

**STRATÉGIE DE LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LA TORDEUSE À BANDES OBLIQUES EN VERGER
SOUS CONFUSION SEXUELLE CONTRE LE CARPOCAPSE DE LA POMME**

18-044-IRDA

DURÉE DU PROJET : FÉVRIER 2019 / JANVIER 2022

RAPPORT FINAL

Réalisé par :

Daniel Cormier, *Ph.D.*, IRDA
Franz Vanoosthuyse, *M.Sc.*, IRDA
Audrey Charbonneau, *B. Env.*

Révisé par :

Mylène St-Onge, *Ph.D.* Anatis Bioprotection Inc.

1^{er} février 2022

Les résultats, opinions et recommandations exprimés dans ce rapport émanent de l'auteur ou des auteurs et n'engagent aucunement le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation.

**STRATÉGIE DE LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LA TORDEUSE À BANDES OBLIQUES EN VERGER
SOUS CONFUSION SEXUELLE CONTRE LE CARPOCAPSE DE LA POMME**

18-044-IRDA

RÉSUMÉ DU PROJET

Ce projet visait à élaborer une stratégie de lutte biologique contre la tordeuse à bandes obliques dans un contexte où la lutte par confusion sexuelle contre le carpocapse de la pomme est utilisée dans les vergers de pommiers. Trois stratégies à risques réduits ont été élaborées en pulvérisant deux agents de lutte biologique, le *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* et les trichogrammes sur des pommiers de vergers commerciaux. La pulvérisation des trichogrammes étant peu connue, des essais préliminaires ont permis de mettre en évidence que ces parasitoïdes peuvent être lâchés par pulvérisation. Un pulvérisateur dorsal à jet porté a été utilisé pour les essais avec les trichogrammes. Les nymphes de *Trichogramma minutum* (œufs d'*Ephestia kuehniella* parasités par *T. minutum*) peuvent séjourner durant au moins 180 minutes (3 heures) dans une solution aqueuse sans que l'émergence des adultes soit affectée. À la suite de la pulvérisation, les taux d'émergence indiquaient que le passage des nymphes de trichogrammes à travers le mécanisme du pulvérisateur n'a pas affecté leur viabilité. Une fois pulvérisés sur les pommiers, environ 99% des œufs récupérés ont été observés sur le feuillage alors que 1% ont été retrouvés au sol, sous les pommiers. À la suite de ces résultats, on peut conclure que la méthode d'application des *T. minutum* a été développée avec succès en utilisant un pulvérisateur dorsal à jet porté. La prochaine étape consistait à comparer trois stratégies de lutte contre la tordeuse à bandes obliques combinant des méthodes culturales, un insecticide à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* et des lâchers inondatifs de *T. minutum* dans des vergers commerciaux sous confusion sexuelle contre le carpocapse de la pomme. Aucune des trois stratégies proposées n'a permis de réduire les dommages en mi-saison sur les pousses végétatives ou sur les pommes et les dommages à la récolte sur les pommes. Plusieurs hypothèses ont été soulevées pour expliquer ces résultats dont : 1) le faible niveau des populations de tordeuses à bandes obliques dans les vergers testés; 2) la possibilité qu'une espèce différente de *T. minutum* ait été pulvérisée occasionnant un taux de parasitisme des œufs de tordeuses à bandes obliques souvent sous les 50%; 3) un faible taux d'émergence des parasitoïdes pulvérisés dans les vergers. Ce dernier point n'a pas été vérifié au cours du projet. Néanmoins, dans l'optique de réduire l'impact négatif des traitements antiparasitaires en pomiculture, les méthodes de lutte proposées ont peu d'impact sur l'environnement et la santé comparativement à l'utilisation des insecticides couramment utilisés pour lutter contre la tordeuse à bandes obliques. Ces méthodes de lutte à risques réduits, méritent d'être étudiés davantage, car elles peuvent être applicables autant dans les vergers en production fruitière intégrée que ceux en régie biologique.

OBJECTIFS ET APERÇU DE LA MÉTHODOLOGIE

L'objectif général du projet est d'élaborer une stratégie de lutte biologique contre la tordeuse à bandes obliques (TBO) dans un contexte où la confusion sexuelle contre le carpocapse de la pomme est utilisée dans le verger.

Les objectifs spécifiques sont:

1. D'ajuster la méthode d'application du parasitoïde oophage, *Trichogramma minutum*, dans un contexte de lâchers inondatifs pour lutter contre la tordeuse à bandes obliques.
2. Comparer trois stratégies de lutte contre la tordeuse à bandes obliques combinant des méthodes culturales, un insecticide à base de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (*Btk*) et des lâchers inondatifs de *T. minutum* dans des vergers commerciaux sous confusion sexuelle contre le carpocapse de la pomme.

Étape 1 : Ajustement de la méthode d'application des trichogrammes.

La méthode d'application de trichogrammes que nous avons retenue consiste à mettre des nymphes de *T. minutum* dans une solution aqueuse avant de les pulvériser sur les pommiers. Cette étape vise à évaluer la viabilité des nymphes présentes dans la solution aqueuse en estimant le taux d'émergence des adultes trichogramme. Les nymphes de *T. minutum* (œufs d'*Ephestia kuehniella* parasités par *T. minutum*) ont été fournies par Anatis Bioprotection inc. (Saint-Jacques-le-Mineur, Québec, Canada.) Afin de disperser uniformément les nymphes de *T. minutum*, nous avons utilisé une solution aqueuse telle que décrite par Kienzle et coll. (2012) comme agent dispersant et collant ainsi qu'un pulvérisateur dorsal à jet porté STIHL® SR450 avec une seule buse et une soufflerie. La viabilité des *T. minutum* dans la solution aqueuse a été évaluée en laboratoire selon le protocole de Gauthier et Khelifi (2016). De plus le taux de récupération des œufs parasités à la sortie de la buse en début et en fin de cuve (nombre d'œufs parasités / volume de bouillie récupéré après pulvérisation) / (nombre d'œufs parasités/volume de bouillie au départ), le taux d'émergence des adultes *T. minutum* après pulvérisation (survie dans le pulvérisateur) ainsi que le taux d'adhésion des œufs parasités aux pommiers (nombre d'œufs retrouvés sur feuilles/ nombre d'œufs retrouvés sur feuilles et au sol) ont été évalués au laboratoire et en verger. Les taux d'émergence de *T. minutum* ont été comparés entre les traitements à l'aide d'une ANOVA à un critère de classification, suivi du test de comparaisons DSH de Tukey (Sall et coll. 2005). Les données présentées représentent la moyenne \pm l'écart-type, à moins d'indications contraires.

