

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

ÉCOLOGIE COMPORTEMENTALE DE LA PUNAISE TERNE
(*LYGUS LINEOLARIS*) SUR LA VIGNE (*VITIS VINIFERA*)

THÈSE
PRÉSENTÉE
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DU DOCTORAT EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR
DOMINIQUE FLEURY

AOÛT 2009

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

AVANT-PROPOS

Cette thèse est écrite sous forme d'articles scientifiques. Chaque article représente un chapitre. Les chapitres I et IV ont été publiés dans des revues scientifiques avec révision par les pairs. Les chapitres II et III seront soumis prochainement. Le choix des revues a été fait de manière à cibler au mieux les lecteurs potentiels.

Les recherches présentées dans ce manuscrit ont nécessité la collaboration de plusieurs chercheurs et techniciens (voir plus bas). Par contre, j'ai réalisé la grande majorité des travaux et j'en suis le principal auteur. J'ai planifié la totalité des expériences menées lors de cette thèse. Les prises de données et la majorité des résultats statistiques sont aussi le fruit de mon travail.

Je tiens à exprimer en quelques mots mes vifs remerciements aux personnes qui ont rendu possible la réalisation de cette thèse.

Je voudrais remercier le Docteur Charles Vincent (Centre de Recherche et de Développement en Horticulture, Agriculture et Agro-alimentaire Canada à Saint-Jean-sur-Richelieu: CRDH-AAC), Agronome et professeur invité à l'UQAM, mon directeur de thèse, pour m'avoir fait confiance depuis le début et qui, tout au long de ce processus, n'a cessé de m'encourager et de me conseiller. Sa disponibilité et ses encouragements, malgré ses occupations multiples, m'ont beaucoup aidé à réaliser ce manuscrit.

J'aimerais aussi exprimer toute ma reconnaissance à mon co-directeur, le Docteur Yves Mauffette (UQAM), dont les conseils judicieux ont contribué à améliorer mes articles et dont la joie de vivre m'a permis de passer à travers certaines périodes plus difficiles.

Je remercie également le Docteur Josiane Paré, de l'Université de Picardie Jules Verne (UPJV), Amiens (France), membre de mon Comité de thèse pour m'avoir initié à l'art des préparations et des observations microscopiques (optique et électronique). De plus, je tiens à souligner sa rigueur qui restera toujours présente à ma mémoire.

Mes remerciements vont aussi au Docteur Paul Albert, de Concordia University (Montréal, Canada), membre de mon Comité de thèse, pour la pertinence de ses informations sur les pièces buccales des insectes.

Le Docteur Noubar J. Bostanian (CRDH-AAC), le Professeur Jean-Claude Laberche (UPJV/IUT Amiens, France) et M. Jacques Lasnier (Co-Lab R&D Inc.) se sont intéressés à mon travail et m'ont fait part de leurs conseils scientifiques et techniques au cours de l'élaboration du protocole expérimental et lors de l'analyse des résultats. C'est un plaisir de les associer à la réalisation de ce travail.

Merci également à toute l'équipe du laboratoire de recherche de Charles Vincent: Geneviève Larouche, Pierre Lemoyne, Benoît Rancourt et Martin Trudeau (CRDH-AAC); aux stagiaires de l'UPJV/IUT (Amiens, France) section agronomie: Mélissa Thibaud, Alexis Chevallier, Simon Fourdin et Pierre Rigole qui ont été sélectionnés par le Professeur Jean-Claude Laberche et au statisticien de la station d'Agriculture et Agro-alimentaire Canada de Lennoxville (QC): Steve Méthot.

Ce projet n'aurait pu être possible sans la collaboration de Charles-Henri De Cousergues, viticulteur, vigneron et actionnaire du Vignoble de L'Orpailleur à Dunham (Qc). Sa grande ouverture d'esprit m'a permis de réaliser plusieurs essais en plein champ.

Cette thèse a été financée par une entente de recherche (PPFI) entre le vignoble de L'Orpailleur et le CRDH-AAC.

Je ne saurais finir sans exprimer toute ma gratitude à ma femme, Isabelle Lavoie et à mes parents: Claudine et Joseph Fleury qui m'ont toujours soutenu et encouragé moralement et financièrement. Leur patience m'a grandement aidé à terminer mes études doctorales.

TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS.....	ii
LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES TABLEAUX	viii
RÉSUMÉ.....	ix
1. INTRODUCTION.....	1
1.1 Problématique.....	1
1.2 Biologie des organismes impliqués dans cette étude.....	3
1.2.1 La vigne, <i>Vitis vinifera</i> L. (Vitacæ).....	3
1.2.2 La punaise terne, <i>Lygus lineolaris</i> (Palisot de Beauvois) (Heteroptera: Miridae).....	5
1.3 Mouvements effectués par <i>L. lineolaris</i> dans un agroécosystème Diversifié.....	8
1.4 Dommages causés par <i>L. lineolaris</i> sur diverses cultures fruitières	9
1.5 Contrôle des populations de <i>L. lineolaris</i>	11
1.6 Dégâts causés sur la vigne par des Mirides	12
1.7 Objectifs.....	15
2. CHAPITRE I.....	17
FEEDING IMPACT OF <i>LYGUS LINEOLARIS</i> (HETEROPTERA: MIRIDAE) ON <i>VITIS VINIFERA</i> : A BEHAVIOURAL & HISTOLOGICAL STUDY	
2.1 Résumé	18
2.2 Abstract.....	19
2.3 Introduction	20
2.4 Materials & Methods	21
2.5 Results	23
2.6 Discussion.....	25

3. CHAPITRE II.....	33
IMPACT OF LONG FEEDING BY <i>LYGUS LINEOLARIS</i> ON <i>VITIS</i> <i>VINIFERA</i> IN THE FIELD	
3.1 Résumé	34
3.2 Abstract.....	35
3.3 Introduction	36
3.4 Materials & Methods	37
3.5 Results & discussion.....	39
4. CHAPITRE III.....	42
POPULATION DENSITY OF <i>LYGUS LINEOLARIS</i> ADULTS AT THE PERIPHERY AND INSIDE A COMMERCIAL VINEYARD LOCATED IN A DIVERSIFIED AGROECOSYSTEM	
4.1 Résumé	43
4.2 Abstract.....	44
4.3 Introduction	45
4.4 Materials & Methods	46
4.4.1 Habitat description	46
4.4.2 Commercial practices.....	47
4.4.3 Experimental design and population trapping of <i>L. lineolaris</i>	47
4.4.4 Overwintering experiment	47
4.4.5 Data analysis	48
4.5 Results	48
4.6 Discussion.....	49

5. CHAPITRE IV	58
RESIDUAL TOXICITY OF TWO INSECTICIDES ON THREE FIELD POPULATIONS OF <i>LYGUS LINEOLARIS</i> (HEMIPTERA: MIRIDAE) COLLECTED ALONG THE ST-LAWRENCE VALLEY IN EASTERN CANADA	
5.1 Résumé	59
5.2 Abstract.....	60
5.3 Introduction	61
5.4 Materials & methods.....	62
5.4.1 Field collection of <i>Lygus lineolaris</i>	62
5.4.2 Laboratory bioassays	63
5.5 Results	64
5.6 Discussion.....	64
6. CONCLUSION	70
7. ANNEXES	72
A : STADES REPÈRES DE LA VIGNE.....	72
B : IDENTIFICATION HISTOLOGIQUES DES LÉSIONS CAUSÉES SUR L'INFLORESCENCE DE <i>VITIS VINIFERA</i> L. (VITACÉES) PAR <i>LYGUS</i> <i>LINEOLARIS</i> (PALISOT DE BEAUVOIS) (HETEROPTERA: MIRIDAE).	74
C : LISTE DES CONTRIBUTIONS DURANT MES ÉTUDES DOCTORALES	88
8. BIBLIOGRAPHIE	92

