Nos résultats indiquent que *T. minutum* parasite un nombre significativement plus élevé d'œufs de *R. naevana* en laboratoire que toutes les autres espèces. Ce résultat est cohérent avec ceux de l'analyse spatio-temporelle dans le cas des quatre espèces échantillonnées dans le cadre de cette étude. Par ailleurs, le faible potentiel de parasitisme de l'espèce *T. sibericum*, bien que relativement performante dans l'Ouest canadien (Henderson *et al.*, 2001), est également cohérent avec des essais en champs utilisant cette espèce, réalisés au Québec au début des années 2000 (Drolet, 2003). Messenger et Van den Bosch (1971) font notamment mention de plusieurs cas où on observe une adaptabilité limitée de souches d'ennemis naturels lorsque ceux-ci se retrouvent hors de leur distribution géographique d'origine; ce qui peut expliquer les faibles performances de *T. sibericum* au Québec. En ce qui concerne les essais en laboratoire, il est également important de noter que la souche de *T. sibericum* utilisée dans le cadre des essais présentés dans le Chapitre 3 a été élevée à l'aide d'œufs d'*E. kuehnialla* pendant de nombreuses générations (Danielle Thibodeau, communication

personnelle). Il a été observé qu'une diminution des taux de parasitisme des trichogrammes peut survenir sur les œufs de l'hôte ciblé lorsque ceux-ci sont élevés à l'aide d'un hôte factice (Corrigan et Laing, 1994; Bertin *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2020); ce qui peut observer la faible performance de celle-ci dans le cadre des essais en laboratoire effectués dans cette étude.

La question suivante qui fait suite à cette étude est bien sûr : **en quoi nos résultats pourront être utiles?** Au niveau appliqué, *T. minutum* semble être une espèce possédant un bon potentiel de lutte biologique. Toutefois, puisque l'efficacité des analyses spatio-temporelle en tant que critère de sélection se doit encore d'être confirmée par d'autres études de cas, il est peut-être prématuré d'abandonner les autres espèces candidates à ce point. La prochaine étape serait donc de valider l'efficacité de ce parasitoïde en situation réelle et de réaliser des lâchers en cannebergières.

Nos résultats suggèrent donc que la nouvelle approche proposée dans le cadre de cette étude, basée sur une concordance spatio-temporelle hôte parasitoïde (Godfray, 1994), représente une approche potentiellement efficace (objectif spécifique 5). La relation significative entre la probabilité de parasitisme de *T. minutum* et le nombre de captures de la tordeuse des canneberges, validée par des taux de parasitisme en laboratoire significativement plus élevés que toutes les espèces candidates confirme la validité de l'approche proposée. Toutefois, il est important de mentionner que cette étude ne représente qu'une seule étude de cas et des essais supplémentaires, idéalement au sein d'autres systèmes et incluant des essais portant sur d'autres types d'ennemis naturels (parasitoïdes larvaires, prédateurs, etc.), sont recommandés afin de confirmer la validité de l'approche. Par ailleurs, l'utilisation de cette approche suggère que *T. pretiosum* pourrait être considérée comme potentielle espèce candidate pour lutter

contre *S. sulfureana* puisqu'elle montre un synchronisme temporel avec la période de ponte de cette espèce (chap. 3; Deutsch *et al.*, 2015).

Finalement, en rétrospective sur les objectifs principaux de l'étude, il est possible de conclure que *T. minutum* représente l'espèce de trichogramme la plus prometteuse pour lutter contre la tordeuse des canneberges au Québec. Également, l'approche proposée utilisant le principe de synchronisation hôte-parasitoïde (Godfray, 1994) semble représenter une approche prometteuse dans l'objectif d'optimiser le processus de sélection d'un agent de lutte. Tel que mentionné précédemment, il est recommandé de réaliser d'autres études de cas afin de confirmer le potentiel et l'étendue des applications possibles (autres types de lutte, autres types d'ennemis naturels) de cette méthode. De la même façon, il est conseillé d'effectuer des essais futurs afin d'évaluer le taux de parasitisme de *T. minutum* en champs avant d'en faire une utilisation à l'échelle commerciale. De plus, des études supplémentaires devraient porter sur le mode d'application des trichogrammes en cannebergières; un sujet qui semble avoir causé des problèmes dans le passé (Drolet, 2003; François Fournier, communications personnelles).

## RÉFÉRENCES

- Adli, M. (2017) La lutte intégrée, une méthode à considérer. *Gestion et technologie agricoles*, 42(5), 21.
- Agriculture and Agri-Food Canada Pest Management Program. (2019). *Crop Profile for Cranberry in Canada, 2016*. Récupéré de [http://www.publications.gc.ca/collections/collection\\_2019/aac-aafc/A118-10-6-2016-eng.pdf](http://www.publications.gc.ca/collections/collection_2019/aac-aafc/A118-10-6-2016-eng.pdf)
- Agriculture et Agroalimentaire Canada. (2011). *Canneberge canadienne*. Récupéré de <https://www.agr.gc.ca/resources/prod/Internet-Internet/MISB-DGSIM/ATS-SEA/PDF/5321-fra.pdf>
- Agriculture et Agroalimentaire Canada. (2013). *Profil de la culture de la Canneberge au Canada*. Programme de réduction des risques liés aux pesticides (PRRP), Centre de la lutte antiparasitaire, Agriculture et Agroalimentaire Canada (AAC), Ottawa, ON. Récupéré de <http://www.agr.gc.ca/fra/?id=1421952620095>
- Altieri, M. et Nicholls, C. (2004). *Biodiversity and pest management in agroecosystems*. Boca Raton: CRC Press.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. et Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, 215(3), 403-410.
- Asselin, R. (2005). *Bref portrait économique de la production de canneberges au Québec*. Direction régionale du Centre-du-Québec, Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec. Récupéré de <https://www.agrireseau.net/petitsfruits/documents/Bref%20portrait%20%C3%A9conomique%20canneberge%20-%20publication%202005.pdf>
- Association des producteurs de canneberges du Québec. (2017). *Profile of the cranberry industry*. Récupéré de <http://www.notrecanneberge.com/Content/Page/Profile>
- Association des producteurs de canneberges du Québec. (2019). *Quebec Cranberry Statistics*. Récupéré de <http://www.notrecanneberge.com/Content/Page/Stats>