Étape 2 : Évaluation de la densité de population de TBO dans des vergers de pommiers

Afin de réaliser nos pulvérisations dans des vergers qui abritent de fortes populations de TBO, nous avons évalué la densité de population de TBO dans sept vergers des Laurentides qui utilisaient la confusion sexuelle contre le carpocapse de la pomme. Les autres critères de sélection des vergers comprenaient la superficie (0,4 ha) et la variété de pommes Cortland. Au courant de l'été 2019, les populations d'adultes de TBO ont été suivies à l'aide de pièges à phéromone (Distributions Solida inc., Saint-Ferréol-les-Neiges, Québec, Canada) et les populations larvaires ont été évaluées à la mi-saison selon la méthode préconisée par les membres du RAP-pommier

(<https://reseaupommier.irda.qc.ca/?p=6371> .) Le nombre et la nature des traitements insecticides effectués entre 2016 et 2019 visant la TBO et le carpocapse de la pomme ont également été récoltés.

Étape 3 : Comparaison des stratégies de lutte contre la tordeuse à bandes obliques

Quatre stratégies de lutte à la TBO ont été évaluées dans parcelles de 0,1 ha de quatre vergers commerciaux:

Stratégie 1 : méthodes culturales;

Stratégie 2 : méthodes culturales + *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*;

Stratégie 3 : méthodes culturales + *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* + pulvérisation des trichogrammes;

Stratégie 4 : (Témoin) aucune technique de prévention ou répression de la TBO n'a été utilisée dans cette stratégie.

Détails de chaque intervention :

- Méthodes culturales : L'éclaircissage manuel et la taille d'été des gourmands étaient effectués par le producteur, respectivement avant la mi-juillet et la fin juillet.
- *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* : Le Bioprotec PLUS™ (1,8-2,5L/ha) a été appliqué à deux reprises soit au stade de la floraison et environ 7 jours plus tard au stade calice à nouaison;
- Trichogrammes : Les trichogrammes ont été pulvérisés deux fois à un intervalle de 7 à 10 jours (selon la température et les précipitations), en utilisant la méthode d'application développée à l'étape 1, à une dose de 1,2 million/ha. La première application a été effectuée selon la prédiction du pic de ponte établie par le modèle phénologique de la TBO du logiciel CIPRA.

Les données qui ont été récoltées au cours des étés 2020 et 2021 consistaient au :

- Suivi des adultes : les captures mâles dans les pièges Multi-Pher I (Solida, Qc) appâtés de la phéromone (Scentry®, Solida, Qc);
- Suivi des dommages : Le nombre d'unités endommagées par la TBO sur 100 pousses en croissance et 100 bouquets de fruits observés en mi-saison et uniquement sur 100 bouquets de fruits observés à la récolte.
- Suivi du parasitisme : À la suite de chaque application de trichogrammes, six masses sentinelles composées d'œufs fraîchement pondus (<24h) par la TBO par parcelle ont été brochées sur la face supérieure des feuilles de pommiers à raison d'une masse aux deux arbres au centre de chaque parcelle et au même niveau que l'application des trichogrammes (hauteur d'environ 1,3 m du sol). Ces masses sentinelles ont séjourné quatre jours dans le verger, puis retirées et apportées au laboratoire pour une mise en incubation (20 ± 1°C; 70 % HR; 16 L: 8 O). Le nombre de masses d'œufs sentinelles parasitées a été comptabilisé pour chaque parcelle. La proportion de masses parasitées a permis de calculer l'incidence de parasitisme des masses d'œufs de TBO. Les incidences de parasitisme ont été comparées entre les stratégies à l'aide d'une ANOVA à deux critères de classification et, au besoin, suivi d'un test de comparaison DSH de Tukey (Sall et coll. 2005).

RÉSULTATS SIGNIFICATIFS OBTENUS

Étape 1 : Ajustement de la méthode d'application des trichogrammes.

Viabilité des trichogrammes dans la solution aqueuse

Le taux d'émergence des adultes *T. minutum* après 60 min d'immersion était significativement plus élevé que celui du témoin ($F_{4,10}=4,1201$; $p=0,0316$) (Figure 1). Aucune différence significative n'a été relevée entre le témoin et les temps d'immersion de 15, 120 et 180 min ainsi qu'entre les différents temps d'immersion.

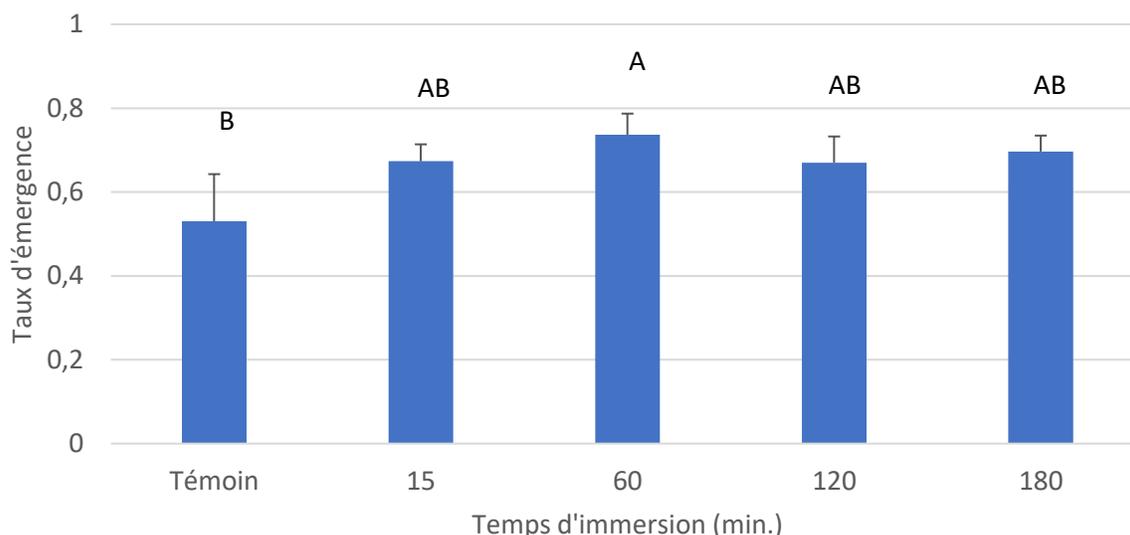


Figure 1. Moyenne (\pm écart-type) des taux d'émergence des adultes trichogrammes en fonction du temps d'immersion des œufs parasités dans la solution aqueuse (ANOVA, test DSH de Tukey $\alpha = 0,05$).

Le faible taux d'émergence des trichogrammes observé dans les traitements témoin du test de viabilité en solution aqueuse peut s'expliquer par la présence de moisissures observées dans les trois répétitions de ces traitements. Malgré la moisissure due à un haut taux d'humidité dans le traitement témoin, le taux d'émergence des adultes trichogrammes ne semble pas être affecté par des temps de suspension de 15 à 180 minutes dans une solution aqueuse puisque des taux d'émergence allant de 68% à 99% sont généralement observés dans des études similaires (Gardner et Giles, 1996; Kienzle et al., 2012; Gauthier et Khelifi, 2016).