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Répartition des superficies totales du vignoble par continent.....	1
Figure 1.2 : Répartition de la production mondiale de raisin par continent	2
Figure 1.3 : Répartition de la production mondiale de vin par continent	2
Figure 2.1 : Injuries caused by <i>Lygus lineolaris</i> during feeding on buds of <i>Vitis vinifera</i> at phenological stage B	29
Figure 2.2 : Injuries caused by <i>Lygus lineolaris</i> during feeding on <i>Vitis</i> <i>vinifera</i> at phenological stage F	30
Figure 2.3 : Injuries caused by <i>Lygus lineolaris</i> feeding on nectar glands at the base of an ovary of <i>Vitis vinifera</i> at phenological stages H and I.....	31
Figure 2.4 : Injuries caused by <i>Lygus lineolaris</i> feeding on pedicel of a <i>Vitis vinifera</i> berry at phenological stages K and L.....	32
Figure 4.1 : The commercial vineyard of L'Orpailleur (Dunham, Qc, Canada) and its surrounding habitats. Traps are represented by bars flanked with letters as follow: O = commercial apple Orchard, D = Ditch with commercial vineyard next to it, H = ornamentals around Houses of the vineyard, R = Roadside, W = mix spruce Wood lot and V = inside the Vineyard. Seasonal abundance of <i>L. lineolaris</i> at the interface (inner and outer sides of trap captures) of the vineyard: A + B) inside the vineyard interface in 2002 and in 2003; C + D) the apple orchard interface in 2002 and 2003; K + L) the wood lot interface in 2002 and 2003.....	55
Figure 4.2a : Seasonal abundance of <i>L. lineolaris</i> adults in a commercial vineyard (pooled data from the 39 white traps) with mean temperatures and precipitations in 2002.....	56
Figure 4.2b : Seasonal abundance of <i>L. lineolaris</i> adults in a commercial vineyard (pooled data from the 39 white traps) with mean temperatures and precipitations in 2003.....	56
Figure 4.3 : Distribution of <i>L. lineolaris</i> adults collected for each particular adjacent habitat of the vineyard in 2002 and 2003	57
Figure 4.4 : Height of flight by <i>L. lineolaris</i> adults captured in 2002 and 2003	57
Figure 5.1 : Toxicity of azinphos-methyl (Guthion® 240 SC) to <i>Lygus lineolaris</i> adults from three different regions.....	69
Figure 5.2 : Toxicity of cypermethrin (Cymbush® 250 EC) to <i>Lygus lineolaris</i> adults from three different regions.....	69

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 : Mean number of punctures and feeding time by <i>Lygus lineolaris</i> third-instar nymphs and adults at different phenological stages of <i>Vitis vinifera</i>	28
Tableau 3.1 : Slope and P value on the effect of <i>L. lineolaris</i> released at several phenological stages of <i>V. vinifera</i> “Seyval blanc” after feeding during 30 days.....	41
Tableau 4.1 : Total captures of <i>L. lineolaris</i> adults on the inner and outer sides of traps at the periphery of a vineyard in 2002 and 2003 (data for traps at the center of the vineyard not shown).....	53
Tableau 4.2 : Statistical probability resulting from statistical comparison of average captures between habitats, in 2002 and 2003 (both side of traps pooled)..	54
Tableau 5.1 : Relative residual toxicity of two insecticides to <i>Lygus lineolaris</i> adults collected in eastern Canada at La Pocatière (Quebec), Dunham (Quebec) and Niagara (Ontario) in 2004.....	67
Tableau 5.2 : Lethal concentration ratios of two insecticides on three different populations of <i>Lygus lineolaris</i> adults in 2004.....	68

RÉSUMÉ

La punaise terne, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera : Miridae), est un insecte indigène de l'Amérique du Nord et il s'étend du Mexique à l'Alaska. *L. lineolaris* est extrêmement polyphage: elle se nourrit sur près de 400 espèces végétales, préférentiellement sur des tissus en pleine croissance (méristèmes) et change fréquemment de plantes hôtes pour répondre à ses besoins alimentaires.

Au Québec, la production de fruits est concentrée dans le sud, tout comme la culture de la vigne (*Vitis vinifera*). Bien que l'industrie vitivinicole se soit fortement développée durant la dernière décennie, il existe peu d'études concernant *L. lineolaris* et *V. vinifera* sous l'angle des relations plantes - insectes. Pour mieux comprendre les types de relations pouvant exister entre eux, quatre expériences ont été menées : deux en laboratoire et deux en vignoble.