- Association des producteurs de canneberges du Québec. (2020). Quebec Cranberry Statistics. Récupéré de <http://www.notrecanneberge.com/Content/Page/Stats>
- Averill, A. L. et Sylvia, M. M. (1998). *Cranberry insects of the Northeast: A guide to identification, biology and management*. East Wareham: University of Massachusetts Cranberry Experiment Station.
- Averill, A. L., Sylvia, M. M., Kusek, C. C. et DeMoranville, C. J. (1997). Flooding in cranberry to minimize insecticide and fungicide inputs. *American journal of alternative agriculture*, 12(2), 50-54.
- Bai, B., Çobanoğlu, S. et Smith, S. M. (1995). Assessment of *Trichogramma* species for biological control of forest lepidopteran defoliators. *Entomologia experimentalis et applicata*, 75(2), 135-143.
- Bakker, K. (1964). Backgrounds of controversies about population theories and their terminologies. *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, 53(1-4), 187-208.
- Barclay, H. J., Otvos, I. S. et Thomson, A. J. (1985). Models of periodic inundation of parasitoids for pest control. *The Canadian Entomologist*, 117(6), 705-716.
- Bartlett, B. R. (1978). *Introduced parasites and predators of arthropod pests and weeds: a world review* (No. 480). Washington, D. C.: US Department of Agriculture.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S., Christensen, R. H. B., Singmann, H., ... et Bolker, M. B. (2015). Package ‘lme4’. *Convergence*, 12(1), 2.
- Beddington, J. R., Free, C. A. et Lawton, J. H. (1978). Characteristics of successful natural enemies in models of biological control of insect pests. *Nature*, 273(5663), 513-519.
- Bertin, A., Pavinato, V. A. C. et Parra, J. R. P. (2017). Fitness-related changes in laboratory populations of the egg parasitoid *Trichogramma galloii* and the implications of rearing on factitious hosts. *BioControl*, 62(4), 435-444.
- Boivin, G. (2001). Parasitoïdes et lutte biologique: paradigme ou panacée?. *VertigO - la revue électronique en sciences de l'environnement*, 2(2).

- Boote, K. J., Jones, J. W., Mishoe, J. W. et Berger, R. D. (1983). Coupling pests to crop growth simulators to predict yield reductions. *Phytopathology*, 73(11), 1581-1587.
- Breakey, E. P. (1960). The blackheaded fireworm of cranberry—a pest of the evergreen huckleberry in western Washington. *Journal of Economic Entomology*, 53(6), 1097-1099.
- Cabrera, P., Cormier, D. et Lucas, E. (2017). Differential sensitivity of an invasive and an indigenous ladybeetle to two reduced-risk insecticides. *Journal of applied entomology*, 141(9), 690-701.
- Caltagirone, L. E. (1981). Landmark examples in classical biological control. *Annual Review of Entomology*, 26(1), 213-232.
- Carli, M. D., Coelho Júnior, A., Milanez, J. M., Nardi, C. et Parra, J. R. P. (2017). Selection of *Trichogramma* species as potential natural enemies for the control of *Opogona sacchari* (Bojer). *Scientia Agricola*, 74(5), 401-404.
- Casas, J., Swarbrick, S. et Murdoch, W. (2004). Parasitoid behavior: predicting Weld from laboratory. *Ecological Entomology*, 29, 657–665.
- Charbonneau, A., Boisclair, J., Boislard, T., Cormier, D., Belzile, L. et Godonou, D. (2019). *Utilisation à grande échelle des trichogrammes contre la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*) dans le maïs sucré frais et de transformation au Québec* (Rapport PV-3.2-2016-001). Récupéré de [https://irda.blob.core.windows.net/media/4840/boisclair-et-al-2019-utilisation\\_a\\_grande\\_echelle\\_des\\_trichogrammes\\_contre\\_la\\_pyrale\\_du\\_maïs\\_dans\\_le\\_maïs\\_sucré\\_frais\\_et\\_de\\_transformation\\_rapport.pdf](https://irda.blob.core.windows.net/media/4840/boisclair-et-al-2019-utilisation_a_grande_echelle_des_trichogrammes_contre_la_pyrale_du_maïs_dans_le_maïs_sucré_frais_et_de_transformation_rapport.pdf)
- Clausen, C. P. (1978). Curculionidae. Dans *Introduced parasites and predators of arthropod pests and weeds: a world review*. Washington, D. C.: US Department of Agriculture Agriculture Handbook.
- Cockfield, S. D. et Mahr, D. L. (1992). Flooding cranberry beds to control blackheaded fireworm (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of economic entomology*, 85(6), 2383-2388.
- Cockfield, S. D., Fitzpatrick, S. M., Giles, K. V. et Mahr, D. L. (1994a). Hatch of blackheaded fireworm (Lepidoptera: Tortricidae) eggs and prediction with temperature-driven models. *Environmental entomology*, 23(1), 101-107.

- Cockfield, S. D., Fitzpatrick, S. M., Patten, K., Henderson, D., Dittl, T., Poole, A., ... et Mahr, D. L. (1994b). Modeling of blackheaded fireworm (Lepidoptera: Tortricidae) oviposition and pheromone-trap catches. *Journal of economic entomology*, 87(3), 787-792.
- Cockfield, S. D., Olson Jr, J. B. et Mahr, D. L. (1994). Blackheaded fireworm (Lepidoptera: Tortricidae) larval phenology model based on diet-specific developmental rates. *Environmental entomology*, 23(2), 406-413.
- Comins, H. N. (1977). The development of insecticide resistance in the presence of migration. *Journal of theoretical biology*, 64(1), 177-197.
- Cormier, D., Pelletier, F., Chouinard, G. et Vanoosthuyse, F. (2019). Host finding and parasitism efficiency of obliquebanded leafroller egg masses by *Trichogramma minutum* after inundative releases in apple orchards. *Acta Horticulturae*, 1261, 243-249.
- Corrigan, J. E. et Laing, J. E. (1994). Effects of the rearing host species and the host species attacked on performance by *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Environmental Entomology*, 23(3), 755-760.
- Cranberry Institute. (2019). 2019 Canadian Pesticide Chart annual report. Carver, MS: John S. Wilson.
- Cranberry Institute. (2019). *About Cranberries, Crop Statistics*. Récupéré de <https://cranberryinstitute.org/about-cranberries/crop-statistics>
- Cranberry Institute. (2020). 2020 Canadian Pesticide Chart annual report. Carver, MS: John S. Wilson.
- De Clercq, P., Mason, P. G. et Babendreier, D. (2011). Benefits and risks of exotic biological control agents. *BioControl*, 56(4), 681-698.
- De Jong, E., Pak, G. A. et van Lenteren, J. C. (1984). Factors determining differential host-egg recognition of two host species by different *Trichogramma* spp. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent*, 49, 815-825.
- De Lange, E. S., Salamanca, J., Polashock, J. et Rodriguez-Saona, C. (2019). Genotypic variation and phenotypic plasticity in gene expression and