Viabilité des trichogrammes dans le pulvérisateur

Quel que soit le traitement, aucune différence significative n'a été relevée pour le taux d'émergence des *T. minutum* après pulvérisation ($F_{2,6}=4,6923$; $p=0,0593$) (Figure 2). Le passage des nymphes de trichogrammes à travers le pulvérisateur dorsal à jet porté n'a pas affecté leur viabilité.

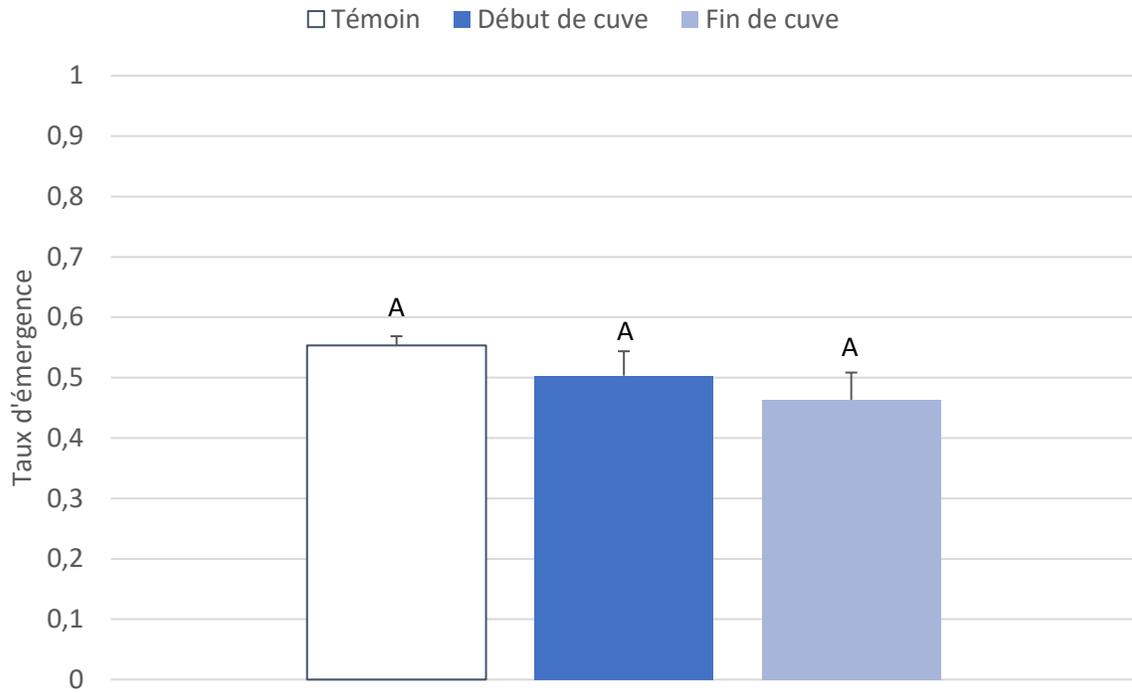


Figure 2. Moyenne (\pm écart-type) des taux d'émergence des adultes trichogrammes en fonction du niveau de la cuve au moment de la pulvérisation (ANOVA, test DSH de Tukey, $\alpha = 0,05$).

Récupération des œufs parasités à la sortie de la buse

Lors de la pulvérisation, nous voulions connaître si la quantité d'œufs pulvérisée variait entre le début de la pulvérisation (début de cuve) et la fin de la pulvérisation (fin de cuve). Le taux de récupération des œufs parasités a été significativement plus élevé en fin de cuve ($0,99 \pm 0,03$) qu'en début de cuve ($0,76 \pm 0,02$) ($t_4 = -10,59$; $p = 0,0016$) (Figure 3). Une solution plus visqueuse pourrait rendre le mélange d'œufs et la récupération plus homogène.

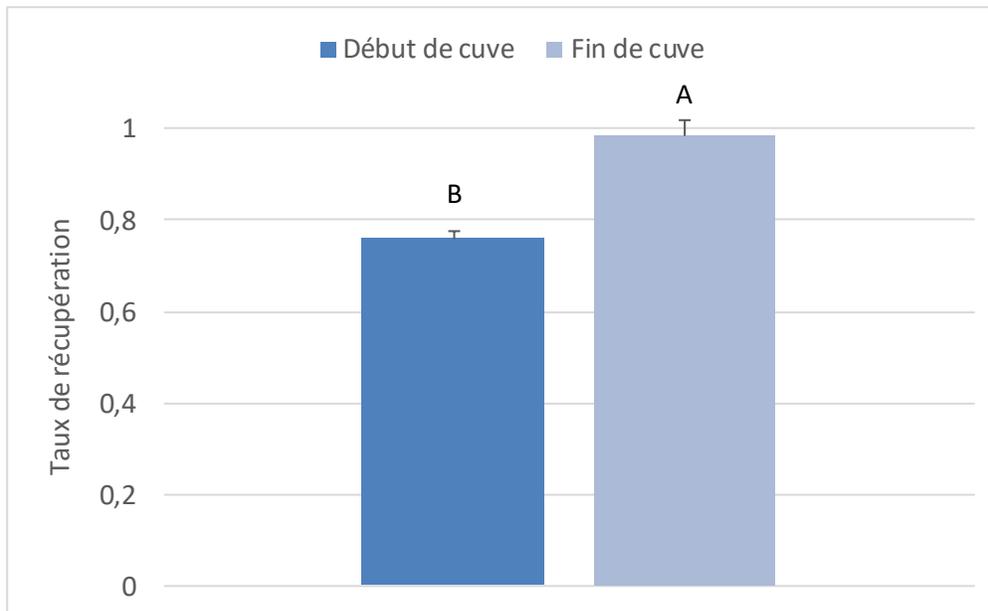


Figure 3. Moyenne (\pm écart-type) du taux de récupération des œufs parasités en fonction du niveau de la cuve au moment de la pulvérisation. (Test de Student; $\alpha = 0,05$.)

Adhésion des œufs parasités aux pommiers

À la suite d'une pulvérisation de trichogrammes, le taux d'adhésion des œufs parasités aux pommiers (nombre d'œufs retrouvés sur feuilles / nombre d'œufs retrouvés sur feuilles et au sol) était de $0,99 \pm 0,01$, indiquant que presque la totalité des œufs pulvérisés ont été retrouvés sur le feuillage. En effet, lors de nos observations, une moyenne de $123,03 \pm 54,88$ œufs par mètre carré de surface foliaire ont adhéré au feuillage et une moyenne de $1,23 \pm 0,53$ œufs par mètre carré, ont été retrouvés au sol sous les pommiers. C'est donc presque 100% des œufs pulvérisés qui se sont retrouvés sur le feuillage.