L'objectif de l'**expérience 1** (laboratoire) était de déterminer l'impact de la prise de nourriture sur une période d'une heure par les nymphes et les adultes de *L. lineolaris* durant différents stades phénologiques de *V. vinifera*. Nos observations aux microscopes ont permis de déterminer trois impacts différents: a) les attaques pendant une heure de *L. lineolaris* n'endommagent pas les méristèmes de *V. vinifera* car ils sont enrobés de pectine, stades phénologiques B à F ; b) la prise de nourriture est localisée sur le disque nectarifère et les dommages ne présentent pas de problème pour le développement futur du fruit, stades phénologiques H et I ; c) les dégâts sont principalement situés sur le pédicelle des baies, stades phénologiques J à L. Durant les stades phénologiques B à L, le nombre de perforations, est significativement différent entre les nymphes et les adultes, mais pas le temps passé pour chaque piqûre. La prise de nourriture ponctuelle par *L. lineolaris* n'influence pas le développement normal de *V. vinifera*.

L'objectif de l'**expérience 2** (vignoble) était de déterminer l'effet de *L. lineolaris* lors d'une prise de nourriture prolongée sur *V. vinifera*. Différentes densités d'adultes et de nymphes ont été confinées durant 30 jours sur un cep ayant quatre bourgeons ou grappes. Nos observations suggèrent majoritairement des diminutions et quelques augmentations significatives de rendements en fonction de la densité de *L. lineolaris* et du stade phénologique de *V. vinifera*.

L'objectif de l'**expérience 3** (vignoble) était de comprendre les mouvements de populations de *L. lineolaris* dans un agroécosystème diversifié (vignobles, vergers de pommiers, champs de luzerne, boisés). Nos captures ont permis d'établir que *L. lineolaris* adulte est présent dans les vignobles durant toute la saison de croissance avec deux principaux pics : un au mois de mai (adultes hivernants) et un autre à la fin juillet début août. Les adultes de *L. lineolaris* conservent la même hauteur de vol, même si la hauteur de la canopée de la plante hôte change.

L'objectif de l'**expérience 4** (laboratoire) était d'estimer les niveaux de tolérance à deux insecticides (azinphos-méthyl et cyperméthrine) sur trois populations de *L. lineolaris* situées le long du fleuve Saint-Laurent. Nos résultats n'ont pas révélé de différences significatives au niveau de la tolérance et nous pensons que la diversification des paysages agricoles rencontrés dans l'Est du Canada serait la principale explication des résultats. Ces deux insecticides utilisés dans l'Est canadien sont encore très efficaces contre *L. lineolaris*.

Actuellement, avec les populations rencontrées sur le terrain, ces observations permettent de constater que *L. lineolaris* n'est pas un ravageur de premier ordre pour *V. vinifera*. Il faut toutefois rester vigilant, car les populations de *L. lineolaris* peuvent augmenter significativement d'une saison à l'autre. *L. lineolaris* pourrait causer des problèmes durant les vendanges en modifiant les propriétés organoleptiques du vin lors de la vinification, au même titre que *Harmonia axyridis* dans les vignobles situés sur la Péninsule de Niagara (Ontario, Canada).

Mots-clés: *Lygus lineolaris*, Populations, Insecticides, Toxicité, *Vitis vinifera*, Stades Phénologiques, Dommages, Cytologie, Baies, Rachis, Agroécosystème et Relation Plante-Insecte.

1. INTRODUCTION

1.1 Problématique

La punaise terne, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Heteroptera: Miridae), est un ravageur très répandu du Mexique à l'Alaska et elle peut causer d'importantes pertes économiques en Amérique du Nord (Kelton 1975). *L. lineolaris* est extrêmement polyphage: elle se nourrit sur près de 400 espèces de plantes hôtes, incluant au minimum 130 espèces d'importance économique (Young 1986; Esquivel et Mowery 2007). En Amérique du Nord, les producteurs agricoles doivent souvent intervenir avec des insecticides pour diminuer les dommages causés par *L. lineolaris* dans leurs cultures (Broadbent *et al.* 2002, Blackmer *et al.* 2008).

Au Québec, toutes cultures confondues, *L. lineolaris* nécessite l'emploi d'environ 14 000 kg de matière active insecticides par année, ce qui la place dans le trio des ravageurs les plus importants après le doryphore de la pomme de terre et la mouche de la pomme (Chagnon et Payette 1990). *L. lineolaris* est régulièrement observée dans les cultures fruitières telles que: pommier (Michaud *et al.* 1990, Boivin et Stewart 1982), fraisier (Vincent et Chagnon 2000, Rancourt *et al.* 2000, Bostanian 1994) et framboisier (Boivin *et al.* 1981, Mailloux *et al.* 1979).