- emissions of herbivore-induced volatiles, and their potential tritrophic implications, in cranberries. *Journal of chemical ecology*, 45(3), 298-312.
- DeBach, P. (1974). *Biological control by natural enemies*, 1<sup>st</sup> ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- DeBach, P. et Huffaker, C. B. (1971). Experimental techniques for evaluation of the effectiveness of natural enemies. In *Biological control* (pp. 113-140). Boston: Springer.
- DeBach, P. et Rosen, D. (1991). *Biological control by natural enemies*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Deland, J.-P., Vanoosthuyse, F., Cormier, D. (2014). *Évaluation de différents insecticides biologiques pour lutter contre la tordeuse des canneberges (Rhopobota naevana)* (Rapport 10-INNO1-14). Récupéré de [https://www.agrireseau.net/agriculturebiologique/documents/Rapport%20final%202014%20projet%20Canneberge%20AZA%20et%20BT%2010-INNO1-14\\_DC.pdf](https://www.agrireseau.net/agriculturebiologique/documents/Rapport%20final%202014%20projet%20Canneberge%20AZA%20et%20BT%2010-INNO1-14_DC.pdf)
- Deloite (2016, avril). *Retombées économiques de l'industrie de la canneberge en 2015* [Étude économique]. Récupéré de [file:///C:/Users/Utilisateur/Downloads/2016-04-30-rapport-etude-impact-eco%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Utilisateur/Downloads/2016-04-30-rapport-etude-impact-eco%20(1).pdf)
- Deloitte (2020, décembre). *Estimation des retombées économiques 2019 de l'industrie de la canneberge au Québec* [Étude économique]. Récupéré de [file:///C:/Users/Utilisateur/Downloads/2020-12-01-Etude\\_retombees\\_economiques\\_2020-complet-VF.pdf](file:///C:/Users/Utilisateur/Downloads/2020-12-01-Etude_retombees_economiques_2020-complet-VF.pdf)
- Deutsch, A. E., Rodriguez-Saona, C. R., Zalapa, J. E. et Steffan, S. A. (2015). Temperature-mediated development thresholds of *Sparganothis sulfureana* (Lepidoptera: Tortricidae) in cranberries. *Environmental entomology*, 44(2), 400-405.
- Dijken, M. J. V., Kole, M., Lenteren, J. C. V. et Brand, A. M. (1986). Host-preference studies with *Trichogramma evanescens* Westwood (Hym., Trichogrammatidae) for *Mamestra brassicae*, *Pieris brassicae* and *Pieris rapae*. *Journal of Applied Entomology*, 101(1-5), 64-85.

- Dittl, T. G. (1988). A survey of insects found on cranberry in Wisconsin. (Mémoire de maîtrise). Université du Wisconsin-Madison.
- Drolet, I. (2003). *Application automnale du parasitoïde Trichogramma sibericum pour lutter contre la tordeuse des canneberges (Rhopobota naevana (Hübner))*. Notre-Dame-de-Lourdes : Club environnemental et technique atocas Québec.
- Drolet, I. (2004). *Récolte à la main des larves de la pyrale des atocas (Acrobasis vaccini Riley)*. Notre-Dame-de-Lourdes : Club environnemental et technique atocas Québec.
- Drolet, I. (2018). Biodiversité des ravageurs lépidoptères et de leurs parasitoïdes en cannebergières biologiques et conventionnelles au Centre-du-Québec. (Mémoire de maîtrise). Université Laval. Récupéré de <https://corpus.ulaval.ca/jspui/bitstream/20.500.11794/32533/1/34243.pdf>
- Drolet, I., Guay, J. F., Fournier, V., et Cloutier, C. (2019). Biodiversity of lepidopteran pests and their parasitoids in organic and conventional cranberry crop. *Biological Control*, 129, 24-36.
- Drolet, I., Landry, J.-F. et Moisan-De Serres J. (2018). *Insectes ravageurs de la canneberge au Québec : Guide d'identification* (2nd ed.). Québec : CRAAQ.
- Eck, P. (1990). *The American cranberry*. New Brunswick: Rutgers University Press.
- Ehler, L. E. (1976). The relationship between theory and practice in biological control. *Bulletin of the ESA*, 22(3), 319-321.
- El-Wakeil, N. E. (2007). Evaluation of efficiency of *Trichogramma evanescens* reared on different factitious hosts to control *Helicoverpa armigera*. *Journal of Pest Science*, 80(1), 29.
- Emery, C. (1994) IPM programmes in British Columbia cranberries. *British Columbia Pest Monitor*, 3(2), 1–2.
- Ercan, S. F., Oztemiz, S., Tuncbilek, S. A. et Stouthamer, R. (2011). Sequence analysis of the ribosomal DNA ITS2 region in two *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Archives of Biological Sciences*, 63(4), 949-954.

- Fadamiro, H. Y. et Baker, T. C. (2002). Pheromone puffs suppress mating by *Plodia interpunctella* and *Sitotroga cerealella* in an infested corn store. *Entomologia experimentalis et applicata*, 102(3), 239-251.
- FAO (2004). *The state of food and agriculture: Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Rome, Italy.
- Fernández-Arhex, V. et Corley, J. C. (2003). The functional response of parasitoids and its implications for biological control. *Biocontrol Science and Technology*, 13(4), 403-413.
- Fitzpatrick, S. M. et Troubridge, J. T. (1993). Fecundity, number of diapause eggs, and egg size of successive generations of the blackheaded fireworm (Lepidoptera: Tortricidae) on cranberries. *Environmental entomology*, 22(4), 818-823.
- Fitzpatrick, S. M. (2006). Delayed mating reduces fecundity of blackheaded fireworm, *Rhopobota naevana*, on cranberry. *Entomologia experimentalis et applicata*, 120(3), 245-250.
- Fitzpatrick, S. M. (2009). Insect life histories in fruit, shoot and root environments of cranberry and blueberry. *Acta Horticulturae*, 810(1), 231-249.
- Fitzpatrick, S. M. et Troubridge, J. T. (1993). Fecundity, number of diapause eggs, and egg size of successive generations of the blackheaded fireworm (Lepidoptera: Tortricidae) on cranberries. *Environmental entomology*, 22(4), 818-823.
- Fitzpatrick, S. M., Troubridge, J. T. et Maurice, C. (1994). Parasitoids of blackheaded fireworm (*Rhopobota naevana* Hbn.) larvae on cranberries, and larval escape behaviour. *Journal of the Entomological Society of British Columbia*, 91, 73-74.
- Fitzpatrick, S. M., Troubridge, J. T., Maurice, C. et White, J. (1995). Initial Studies of Mating Disruption of the Black headed Fire worm of Cranberries (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of economic entomology*, 88(4), 1017-1023.