Étape 2 : Évaluation de la densité de population de TBO dans des vergers de pommiers.

À la suite de l'analyse des données de captures d'adultes, de populations larvaires et de traitements insecticides effectués, quatre vergers ont été sélectionnés dans les Laurentides pour réaliser la troisième étape du projet (2020 et 2021). Les pomiculteurs de deux des quatre vergers sélectionnés ont annulé leur participation au projet au cours du printemps 2020 et deux nouveaux vergers ont été recrutés en Montérégie. Dans les vergers 3 et 4, les pommiers étaient relativement jeunes (2014-2016) et nains (porte-greffe cepiland). Dans les vergers 8 et 9, les pommiers étaient plus vieux (plantation dans les années 1970), de gabarit semi-nain dans le verger 8 (porte-greffe M11) et standard dans le verger 9 (Tableau 1).

Tableau 1. Caractéristiques des vergers choisis en 2020. Les vergers surlignés en bleu sont ceux issus de la sélection effectuée en 2019.

Entreprise	Ville	Variété	Année de plantation	Porte-greffe
Verger 3	Saint-Joseph-du-Lac	Cortland	2016	Cepiland
Verger 4	Saint-Joseph-du-Lac	Cortland	2014	Cepiland
Verger 8	Franklin	Cortland	Années 1970	M11
Verger 9	Rougemont	Cortland	1979 ou + vieux	Standard

Étape 3 : Comparaison des stratégies de lutte contre la tordeuse à bandes obliques

Les méthodes culturales, soient l'éclaircissage manuel et la taille d'été des gourmands, n'ont pas été effectuées en 2020, chez les deux producteurs de la Montérégie, en raison du manque de main-d'œuvre. L'impact de cette intervention n'a donc pas été évalué dans ces vergers en 2020. Pour l'an 2020, les données récoltées pour les stratégies 1 et 4 ont été combinées, puis analysées conséquemment. Le *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Bioprotec PLUS™) a été appliqué à deux reprises soit au stade de la floraison et environ 7 jours plus tard au stade calice à nouaison. Les trichogrammes ont été pulvérisés à deux reprises. La première application a été effectuée selon la prédiction du pic de ponte établie par le modèle phénologique de la TBO du logiciel CIPRA. La deuxième application a été réalisée de 3 à 10 jours plus tard (Tableau 2).

Tableau 2. Détail des deux pulvérisations de trichogrammes effectuées dans chacun des vergers en 2020 et 2021

Entreprise	Région	Doses million/ ha	Date du 1 ^{er} lâcher	Date du 2 ^e lâcher
Verger 3	Saint-Joseph-du-Lac	1,2	04/07/2020	10/07/2020
Verger 4	Saint-Joseph-du-Lac	1,2	07/07/2020	10/07/2020
Verger 8	Franklin	1,2	30/06/2020	06/07/2020
Verger 9	Rougemont	1,2	30/06/2020	07/07/2020
Verger 3	Saint-Joseph-du-Lac	1,2	18/06/2021	28/06/2021
Verger 4	Saint-Joseph-du-Lac	1,2	18/06/2021	28/06/2021
Verger 8	Franklin	1,2	17/06/2021	25/06/2021
Verger 9	Rougemont	1,2	17/06/2021	25/06/2021

Suivi des adultes

Les populations de mâles de TBO étaient plus élevées en 2020 qu'en 2021, mais elles étaient considérées comme faibles (Figure 3). Selon le verger, le cumul des captures de mâles a varié de 18 à 140 en 2020 et entre 10 et 58 en 2021.

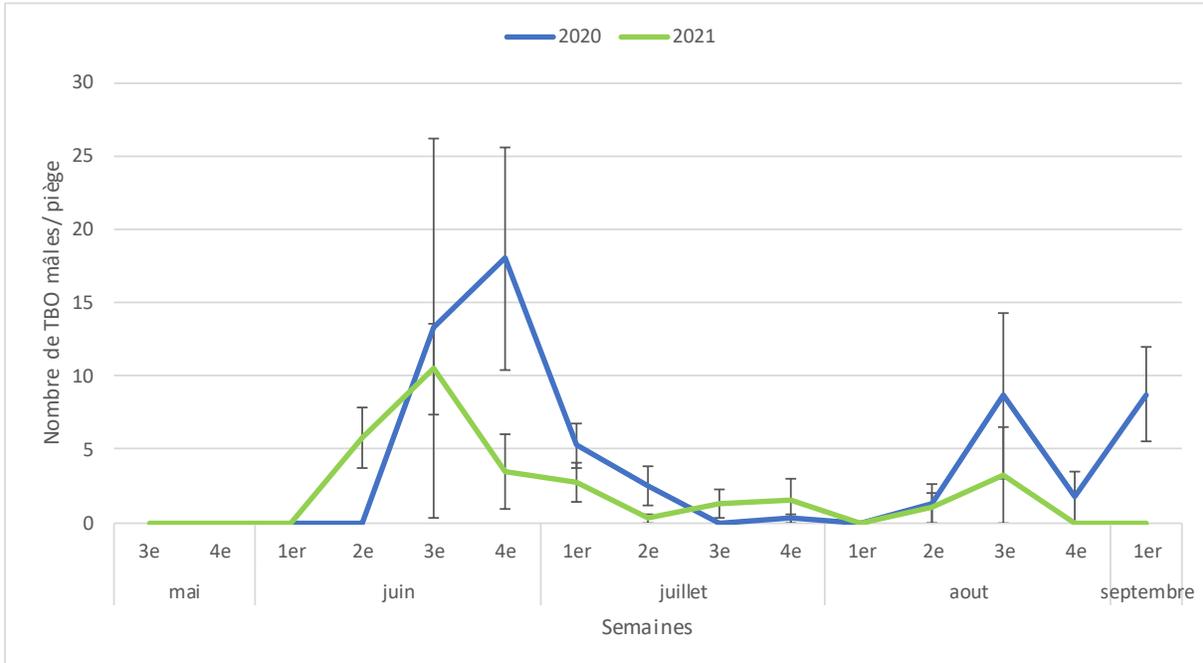


Figure 3. Moyenne (\pm erreur-type) des captures hebdomadaires de TBO mâles par piège observée dans les quatre vergers commerciaux en 2020 et 2021.