La vigne (*Vitis vinifera*) est une des vingt cultures comestibles les plus cultivées au monde (Harlan 1992). La superficie mondiale des vignobles est de 7,9 millions d'hectares (ha) (Fig. 1.1) permettant une production annuelle de raisin de 646 millions de quintaux (Fig. 1.2) et la vinification de 270,9 millions d'hectolitres de vin (Fig. 1.3) (OIV 2008).

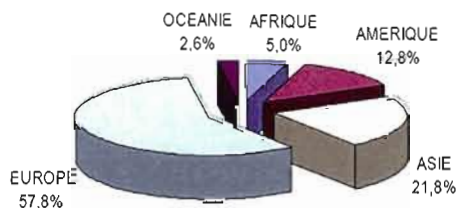


Figure 1.1: Répartition des superficies totales du vignoble par continent (OIV 2008)

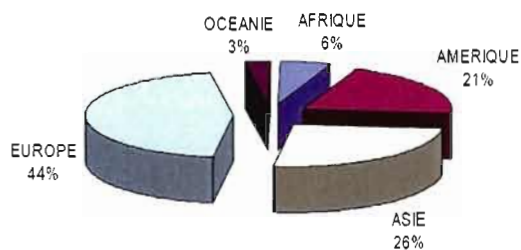


Figure 1.2: Répartition de la production mondiale de raisin par continent (OIV 2008)

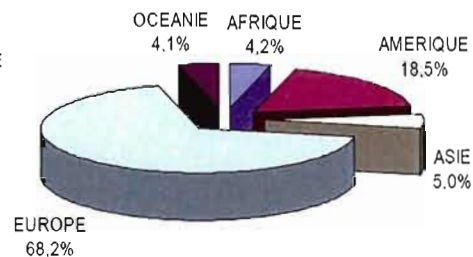


Figure 1.3: Répartition de la production mondiale de vin par continent (OIV 2008)

Depuis la fin des années 1980, les surfaces viticoles sont en pleines croissances au Canada (CGWRS 2007). En 1989, trois événements ont permis la croissance du secteur vitivinicole canadien: la signature de l'Accord de Libre-Échange entre le Canada et les États-Unis; l'injection de 28 millions de dollars par le gouvernement canadien pour remplacer les *V. labrusca* par des *V. vinifera* et l'arrivée du label Vintners Quality Alliance (Belliveau *et al.* 2006). Ces événements ont permis aux vignobles canadiens de pratiquement **doubler** leurs superficies de *V. vinifera* en passant de 4 510 à 8 730 ha de 1993 à 2005 ; par contre, les viticulteurs cultivent de moins en moins la variété *V. labrusca* (CGWRS 2007). Durant cette même période, l'industrie vitivinicole canadienne se développait remarquablement vite avec un accroissement annuel moyen de 7,1% pour atteindre des ventes de 1,7 milliards de \$, soit environ 145 millions de litres en 2005. Au Canada, en 2005, la superficie totale des vignobles était de 10 564 ha et permettait la production de 42,1 tonnes de raisin annuellement (Statistique Canada 2007). Environ 80% des raisins cultivés au Canada sont destinés à l'élaboration de vin. Les vignobles sont cultivés en Ontario (7 325 ha), en Colombie-Britannique (2 902 ha), au Québec (227 ha) et en Nouvelle-Écosse (111 ha) (AAC 2006).