- Fitzpatrick, S.M., Wong, W., Elsby, M. et van Dokkumburg, H. (2015). *Integrated pest management for cranberries in western Canada* (2nd ed.). Abbotsford: BC Cranberry Marketing Commission. Récupéré de <https://www.bccranberries.com/pdfs/ipm-booklet/IPM%20for%20Cranberries%20High%20Res.pdf>
- Flanders, S. E. (1930). Mass Production of Egg Parasites of the Genus *Trichogramma*. *Hilgardia*, 4(16).
- Flanders, S. E. (1937). Habitat selection by *Trichogramma*. *Annals of the Entomological Society of America*, 30(2), 208-210.
- Flanders, S. E. et Quednau, W. (1960). Taxonomy of the genus *Trichogramma* (Hymenoptera, Chalcidoidea, Trichogrammatidae). *Entomophaga*, 5(4), 285-294.
- Flint, M. L. et Van den Bosch, R. (2012). *Introduction to integrated pest management*. Berlin: Springer Science et Business Media.
- Fournier, F. et Boivin, G. (1998). Selection and use of *Trichogramma* spp. for the biological control of *Acrobasis vaccinii* and *Sparganothis sulfureana* in cranberry production. *Cranberry Institute Research Compilation*, 1998, 11: 161-166.
- Fournier, F. et Boivin, G. (2000). Comparative dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to environmental conditions. *Environmental Entomology*, 29(1), 55-63.
- Fournier, M., Bellefeuille, Y. et Lucas, E. (2017). *Développement d'un système de plante-réservoir contre le puceron de la digitale à basse température* (Rapport UQAM-1-13-1652). Récupéré de [https://www.mapaq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/Agroenvironnement/1652\\_Rapport.pdf](https://www.mapaq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/Agroenvironnement/1652_Rapport.pdf)
- Franklin, H. J. (1916). Report of cranberry substation for 1915. *Massachusetts Agricultural Experimental Station, Amherst Bulletin*, 168(48), 486-487.

- Franklin, H. J. (1928). Cranberry insects of Cape Cod. *Massachusetts Agricultural Experimental Station Bulletin*, 239, 1-67.
- Gardner, J., Yong, T. H., Pitcher, S. A. et Hoffmann, M. P. (2013). Overwintering of *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) within target and non-target host eggs. *Biocontrol science and technology*, 23(4), 367-380.
- Gariépy, T. D., Kuhlmann, U., Gillott, C. et Erlandson, M. (2007). Parasitoids, predators and PCR: the use of diagnostic molecular markers in biological control of Arthropods. *Journal of Applied Entomology*, 131(4), 225-240.
- Georghiou, G. P. (1983). Management of resistance in arthropods. Dans *Pest resistance to pesticides* (p. 769-792). Boston: Springer.
- Godfray, H. C. J. (1994). *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology* (Vol. 67). Princeton: Princeton University Press.
- Gordh, G. et Headrick, D. (2011). *A dictionary of entomology* (2e éd.). Wallingford: CABI.
- Greathead, D. J. (1986). Parasitoids in classical biological control. Dans *Insect parasitoids. 13th Symposium of the Royal Entomological Society of London*. London: Academic Press.
- Harris, P. (1973). The selection of effective agents for the biological control of weeds. *The Canadian Entomologist*, 105(12), 1495-1503.
- Hassan, S. A. (1989). Selection of suitable *Trichogramma* strains to control the codling moth *Cydia pomonella* and the two summer fruit tortrix moths *Adoxophyes orana*, *Pandemis heparana* [Lep.: Tortricidae]. *Entomophaga*, 34(1), 19-27.
- Hassan, S. A. (1993). The mass rearing and utilization of *Trichogramma* to control lepidopterous pests: achievements and outlook. *Pesticide Science*, 37(4), 387-391.
- Hassan, S. A. (1994). Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In *Biological control with egg parasitoids*. Wallingford: CABI.

- Hassan, S. A., Kohler, E. et Rost, W. M. (1988). Mass production and utilization of *Trichogramma*: 10. Control of the codling moth *Cydia pomonella* and the summer fruit tortrix moth *Adoxophyes orana* [Lep.: Tortricidae]. *Entomophaga*, 33(4), 413-420.
- Heimpel, G. E., et Mills, N. J. (2017). *Biological control*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Heimpel, G. E., Ragsdale, D. W., Venette, R., Hopper, K. R., O' Neil, R. J., Rutledge, C. E. et Wu, Z. (2004). Prospects for importation biological control of the soybean aphid: anticipating potential costs and benefits. *Annals of the Entomological Society of America*, 97(2), 249-258.
- Henderson D.E., Li S.Y. et Prasad R. (2001). 49 Rhopobota naevana (Hübner), blackheaded fireworm (Lepidoptera: Tortricidae). In *Biological Control Programmes in Canada, 1981-2000*. Wallingford: CABI.
- Hicks, H. et Blackshaw, R. P. (2008). Differential responses of three Agriotes click beetle species to pheromone traps. *Agricultural and Forest Entomology*, 10(4), 443-448.
- Hoelmer, K. A. et Kirk, A. A. (2005). Selecting arthropod biological control agents against arthropod pests: Can the science be improved to decrease the risk of releasing ineffective agents?. *Biological control*, 34(3), 255-264.
- Hoffman, M. P. et Frodsham, A. (1993). *Natural Enemies of Vegetable Insect Pests Comparative Extension*. Ithaca: Cornell University.
- Hoffmann, M. P., Walker, D. L. et Shelton, A. M. (1995). Biology of *Trichogramma ostriniae* (Hym.: trichogrammatidae) reared on *Ostrinia nubilalis* (Lep.: pyralidae) and survey for additional hosts. *Entomophaga*, 40(3-4), 387-402.
- Hokkanen, H. M. et Sailer, R. I. (1985). Success in classical biological control. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 3(1), 35-72.
- Holling, C. S. (1959). Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *The Canadian Entomologist*, 91(7), 385-398.
- Horwith, B. (1985). A role for intercropping in modern agriculture. *BioScience*, 35(5), 286-291.