Suivi des dommages de TBO

En 2020, aucune différence significative n'a été relevée entre les stratégies pour le taux de dommages sur pommes en mi-saison ($F_{2,13}=1,95$; $p=0,1817$) et à la récolte ($F_{2,13}=1,8712$; $p=0,1931$) ainsi que pour le taux de dommages sur pousses en mi-saison ($F_{2,13}=0,5318$; $p=0,5998$) (Figure 4). Parallèlement, en 2021, aucune différence significative n'a été relevée entre les stratégies pour le taux dommages sur pommes en mi-saison ($F_{3,12}=0,2444$; $p=0,8637$) et à la récolte ($F_{3,12}=0,132$; $p=0,9392$) ainsi que pour le taux de dommages sur pousses en mi-saison ($F_{3,12}=0,0423$; $p=0,9878$). Ces résultats ne sont pas surprenants compte tenu des faibles populations d'adultes observées et des faibles pourcentages de dommages observés dans les parcelles témoins. Les pourcentages de dommages sur pommes et sur pousses n'ont pas dépassé 3 et 4%, respectivement. Ces pourcentages se situaient sous les seuils d'intervention maximaux (Morin *et coll.* 2020).

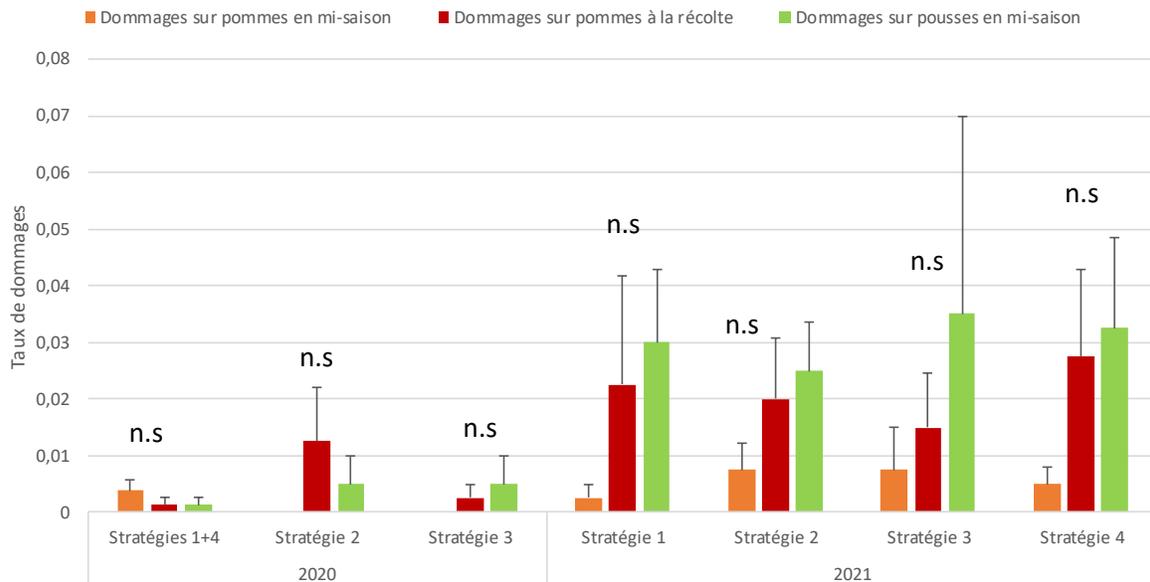


Figure 4. Taux moyens (\pm erreur-type) de pommes endommagées par la TBO en mi-saison et à la récolte et de dommages sur pousses pour chacune des quatre stratégies comparées en 2020 et 2021 (ANOVA, test DSH de Tukey, $\alpha = 0,05$). Stratégie 1 : méthodes culturales; stratégie 2 : méthodes culturales + *Btk*; stratégie 3 : méthodes culturales + *Btk* + trichogrammes; stratégie 4 : témoin.

Suivi du parasitisme

En 2020, aucune différence significative n'a été relevée concernant l'incidence de parasitisme entre les différentes stratégies pour le lâcher 1 ($F_{3,9}=0,9313$; $p=0,4646$), le lâcher 2 ($F_{3,9}=0,5460$; $p=0,6631$) et les deux lâchers regroupés ($F_{3,27}=0,6810$; $p=0,5714$). Parallèlement, en 2021, aucune différence significative n'a été observée lors du lâcher 1 ($F_{3,9}=0,1521$; $p=0,9257$), du lâcher 2 ($F_{3,9}=1,16$; $p=0,3774$) ou sur tous les œufs observés lors des deux lâchers ($F_{3,27}=0,4361$; $p=0,7290$) en 2021 (Figure 5).

Durant les deux années, les différentes stratégies de lutte contre la TBO n'ont pas affecté l'incidence de parasitisme par les trichogrammes. Contrairement à nos

attentes, les deux lâchers de trichogrammes inclus dans la stratégie 3 n'ont pas augmenté l'incidence du parasitisme. Pourtant en 2019, lors du développement de la méthode d'application des trichogrammes, l'incidence du parasitisme avait été multipliée par 2,4 après une application de *T. minutum* (Vanoosthuysse et coll. 2019).

Compte tenu des faibles taux d'incidence de parasitisme observés dans la stratégie 3 où des trichogrammes avaient été lâchés, nous avons envoyées divers spécimens de trichogrammes au Laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection (LEDP) du MAPAQ. Pour chaque échantillon envoyé, l'amplification et le séquençage de l'ADN ont été réalisés sur deux spécimens. Les résultats nous indiquent que durant les deux années, l'espèce relâchée a été identifiée comme étant *T. pretiosum* et que l'espèce la plus abondante récoltée dans les vergers a été identifiée comme étant *T. minutum* (Annexes 1-5). Cependant, l'entreprise Anatis Bioprotection a fait récemment identifier les spécimens de l'élevage dont sont issus les trichogrammes que nous avons relâchés et les spécimens appartenaient à l'espèce *T. minutum*. L'espèce relâchée dans nos essais n'est donc pas confirmée.