Au Québec, il existe de la vigne indigène, *V. labrusca*, mais ses qualités organoleptiques sont moindres que celles de *V. vinifera*. Dès 1681, les vignes indigènes furent remplacées par des cépages européens, *V. vinifera*. Dans les années 1980, les Québécois ont augmenté leur consommation de vin, ce qui s'est traduit par une expansion rapide de la vitiviniculture au Québec. En 1984 on cultivait 32 ha de vigne, alors qu'en 2005 on en cultivait plus de 227 ha représentant une production de 630 tonnes de raisins (ISQ et MAPAQ 2005). Cette production signifiait une valeur à la ferme de plus de 370 000 \$ (Statistique Canada 2007). Les 512 000 ceps du Québec produisaient plus de 450 000

bouteilles d'environ 119 vins différents, dont 50% de blancs, 25% de rouges, 10% de rosés et 15% de vins de glace. Le 72% des cépages est planté pour élaborer du vin blanc et le cépage le plus communément cultivé est un hybride français, le Seyval Blanc (Dubois 2001). A Dunham en Estrie, le Vignoble de L'Orpailleur est le plus grand vignoble québécois et compte 45 000 ceps à lui seul.

Diverses études ont révélé que l'entomofaune des vignobles québécois était riche et diversifiée (Goulet *et al.* 2004, Bouchard *et al.* 2005, Bolduc *et al.* 2005). Par ailleurs, plusieurs auteurs ont observé que *L. lineolaris* se nourrit sur *V. vinifera* (Crosby et Leonard 1914, Kelton 1975, Stewart et Khoury 1976, Young 1986) ou ont noté sa présence dans des vignobles (Jubb *et al.* 1979, Bostanian *et al.* 2003). Cependant, ces auteurs ne rapportent aucune étude d'impact entre ces deux organismes, pourtant *L. lineolaris* est un ravageur majeur des cultures fruitières.

1.2 Biologie des organismes impliqués dans cette étude

1.2.1 La vigne, *Vitis vinifera* L. (Vitaceæ)

Le climat est un des facteurs les plus limitants pour la viticulture. La température moyenne annuelle doit être au dessus de 9⁰C ; les racines et les bourgeons de la vigne tolèrent mal les gels en dessous de - 25⁰C (Galet 2000). Le Canada est un pays au climat rigoureux. Malgré ces contraintes, les prix et les médailles obtenus par les établissements vitivinicoles canadiens dans divers concours nationaux et internationaux sont le reflet de la qualité de la matière première obtenue et des techniques employées pour en tirer des vins fins (Carew *et al.* 2004). La ville de Dunham se trouve au cœur de la zone viticole québécoise, une zone peu étendue (201 km²) mais dynamique. Les établissements vitivinicoles, pour la plupart distribués le long de la frontière américaine, doivent trouver des solutions afin de lutter contre la rigueur du climat québécois pour produire du vin de qualité. Pendant l'hiver, certains viticulteurs couvrent les ceps de terre par buttage pour les protéger du froid glacial et les découvrent au printemps. A Dunham, pendant la saison de croissance (fin avril à fin septembre), la moyenne d'heures d'ensoleillement est de 1150 heures (Bourgogne 1315,

Niagara 1426, Vallée de l'Okanagan 1423). Des caractéristiques topographiques précises induisent des endroits chauds très localisés qui permettent à la vigne de survivre et même de s'épanouir (Dubois et Deshaies 1997).

Pour alléger le texte, nous utiliserons le système de Baillod et Baggiolini (1993). Les lettres suivantes correspondent aux 16 différents stades phénologiques de la vigne (annexe A): A) Bourgeon d'hiver, B) Bourgeon dans le coton, C) Pointe verte, D) Sorties des feuilles, E) Feuilles étalées, F) Grappes visibles, G) Grappes séparées, H) Boutons floraux séparés, I) Floraison, J) Nouaison, K) Petit pois, L) Fermeture de la grappe, M) Véraison, N) Maturité, O) Aoûtement et P) Chute des feuilles.