- Hothorn, T., Bretz, F. et Westfall, P. (2008). Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal: Journal of Mathematical Methods in Biosciences*, 50(3), 346-363.
- Huffaker, C. B. (2012). *Theory and practice of biological control*. Amsterdam: Elsevier.
- Jones, V. P., Wiman, N. G. et Brunner, J. F. (2008). Comparison of delayed female mating on reproductive biology of codling moth and obliquebanded leafroller. *Environmental entomology*, 37(3), 679-685.
- Kiritani, K. et Dempster, J. P. (1973). Quantitative evaluation of natural enemy effectiveness. *Journal Applied Ecology*, 10, 323-330.
- Knutson, A. (1998). The *Trichogramma* manual: a guide to the use of *Trichogramma* for biological control with special reference to augmentative releases for control of bollworm and budworm in cotton. Texas College Station: Agricultural Extension Service, the Texas A&M University System.
- Krebs, C. J. (1972). *The experimental analysis of distribution and abundance. Ecology*. New York: Harper and Row.
- Kuenen, D. J. (1962). General considerations on the significance of predators and parasites in orchards. *Entomophaga*, 7(3), 221-226.
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P. B. et Christensen, R. H. B. (2017). lmerTest package: tests in linear mixed effects models. *Journal of statistical software*, 82(13).
- Labarre, D. et Piché-Luneau, S. (sous presse). *Guide de dépistage des insectes ravageurs de la canneberge*. Québec : Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec.
- Labarre, D., Gervais, F., Deland, J.P., Cormier, D. et Lucas, E. (2019). *Confusion sexuelle multi-espèces pour lutter contre la tordeuse des canneberges et la pyrale des atocas en cannebergières* (Rapport 5788043\_CETAQ). Notre-Dame-de-Lourdes : Club environnemental et technique atocas Québec.
- Labarre, D., Piché-Luneau, S., Gervais, F., Légaré, J. P., Cormier, D. et Lucas, E. (2020). Fruit damages caused by the broad-winged bush katydid, *Scudderia pistillata* (Orthoptera: Tettigoniidae) in commercial cranberry bog. *Journal of Applied Entomology*, 144(9), 830-833.

- Landis, D. A., Wratten, S. D. et Gurr, G. M. (2000). Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual review of entomology*, 45(1), 175-201.
- Landry, J.-F., Turcotte, C. et Roy, M. (2000). *Insectes ravageurs de la canneberge au Québec : guide d'identification*. Notre-Dame-de-Lourdes : Club d'encadrement technique atocas Québec.
- Larsen, C. S. (1995). Biological changes in human populations with agriculture. *Annual Review of Anthropology*, 24(1), 185-213.
- Le Duc, I. et Turcotte, C. (2004). *Manuel de lutte intégrée de la canneberge de l'Est canadien*. Notre-Dame-De-Lourdes: Club environnemental et technique atocas Québec.
- Li, S. Y., Henderson, D. E. et Myers, J. H. (1994). Selection of Suitable *Trichogramma* Species for Potential Control of the Blackheaded Fireworm Infesting Cranberries. *Biological Control*, 4(3), 244-248.
- Li, S.Y., Sirois, G.M., Luczynski, A. et Henderson, D.E. (1993). Indigenous *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae) parasitizing eggs of *Rhopobota naevana* (Lep.: Tortricidae) on cranberries in British Columbia. *Entomophaga*, 38, 313–315.
- Li, Z. et Shen, Z. (2002). Application of rDNA-ITS2 sequences to the molecular identification of *Trichogramma* spp. Kun chong xue bao. *Acta entomologica Sinica*, 45(5), 559-566.
- Li, Z. X., Zheng, L. et Shen, Z. R. (2004). Using internally transcribed spacer 2 sequences to re-examine the taxonomic status of several cryptic species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *European Journal of Entomology*, 101(3), 347-358.
- Liz, Xi. et Rui, S. Z. (2002). Application of rDNA-ITS2 sequences to the molecular identification of *Trichogramma* spp. *Acta Entomologica Sinica*, 5.
- Long, J. S. (1997). Regression models for categorical and limited dependent variables. *Advanced quantitative techniques in the social sciences*, 7.

- Louda, S. M., Pemberton, R. W., Johnson, M. T. et Follett, P. (2003). Nontarget effects—the Achilles' heel of biological control? Retrospective analyses to reduce risk associated with biocontrol introductions. *Annual review of Entomology*, 48(1), 365-396.
- Lundgren, J. G., Heimpel, G. E. et Bomgren, S. A. (2002). Comparison of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) augmentation with organic and synthetic pesticides for control of cruciferous Lepidoptera. *Environmental entomology*, 31(6), 1231-1239.
- MacArthur, R. H. et Pianka, E. R. (1966). On optimal use of a patchy environment. *The American Naturalist*, 100(916), 603-609.
- Mackauer, M. et Sequeira, R. (1993) Patterns of development in insect parasites. In Beckage, N.E., Thompson S.N. et Federici, B.A. (eds.), *Parasites and Pathogens of Insects* (vol. 1, p. 1-20). New York: Academic Press.
- Mansveld, M. E. R. et van Lenteren, J. C. (1984). Large-scale study on the population dynamics of whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) and its parasite *Encarsia formosa* Gahan. Abstract XVIIth Int. Congr. Entomology Hamburg. Hamburg, Allemagne.
- Marie-Victorin, F. (1997). *Flore laurentienne. Troisième édition mise à jour et annotée par L. Brouillet, Hay, S. G., Goulet, I., Blondeau, M., Cayouette, J. et Labrecque J.* Montréal : Les Presses de l'Université de Montréal.
- Marucci, P.E. (1953). The Sparganothis Fruitworm in New Jersey. Proceedings of the 83rd American Cranberry Growers' Association Meeting. Pemberton, New Jersey.
- Maurice, C., Bedard, C., Fitzpatrick, S. M., Troubridge, J. et Henderson, D. (2000). *Integrated Pest Management for Cranberries in Western Canada-A Guide for Identification, Monitoring and Control for Key Pests and Diseases in Cultivated Cranberry Fields in Western Canada* (Rapport technique). Agassiz: Pacific Agri-Food Research Centre.
- McGregor, R., Hueppelsheuser, T., Luczynski, A. et Henderson, D. (1998). Collection and Evaluation of *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) as Biological Controls of the Oblique-Banded Leafroller *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Lepidoptera: Tortricidae) in Raspberries and Blueberries. *Biological Control*, 11(1), 38-42.