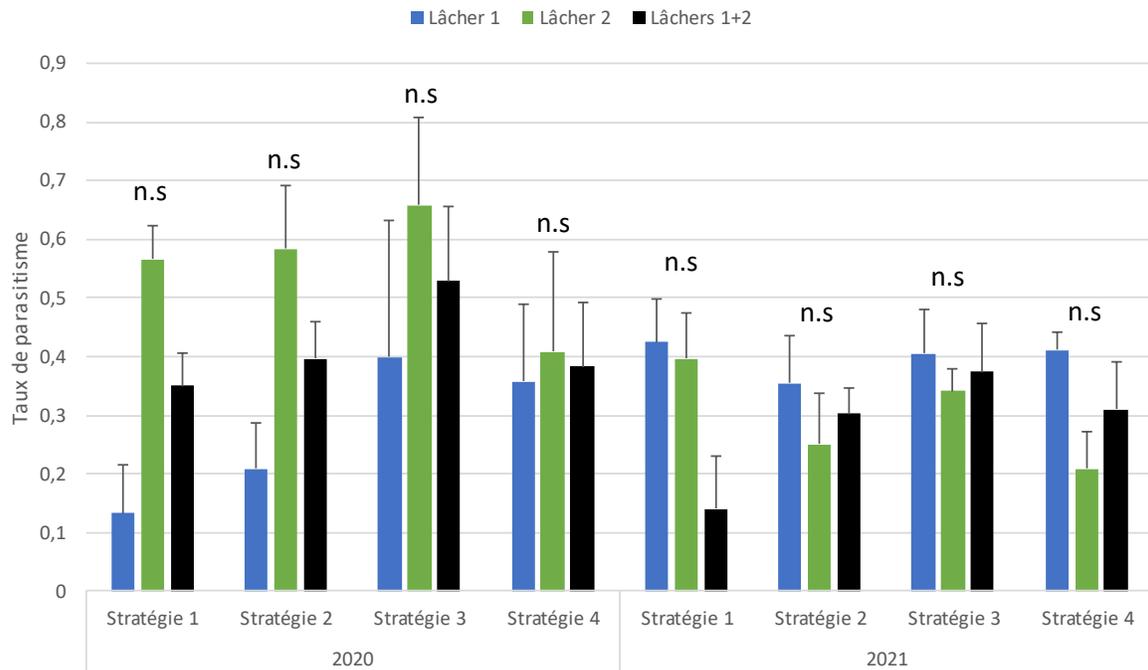


Figure 5. Incidence moyenne (\pm erreur-type) du parasitisme des masses d'œufs sentinelles de TBO dans les parcelles sous quatre stratégies différentes en 2020 et 2021. Aucune différence significative n'a été relevée entre les quatre stratégies (ANOVA, test DSH de Tukey, $\alpha = 0,05$).

DIFFUSION DES RÉSULTATS

Vanoosthuyse, F., A. Charbonneau, G. Chouinard et D. Cormier. 2019. Application par pulvérisateur à jet porté du parasitoïde oophage *Trichogramma minutum* Riley pour lutter contre la tordeuse à bandes obliques, *Choristoneura rosaceana* (Harris) en vergers de pommiers. 146^e réunion annuelle de la Société d'entomologie du Québec, Drummondville, QC, 28 et 29 nov.

Vanoosthuyse, F., A. Charbonneau et D. Cormier. 2020. *Trichogramma minutum*, un insecte canon! Journées annuelles sur la recherche et l'innovation technologique du groupe d'experts en protection du pommier, 13 février.

N'ayant pas mis en évidence l'avantage d'utiliser la stratégie proposée, nous estimons que peu d'entreprises seront touchées, à court terme, par les résultats du projet.

APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE

Conscient de la recrudescence des populations de TBO et des dommages aux pommes qu'elles occasionnent dans les vergers sous confusion sexuelle du carpocapse de la pomme, ce projet était tout désigné étant donné que la méthode par confusion sexuelle est bien implantée au Québec et que sa popularité augmente au fil des années. Les stratégies de lutte que nous avons proposées contre la TBO permettaient d'utiliser des agents de lutte biologique, bactérie (*Btk*) et parasitoïdes (*T. minutum*). Malheureusement, nous n'avons pas été en mesure de mettre en évidence l'une des stratégies dans les vergers où les populations de TBO étaient considérées comme faibles. Ces stratégies de lutte à risques réduits étaient applicables pour l'ensemble des producteurs pomicoles de toutes les régions du Québec et de toutes les superficies autant dans les vergers en PFI que ceux en régie biologique. Ces stratégies demeureront en développement au cours des prochaines années.

PERSONNE-RESSOURCE (POUR INFORMATION)

Daniel Cormier, Ph. D.

Chercheur | Entomologie fruitière

Institut de recherche et de développement en agroenvironnement (IRDA)

335, rang des Vingt-Cinq Est, Saint-Bruno-de-Montarville (Québec) J3V 0G7

Tél. : 450 653-7368, poste 360

Courriel : daniel.cormier@irda.qc.ca

REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS

Ce projet a été réalisé dans le cadre du sous-volet 3.1 du programme Prime-Vert – Appui au développement expérimental, à l'adaptation technologique et au transfert technologique des connaissances en agroenvironnement avec une aide financière du ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation.

Les auteurs tiennent également à remercier Dre Mylène St-Onge, directrice scientifique chez Anatis Bioprotection Inc. pour sa précieuse collaboration et monsieur Dubois, agr. Directeur développement de produits et services techniques d'avoir généreusement fourni le Bioprotec Plus™ pour les pulvérisations en vergers commerciaux.

ANNEXE

Après utilisation de la paire d'amorces (ITS2F - ITS2R) pour amplifier l'ADN des spécimens envoyés pour identification, un séquençage a été effectué pour ensuite les comparer aux séquences contenues sur NCBI de même qu'aux séquences de référence fournies par un expert mondial, le Dr Stouthamer. Un arbre de similarité a été développé à partir des séquences des spécimens analysés et des séquences de référence (Figures 6-8).

L'identification des spécimens de 2020 (Tableau 3) et 2021 (Tableau 4) provenant des masses d'œufs sentinelles de TBO a révélé que dans tous les vergers, les masses étaient majoritairement parasitées par *T. minutum*. En 2021, une masse provenant des Laurentides était à la fois parasitée par *T. minutum* et par *T. ostriniae* (verger 3). De plus, une masse provenant des Laurentides (verger 4) et une autre provenant de Montérégie (verger 8) étaient parasitées par *T. pretiosum* (Tableau 4). Parmi les 50 échantillons envoyés en 2021, seul 12 n'ont pas pu être identifiés à cause d'un échec d'amplification ou de séquençage.

En 2020 et 2021, l'identification des spécimens provenant de l'élevage pour le 1^{er} et le 2^e lâcher ont révélé que l'espèce relâchée était *Trichogramma pretiosum* Riley et non pas *T. minutum* telle que souhaitée (Tableaux 3, 4).

Un soucier de *T. minutum* provenant des masses sentinelles T1R5, T2F16 et T2R22 (Tableau 3) a été créé à l'automne 2020. Après identification par le LEDP, des spécimens provenant de ce soucier (Figure 7) ont été mis en élevage aux installations d'Anatis Bioprotection Inc. durant l'hiver 2020-2021. En décembre 2021, des spécimens de l'élevage d'Anatis Bioprotection Inc. et de l'élevage du laboratoire PFI de l'IRDA ont été envoyés au LEDP. Dans les deux cas, les spécimens ont été identifiés comme étant des *T. minutum*. Un doute persiste quant à l'identification de l'espèce relâchée.