La vigne est originaire du Caucase. Elle est cultivée depuis plus de 8 000 ans dans toutes les régions tempérées chaudes (Bournier 1976, Harlan 1992). C'est un arbuste sarmenteux, grimpant à l'aide de vrilles, à feuilles alternes profondément lobées et munies de stipules caduques. Les vrilles sont insérées en face des feuilles, comme le sont les inflorescences qui sont de types grappes composés, à croissance indéfinie, disposée le long de l'axe floral (Auderset 1987). Les inflorescences apparaissent au printemps, dès l'éclatement des bourgeons; elles se présentent alors sous forme de petits cônes mamelonnés où l'on peut distinguer les bractées imbriquées qui couvrent les bouquets de fleurs (Galet 2000). Chaque inflorescence est composée d'environ une centaine de fleurs, petites, verdâtres, peu visibles, hermaphrodites, actinomorphes. Ces fleurs sont pentamères: cinq sépales verdâtres très réduits, soudés en une cupule; cinq pétales libres à la base, soudés au sommet en une coiffe qui se détache en bloc à l'anthèse ; cinq étamines épipétales alternantes avec les lobes du disque nectarifère, libres, incurvées dans le bouton floral et se redressant brusquement à l'anthèse (Victorin 1964), provoquant le soulèvement de la corolle dont la déhiscence et la chute sont favorisées par l'ensoleillement et la chaleur (Reynier 1997). Le gynécée ne présente qu'un seul ovaire supère surmonté d'un style court, à deux carpelles clos, entouré par le disque nectarifère réceptaculaire sur lequel on observe cinq nectaires en forme de coussinets qui alternent avec les filets des étamines (Planche 1, annexe B). Les nectaires sont composés de tissus parenchymateux contenant un suc cellulaire abondant et sucré: le nectar (Galet 2000). Ils dégénèrent au stade phénologique J puis disparaissent.

Toutes les fleurs d'une grappe ne s'épanouissent pas en même temps et, à cause de cette protérandrie de la fleur, la floraison s'étale sur dix à quinze jours dans une même

parcelle (Reynier 1997). Les organes reproducteurs de la fleur n'étant pas protégés, la pollinisation est principalement anémophile; le fruit est une baie charnue renfermant deux à quatre pépins. Le poids des jeunes baies entraîne un changement de direction de 180° de l'inflorescence, alors que la jeune inflorescence est dressée avec l'extrémité dirigée vers le ciel, après la fécondation la grappe mûre aura sa pointe tournée vers le sol ; elle se dissimulera sous le feuillage, ce qui rendra plus fastidieuse et délicate l'application des traitements phytosanitaires (Reynier 1997).

Le poids des grappes est extrêmement variable, car il dépend du nombre et du poids des baies. Les parois carpellaires de l'ovaire se développent par la multiplication de leurs cellules et prennent généralement une forme sphérique. En une quinzaine de jours, les jeunes baies atteignent le stade phénologique K, elles sont pauvres en sucres mais très riches en acides organiques (Galet 2000).

La composition chimique du nectar est connue et certains constituants volatiles de la grappe ont été analysés par chromatographie gazeuse et spectrophotométrie de masse. Ces constituants comprenaient plus de 225 arômes composés, soit: 81 hydrocarbures, 48 acides, 31 alcools, 23 aldéhydes, 18 cétones, 11 esters et 13 constituants divers (Schreier *et al.* 1976). *L. lineolaris* est attirée par le nectar produit par les nectaires au moment de la floraison.

1.2.2 La punaise terne, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Heteroptera: Miridae)

L. lineolaris appartient à l'ordre des Hémiptères et au sous-ordre des Hétéroptères, puisque l'adulte possède des ailes de structure non homogène. Elle appartient à la famille des Mirides qui comprend près de 1 400 genres et 10 000 espèces (Wheeler 2001). Les Hémiptères sont des hétérométaboles, c'est-à-dire que le passage de l'état larvaire à l'état adulte se fait directement (sans stade nymphal); les ailes se développent à mesure des stades larvaires successifs (Borror *et al.* 1989).

L. lineolaris possède des pièces buccales de type piqueur-suceur (Planche 2, annexe B). A l'extrémité du rostre, on observe deux champs sensoriels comprenant chacun 11 sensilles basiconides et chémoréceptrices situées à l'extérieur du canal d'ingestion de nourriture. Lors de la recherche de ses plantes hôtes, ces chimiorécepteurs sont nécessaires pour porter un choix sélectif (Avé *et al.* 1978). Chaque sensille, d'une longueur de 5 à 6 µm,

est innervée par trois à quatre neurones bipolaires (Hatfield et Frazier 1980). Le stylet ne peut pas s'allonger : le rostre se plie en fonction de la profondeur de l'attaque (Flemion *et al.* 1954). La longueur du stylet des adultes et des nymphes de stade 4 à 5 est semblable. L'extrémité du stylet ressemble à un cylindre creux biseauté par lequel *L. lineolaris* prélève sa nourriture liquéfiée dans les tissus de la plante hôte.