- Mertz, B. P., Fleischer, S. J., Calvin, D. D. et Ridgway, R. L. (1995). Field assessment of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Bacillus thuringiensis* for control of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) in sweet corn. *Journal of economic entomology*, 88(6), 1616-1625.
- Messenger, P. S. et Van den Bosch, R. (1971). The adaptability of introduced biological control agents. Dans *Biological control*. Boston Springer.
- Metcalf, R. L. et Luckman, W. H. (1994). *Introducción al manejo integrado de plagas de insectos*. México: Noriega eds.
- Michaud, J. P. (2002). Invasion of the Florida citrus ecosystem by *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) and asymmetric competition with a native species, *Cyclonedaa sanguinea*. *Environmental Entomology*, 31(5), 827-835.
- Miller, J. R. et Gut, L. J. (2015). Mating disruption for the 21st century: matching technology with mechanism. *Environmental entomology*, 44(3), 427-453.
- Ministère de L’Agriculture, des Pêcheries et de l’Alimentation (2012). *Indicateur de la gestion intégrée des ennemis des cultures, Résultats 2012*. Récupéré de <https://www.mapaq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/Agroenvironnement/RapportGIEC-2012.pdf>
- Ministère de l’Agriculture, des Pêcheries et de l’Alimentation (2013). *Portrait agroalimentaire du Centre-du-Québec*. Récupéré de <https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/Regional.pdf>
- Müllner, D. (2013). fastcluster: Fast hierarchical, agglomerative clustering routines for R and Python. *Journal of Statistical Software*, 53(9), 1-18.
- Murdoch, W. W., Chesson, J. et Chesson, P. L. (1985). Biological control in theory and practice. *The American Naturalist*, 125(3), 344-366.
- Nasir, M. F., Hagedorn, G., Büttner, C., Reichmuth, C. et Schöller, M. (2013). Molecular identification of *Trichogramma* species from Pakistan, using ITS-2 region of rDNA. *BioControl*, 58(4), 483-491.

- Oatman, E. R. et Platner, G. R. (1971). Biological control of the tomato fruitworm, cabbage looper, and hornworms on processing tomatoes in southern California, using mass releases of *Trichogramma pretiosum*. *Journal of Economic Entomology*, 64(2), 501-506.
- Oerke, E. C. (2006). Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science*, 144(1), 31-43.
- Ogle, D. H., Wheeler, P. et Dinno, A. (2018). FSA: fisheries stock analysis. R package version 0.8. 22.
- Östrand, F. et Anderbrant, O. (2003). From where are insects recruited? A new model to interpret catches of attractive traps. *Agricultural and Forest Entomology*, 5(2), 163-171.
- Pak, G. A. (1988). Selection of *Trichogramma* for inundative biological control (Thèse de doctorat). Wageningen University.
- Pak, G. A. (1990). Inundative release of *Trichogramma* for the control of cruciferous Lepidoptera: preintroductory selection of an effective parasitoid. Dans *Diamondback moth and other crucifers pests: Proceedings of the second International Workshop*, Tainan, Taiwan.
- Pak, G. A., Buis, H. C. E. M., Heck, I. C. C. et Hermans, M. L. G. (1986). Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: host-age selection. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 40(3), 247-258.
- Panneton, B., Vincent, C. et Fleurat-Lessard, F. (2000). Place de la lutte physique en phytoprotection. Dans C. Vincent, B. Panneton et F. Fleurat-Lessard (dir.), *La lutte physique en phytoprotection* (p.1-25). Paris : Institut national de la recherche agronomique.
- Patten K. et Metzger C. (2009). Cranberry Pest Management with OP Alternative Insecticides. *Acta Horticulturae*, 810, 411–415.
- Pavlik, J. (1993). The size of the female and quality assessment of mass-reared *Trichogramma* spp. *Entomologia experimentalis et applicata*, 66(2), 171-177.
- Peck, O. (1951). Chalcidoidea. In *Hymenoptera of America north of Mexico. Synoptic catalog* (No. 595.7/K93). US Government Printing Office.

Pedigo, L. P. (1996) *Entomology and pest management*. 2nd ed. Upper Saddle River: Prentice Hall.

Pelletier, D., Boivin, G. et Fournier., F. (2001). Utilisation de trichogrammes pour le contrôle biologique de la pyrale des atocas (*Acrobasis vaccinii*) et de la tordeuse soufrée de la canneberge (*Sparganothis sulfureara*). Cahier des résumés des conférences de la 128e réunion annuelle de la Société d'entomologie du Québec. Beloeil, Québec, Canada.

Pichersky, E. et Gershenson, J. (2002). The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current opinion in plant biology*, 5(3), 237-243.

Pimentel, D., Acquay, H., Biltonen, M., Rice, P., Silva, M., Nelson, J., ... et D'amore, M. (1992). Environmental and economic costs of pesticide use. *BioScience*, 42(10), 750-760.

Pimentel, D., McLaughlin, L., Zepp, A., Lakitan, B., Kraus, T., Kleinman, P., ... et Selig, G. (1991). Environmental and economic effects of reducing pesticide use. *BioScience*, 41(6), 402-409.

Pinto, J. D. (1999). Systematics of the North American species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Sistemática de las especies norteamericanas de *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Memoirs of the Entomological Society of Washington*, 22, 1-287.

Pinto, J. D., Koopmanschap, A. B., Platner, G. R. et Stouthamer, R. (2002). The North American *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitizing certain Tortricidae (Lepidoptera) on apple and pear, with ITS2 DNA characterizations and description of a new species. *Biological Control*, 23(2), 134-142.

Pinto, J. D., Oatman, E. R. et Platner, G. R. (1986). *Trichogramma pretiosum* and a new cryptic species occurring sympatrically in Southwestern North America (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 79(6), 1019-1028.