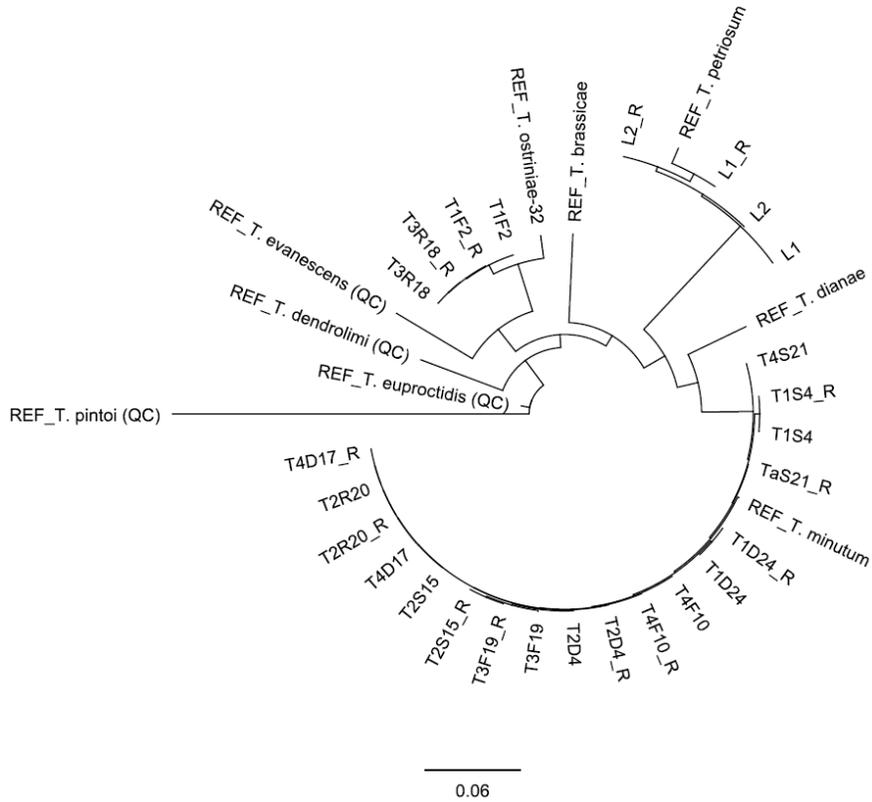


Figure 6. Arbre de similarité des gènes ITS2 pour les échantillons de 2020. Les spécimens groupés sont similaires. Au travers des séquences se trouvent les séquences de références (REF). _R = reprise d'amplification qui n'a pas fonctionné ou non satisfaisante.

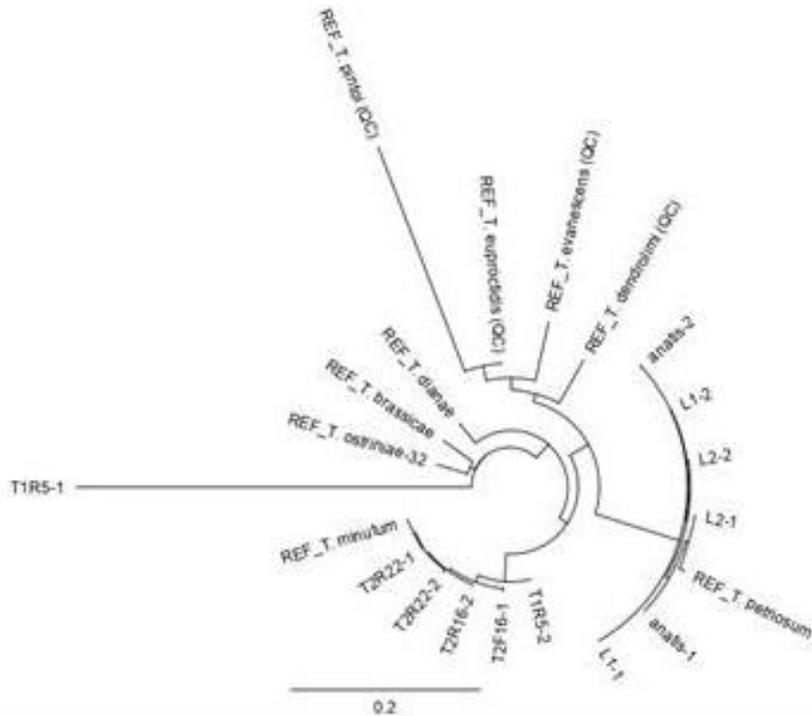


Figure 7. Arbre de similarité des gènes ITS2 pour les échantillons de 2020 mis en élevage. Les spécimens groupés sont similaires. Au travers des séquences se trouvent les séquences de références (REF). _R = reprise d'amplification qui n'a pas fonctionné ou non satisfaisante.

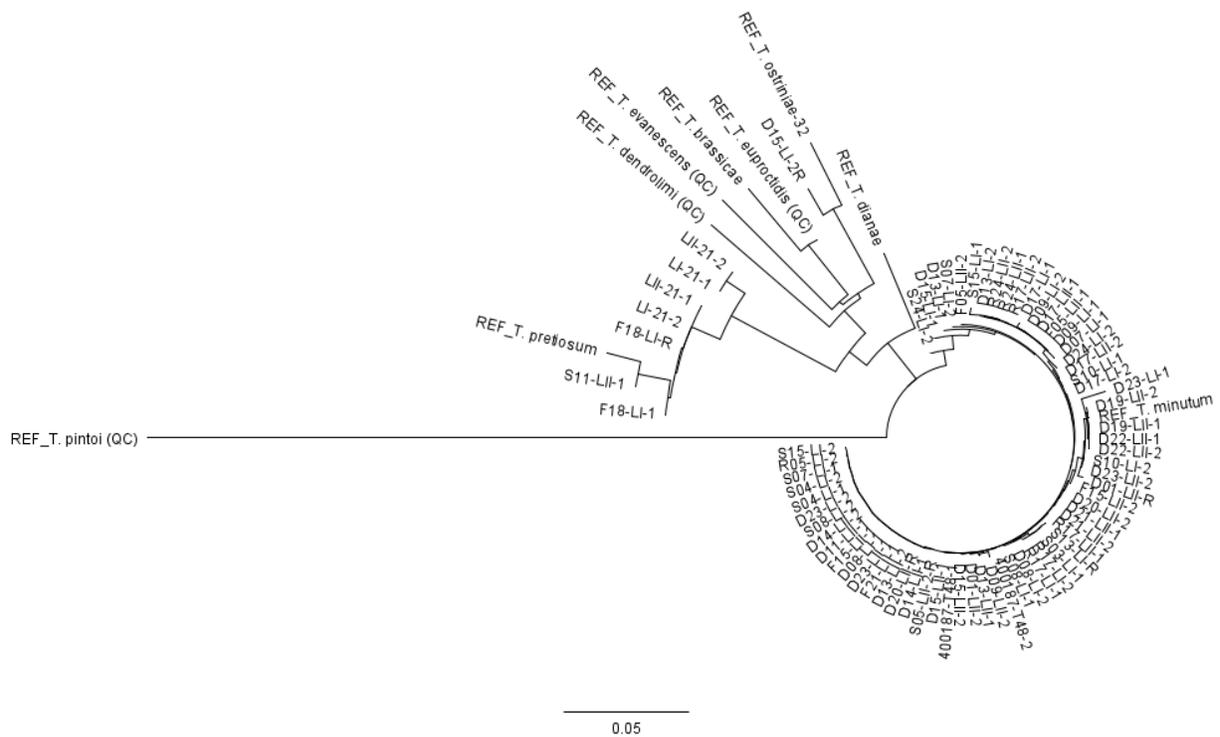


Figure 8. Arbre de similarité des gènes ITS2 pour les échantillons de 2021. Les spécimens groupés sont similaires. Au travers des séquences se trouvent les séquences de références (REF). _R = reprise d'amplification qui n'a pas fonctionné ou non satisfaisante.