- Pinto, J. D., Platner, G. R. et Sassaman, C. A. (1993). Electrophoretic study of two closely related species of North American *Trichogramma*: *T. pretiosum* and *T. deion* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annals of the entomological Society of America*, 86(6), 702-709.
- Pinto, J. D., Stouthamer, R. et Platner, G. R. (1997). A new cryptic species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) from the Mojave Desert of California as determined by morphological, reproductive and molecular data. In *Proceedings of the entomological society of Washington* 99 (1997). - ISSN 0013-8797, 238 - 247.
- Pinto, J. H. et Stouthamer, R. (1994). Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on *Trichogramma*. Dans *Biological control with egg parasitoids*. Wallingford: CABI.
- Pintureau, B., Petinon, S. et Nardon, C. (1999). Possible function of substances excreted by *Trichogramma* and darkening their hosts. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 124(3), 261-269.
- Plank, H. K. (1922). *The blackhead fireworm of cranberry on the Pacific coast* (Rapport 1032). US Department of Agriculture.
- Poirier, I. (2010). *La canneberge au Québec et au Centre-du-Québec: un modèle de développement durable, à la conquête de nouveaux marchés*. Récupéré de <https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/LaCannebergeauQuebec.pdf>
- Polavarapu, S. et Peng, H. (1998). Evaluation of insecticides against blackheaded fireworm in cranberries, 1997. *Arthropod Management Tests*, 23(1), 53-53.
- Pschorn-Walcher, H. (1977). Biological control of forest insects. *Annual Review of Entomology*, 22(1), 1-22.
- RCore Team (2019). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Risch, S. J., Andow, D. et Altieri, M. A. (1983). Agroecosystem diversity and pest control: data, tentative conclusions, and new research directions. *Environmental entomology*, 12(3), 625-629.

- Rodriguez-Saona, C., Kaplan, I., Braasch, J., Chinnasamy, D. et Williams, L. (2011). Field responses of predaceous arthropods to methyl salicylate: a meta-analysis and case study in cranberries. *Biological control*, 59(2), 294-303.
- Rosen, D. (1986). The role of taxonomy in effective biological control programs. *Agriculture, Ecosystems et Environment*, 15(2-3), 121-129.
- Salamanca, J., Souza, B., Kyryczenko-Roth, V. et Rodriguez-Saona, C. (2019). Methyl Salicylate Increases Attraction and Function of Beneficial Arthropods in Cranberries. *Insects*, 10(12), 423.
- Sandler, H. A. (2010). *Integrated Pest Management. Cranberry Station Best Management Practices Guide - 2010 revision*. Amherst, Massachusetts.
- Savary, S., Teng, P. S., Willocquet, L. et Nutter Jr, F. W. (2006). Quantification and modeling of crop losses: a review of purposes. *Annual Review Phytopathology*, 44, 89-112.
- Scholz, B. C. G. (1990). Pre-release evaluation studies of egg parasitoids for the management of Heliothis in Australian cotton (mémoire de maîtrise). University of Queensland.
- Seaman, A., Hoffmann, M. P., Gardner, J. et Chenus, S. (1996). *Pilot testing of Trichogramma ostriniae releases in fresh market sweet corn for control of European corn borer*. New York : NY IPM Publication.
- Shanks Jr, C. H., Dapsis, L. J. et McDonough, L. M. (1990). Monitoring blackheaded fireworm (Lepidoptera: Tortricidae) populations in cranberry bogs with sex pheromone traps. Dans Bostainian N.J., Wilson L.T. et T. J. Dennehy (eds) *Monitoring and integrated management of arthropod pests of small fruit crops*. Wallingford: CABI.
- Silva, I. M., Honda, J., van Kan, F., Hu, J., Neto, L., Pintureau, B. et Stouthamer, R. (1999). Molecular differentiation of five Trichogramma species occurring in Portugal. *Biological Control*, 16(2), 177-184.
- Simon, S., Rusch, A., Wyss, E. et Sarthou, J. P. (2014). Conservation biocontrol: principles and implementation in organic farming. Dans *Organic Farming, Prototype for Sustainable Agricultures*. Dordrecht: Springer.

- Simser, D. (1995). Parasitism of cranberry fruitworm (*Acrobasis vaccinii*; Lepidoptera: Pyralidae) by endemic or released *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Great Lakes Entomologist*, 27(4), 189-196.
- Singleton, M. et Mahr, D. (2011). *Assesing biological impacts of IPM adoption by the Wisconsin cranberry industry: final report*. Proceedings of the 2011 Wisconsin Cranberry School. Stevens Point, Wisconsin.
- Sithanantham, S., Ballal, C. R., Jalali, S. K. et Bakthavatsalam, N. (2013). *Biological control of insect pests using egg parasitoids*. New Delhi: Springer.
- Smith, J. B. (1903). Insects injurious in cranberry culture (Rapport 178). US Department of Agriculture.
- Smith, S. M. (1996). Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. *Annual review of entomology*, 41(1), 375-406.
- Solomon, M. E. (1949). The natural control of animal populations. *The Journal of Animal Ecology*, 1-35.
- Steffan, S. A., Chasen, E. M., Deutsch, A. E. et Mafra-Neto, A. (2017). Multi-species mating disruption in cranberries (Ericales: Ericaceae): Early evidence using a flowable emulsion. *Journal of Insect Science*, 17(2), 54.
- Steffan, S. A., Singleton, M. E., Sojka, J., Chasen, E. M., Deutsch, A. E., Zalapa, J. E. et Guédot, C. (2017). Flight Synchrony among the Major Moth Pests of Cranberries in the Upper Midwest, USA. *Insects*, 8(1), 26.
- Stinner, R. E. (1977). Efficacy of inundative releases. *Annual Review of Entomology*, 22(1), 515-531.
- St-Onge, M. (2016). Optimisation de l'élevage de masse du parasitoïde *Trichogramma ostriniae* (Thèse de doctorat). Université du Québec à Montréal.
- Stouthamer, R., Hu, J., van Kan, F. J., Platner, G. R. et Pinto, J. D. (1999). The utility of internally transcribed spacer 2 DNA sequences of the nuclear ribosomal gene for distinguishing sibling species of *Trichogramma*. *BioControl*, 43(4), 421-440.