Tableau 3. Liste des spécimens envoyés au LEDP pour identification en 2020.

#Échantillon	Lâcher	Stratégie	Provenance	Identification du LEDP
L1	1 ^{er} lâcher	NA	Élevage Anatis	<i>Trichogramma pretiosum</i>
L2	2 ^e lâcher	NA	Élevage Anatis	<i>Trichogramma pretiosum</i>
T1D24	2 nd lâcher	Stratégie 1	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
T2D4	2 nd lâcher	Stratégie 2	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
T4D17	2 nd lâcher	Stratégie 4	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
T1S4	2 nd lâcher	Stratégie 1	Verger 4	<i>Trichogramma minutum</i>
T2S15	2 nd lâcher	Stratégie 2	Verger 4	<i>Trichogramma minutum</i>
T4S21	2 nd lâcher	Stratégie 4	Verger 4	<i>Trichogramma minutum</i>
T1F2	1 ^{er} lâcher	Stratégie 1	Verger 8	<i>Trichogramma ostrinae</i>
T3F19	1 ^{er} lâcher	Stratégie 3	Verger 8	<i>Trichogramma minutum</i>
T2F16	2 nd lâcher	Stratégie 2	Verger 8	<i>Trichogramma minutum</i>
T4F10	2 nd lâcher	Stratégie 4	Verger 8	<i>Trichogramma minutum</i>
T3R18	1 ^{er} lâcher	Stratégie 3	Verger 9	<i>Trichogramma ostrinae</i>
T1R5	2 nd lâcher	Stratégie 1	Verger 9	<i>Trichogramma minutum</i>
T2R20	2 nd lâcher	Stratégie 2	Verger 9	<i>Trichogramma minutum</i>
T2R22	2 nd lâcher	Stratégie 2	Verger 9	<i>Trichogramma minutum</i>

Tableau 4. Liste des échantillons envoyés au LEDP pour identification en 2021.

#Échantillon	Lâcher	Stratégie	Provenance	Identification du LEDP
LI-21	1 ^{er} lâcher	NA	Élevage Anatis	<i>Trichogramma pretiosum</i>
LII-21	2 nd lâcher	NA	Élevage Anatis	<i>Trichogramma pretiosum</i>
D20-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 1	Verger 3	Échec de l'identification
D23-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 1	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D24-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 1	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D03-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 2	Verger 3	Échec de l'identification
D07-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 3	Verger 3	Échec de l'identification
D08-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 3	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D09-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 3	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D13-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 4	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D15-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 4	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i> et <i>Trichogramma ostrinae</i>
D17-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 4	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D19-LII	2 nd lâcher	Stratégie 1	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D20-LII	2 nd lâcher	Stratégie 1	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D21-LII	2 nd lâcher	Stratégie 1	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D22-LII	2 nd lâcher	Stratégie 1	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D23-LII	2 nd lâcher	Stratégie 1	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D01-LII	2 nd lâcher	Stratégie 2	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D03-LII	2 nd lâcher	Stratégie 2	Verger 3	Échec de l'identification
D09-LII	2 nd lâcher	Stratégie 3	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D11-LII	2 nd lâcher	Stratégie 3	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D13-LII	2 nd lâcher	Stratégie 4	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D14-LII	2 nd lâcher	Stratégie 4	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D15-LII	2 nd lâcher	Stratégie 4	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
D17-LII	2 nd lâcher	Stratégie 4	Verger 3	<i>Trichogramma minutum</i>
S03-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 1	Verger 4	<i>Trichogramma minutum</i>
S04-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 1	Verger 4	<i>Trichogramma minutum</i>
S13-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 2	Verger 4	<i>Trichogramma minutum</i>
S15-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 2	Verger 4	<i>Trichogramma minutum</i>
S07-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 3	Verger 4	<i>Trichogramma minutum</i>
S08-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 3	Verger 4	<i>Trichogramma minutum</i>
S10-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 3	Verger 4	<i>Trichogramma minutum</i>
S12-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 3	Verger 4	Échec de l'identification
S23-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 4	Verger 4	Échec de l'identification
S24-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 4	Verger 4	<i>Trichogramma minutum</i>
S03-LII	2 nd lâcher	Stratégie 1	Verger 4	Échec de l'identification
S05-LII	2 nd lâcher	Stratégie 1	Verger 4	<i>Trichogramma minutum</i>
S15-LII	2 nd lâcher	Stratégie 2	Verger 4	Échec de l'identification
S11-LII	2 nd lâcher	Stratégie 3	Verger 4	<i>Trichogramma pretiosum</i>
F18-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 2	Verger 8	<i>Trichogramma pretiosum</i>
F07-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 4	Verger 8	<i>Trichogramma minutum</i>
F05-LII	2 nd lâcher	Stratégie 1	Verger 8	<i>Trichogramma minutum</i>
F15-LII	2 nd lâcher	Stratégie 2	Verger 8	<i>Trichogramma minutum</i>
F21-LII	2 nd lâcher	Stratégie 3	Verger 8	<i>Trichogramma minutum</i>
F24-LII	2 nd lâcher	Stratégie 3	Verger 8	Échec de l'identification
F08-LII	2 nd lâcher	Stratégie 4	Verger 8	Échec de l'identification
R04-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 1	Verger 9	Échec de l'identification
R05-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 1	Verger 9	<i>Trichogramma minutum</i>
R17-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 3	Verger 9	<i>Trichogramma minutum</i>
R08-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 4	Verger 9	Échec de l'identification
R09-LI	1 ^{er} lâcher	Stratégie 4	Verger 9	Échec de l'identification
R24-LII	2 nd lâcher	Stratégie 2	Verger 9	<i>Trichogramma minutum</i>
R17-LII	2 nd lâcher	Stratégie 3	Verger 9	<i>Trichogramma minutum</i>