- Sufyan, M., Neuhoff, D. et Furlan, L. (2011). Assessment of the range of attraction of pheromone traps to *Agriotes lineatus* and *Agriotes obscurus*. *Agricultural and Forest Entomology*, 13(3), 313-319.
- Sylvia, M. M. et Averill, A. L. (2005). *Cranberry insects of the Northeast*. U. mass. Extension Publication.
- Taylor, T. A. et Stern, V. M. (1971). Host-preference studies with the egg parasite *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 64(6), 1381-1390.
- Thacker, J. R. (2002). *An introduction to arthropod pest control*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Thibodeau, C. (2017, 14 mars). *La récolte de canneberges en hausse. La Nouvelle Union*. Récupéré de <https://www.lanouvelle.net/2017/03/14/la-recolte-de-canneberges-en-hausse/>
- Thomas, C. (2003). Portrait environnemental de la production de canneberge au Québec (Mémoire de stage). Récupéré de <https://www.agrireseau.net/petitsfruits/documents/Portrait%20canneberge.pdf>
- Trépanier, K. (2015). Analyse environnementale et socio-économique de la production de canneberges au Québec en fonction des principes de développement durable (Essai de maîtrise). Université de Sherbrooke.
- Turchin, P. et Odendaal, F. J. (1996). Measuring the effective sampling area of a pheromone trap for monitoring population density of southern pine beetle (Coleoptera: Scolytidae). *Environmental Entomology*, 25(3), 582-588.
- van Driesche, R. G. et Brodel, W. (1987). Potential for increased use of biological control agents in Massachusetts cranberry bogs (Research Bulletin). *Massachusetts Agricultural Experiment Station*, (718), 35-44.
- van Driesche, R. G. et Brodel, W. (1987). Potential for increased use of biological control agents in Massachusetts cranberry bogs. *Research Bulletin, Massachusetts Agricultural Experiment Station*, (718), 35-44.

- van Driesche, R. G. et Brodel, W. (1987). Potential for increased use of biological control agents in Massachusetts cranberry bogs. *Research Bulletin, Massachusetts Agricultural Experiment Station*, (718), 35-44.
- van Hezewijk, B. H., Bourchier, R. S. et Smith, S. M. (2000). Searching speed of *Trichogramma minutum* and its potential as a measure of parasitoid quality. *Biological Control*, 17(2), 139-146.
- van Lenteren, J. C. (1980). Evaluation of control capabilities of natural enemies: does art have to become science?. *Netherlands Journal of Zoology*, 30, 369-381.
- van Lenteren, J. C. (1986). Evaluation, mass production, quality control and release of entomophagous insects. *Biological Plant and Health Protection. Stuttgart, Fischer*, 31-56.
- van Lenteren, J. C. (2003). *Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures*. Wallingford: CABI.
- van Lenteren, J. C. (2008). Current situation of biological control (including region/country reviews). Dans *IOBC Internet Book of Biological Control*. Wageningen: IOBC.
- van Lenteren, J. C. (2010). *Ecology: cool science, but does it help?*. Wageningen: Wageningen Universiteit.
- van Lenteren, J. C., Babendreier, D., Bigler, F., Burgio, G., Hokkanen, H. M. T., Kuske, S., ... et Tommasini, M. G. (2003). Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control. *BioControl*, 48(1), 3-38.
- van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W. J. et Urbaneja, A. (2018). Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*, 63(1), 39-59.
- van Lenteren, J. C., Glas, P. C. G. et Smits, P. H. (1982). Evaluation of control capabilities of *Trichogramma* and results of laboratory and field research on *Trichogramma* in the Netherlands. Dans *Les trichogrammes. Ier Symposium International, Antibes*. Paris : Institut National de la Recherche Agronomique.

- van Lenteren, J. C., Ramakers, P. M. J. et Woets, J. (1980). World situation of biological control in greenhouses, with special attention to factors limiting application. *Mededelingen-Universiteit Gent, Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen*, 45(3), 537-544.
- van Lenteren, J.C. (1980). Evaluation of control capabilities of natural enemies: does art have to become science? *Netherlands Journal of Zoology*, 30, 369–381.
- van Zoeren, J., Guédot, C., et Steffan, S. A. (2018). Conserving carnivorous arthropods: an example from early-season cranberry (Ericaceae) flooding. *The Canadian Entomologist*, 150(2), 265-273.
- Vanlerberghe-Masutti, F. (1994). Molecular identification and phylogeny of parasitic wasp species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) by mitochondrial DNA RFLP and RAPD markers. *Insect Molecular Biology*, 3(4), 229-237.
- Vinson, S. B. (1998). The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. *Biological control*, 11(2), 79-96.
- Waage, J. K. et Hassell, M. P. (1982). Parasitoids as biological control agents—a fundamental approach. *Parasitology*, 84(4), 241-268.
- Way, M. J. (1973). Population structure in aphid colonies. *Bulletin of the Entomological Society of New Zealand*, 1973(2), 76-84.
- Winston, M. L. (1999). *Nature wars: People vs. pests*. Cambridge: Harvard University Press.
- Wright, M. G., Hoffmann, M. P., Chenus, S. A. et Gardner, J. (2001). Dispersal behavior of *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in sweet corn fields: implications for augmentative releases against *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Biological Control*, 22(1), 29-37.
- Wright, M. G., Hoffmann, M. P., Kuhar, T. P., Gardner, J. et Pitcher, S. A. (2005). Evaluating risks of biological control introductions: a probabilistic risk-assessment approach. *Biological Control*, 35(3), 338-347.

- Xu, W., Wen, X. Y., Hou, Y. Y., Desneux, N., Ali, A. et Zang, L. S. (2020). Suitability of Chinese oak silkworm eggs for the multigenerational rearing of the parasitoid *Trichogramma leucaniae*. *PLoS One*, 15(4), e0231098.
- Yong, T. H. et Hoffmann, M. P. (2006). Habitat selection by the introduced biological control agent *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and implications for nontarget effects. *Environmental entomology*, 35(3), 725-732.
- Yong, T. H., Pitcher, S., Gardner, J. et Hoffmann, M. P. (2007). Odor specificity testing in the assessment of efficacy and non-target risk for *Trichogramma ostriniae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biocontrol Science and Technology*, 17(2), 135-153.
- Zhang, X. et Yi, N. (2020). Fast Zero-Inflated Negative Binomial Mixed Modeling Approach for Analyzing Longitudinal Metagenomics Data. *Bioinformatics*, 36(8), 2345-2351.
- Zwölfer, H., Ghani, M. A. et Rao, V. P. (1976). Foreign exploration and importation of natural enemies. Dans *Theory and practice of biological control* (pp. 189-207). New York: Academic Press.