Les récepteurs, sur le rostre et sur les antennes, permettent à *L. lineolaris* de percevoir une grande gamme d'odeurs volatiles produites par les plantes hôtes, ce qui lui permet d'exercer une certaine sélectivité lors de sa prise de nourriture (Chinta *et al.* 1994). Par exemple, lorsque *L. lineolaris* se nourrit sur le coton, elle est capable de détecter la libération de volatiles (Zhang *et al.* 2007) ciblant ses choix nutritionnels. Généralement, la nourriture des Héteroptères est plus riche en azote que celle de la plupart des homoptères (Schaefer et Panizzi 2000). Le saccharose est respectivement huit et 50 fois plus attirant pour *L. lineolaris* que le glucose et le fructose alors que la leucine est un répulsif (Hatfield *et al.* 1982).

Pour se nourrir, *L. lineolaris* procède en cinq étapes :

- 1^o déplacements sur l'hôte avec des mouvements au hasard accompagnés de sondages à l'aide de ses antennes, le rostre reste plié ;
- 2^o arrêt des déplacements, les antennes sont tendues en avant du corps avec le rostre plié ;
- 3^o frappelements rythmés avec le bout du rostre sur l'hôte ;
- 4^o sondages à l'aide de pompes rythmés de la tête et insertion du stylet ;
- 5^o injection d'enzymes et prise de nourriture liquéfiée avec la tête immobile et le stylet reste au même endroit pour une période de plus de 30 secondes (Hatfield *et al.* 1983).

Après cette macération des tissus végétaux, *L. lineolaris* peut retirer une quantité de matériel dépendante de l'espèce hôte visitée (Tingey et Pillmer 1977).

La salive joue un rôle physico-chimique important lors de la pénétration du stylet dans les tissus du végétal. Il est fort probable que la salive agisse comme un transporteur de stimuli des sensilles de la bouche à l'extrémité du stylet (Miles 1972). La production de salive, contenant des enzymes digestives (lipase, protéase, amylase), est abondante et permet une pré-digestion des tissus de la plante hôte avant l'ingestion (Nuorteva 1954, Schaefer et

Panizzi 2000, Agusti et Cohen 2000, Coll et Guershon 2002). Généralement, le stylet pénètre à l'intérieur des tissus végétaux, bouge rapidement et provoque des lacérations sur les parois cellulaires qui composent ces tissus: mésophylle et parenchyme (Backus 1988). Le contenu des glandes salivaires de *L. lineolaris* ne contiendrait pas de facteurs inhibant ou favorisant la croissance des végétaux attaqués (Nuorteva 1956).

Selon les agroécosystèmes (Fabacées vs Composés), *L. lineolaris* montre des différences pour l'oviposition (Taksdal 1963). La femelle, qui vit plus longtemps que le mâle (Khattat et Stewart 1980), dépose de un à 27 œufs par ponte (Ridgway et Gyrisco 1960a) et jusqu'à 97 durant son cycle de vie (Snodgrass 1996b). La formation des œufs prend sept jours à 25°C (Ma *et al.* 2002). Elle passe environ une minute pour pondre un œuf et ses œufs sont placés les uns à côté des autres dans les tissus de la plante (Painter 1926). Leur incubation prend de 6 à 42 jours en moyenne à des températures allant de 30 à 15°C, respectivement (Ridgway et Gyrisco 1960b). Il a été également observé que les œufs déposés dans les tissus jeunes et tendres d'une plante ont une viabilité plus élevée que ceux pondus dans les parties plus âgées du végétal (Taksdal 1963). Ceci confirme les résultats de Scriber et Slansky (1981) qui rapportent que les feuilles constituent un pauvre substrat pour la croissance rapide et efficace des arthropodes immatures. Les adultes, lors de l'oviposition, cherchent des tissus jeunes (méristèmes) pour permettre une croissance optimale de leurs nymphes. C'est donc en déposant leurs œufs proches des inflorescences, dans un endroit ayant des nutriments qui contiennent une quantité suffisante d'énergie (azote) que leur progéniture aurait une plus grande probabilité de maximiser leur «fitness».

Le temps requis pour qu'une nymphe passe du stade un au stade cinq varie de 15 à 31 jours à des températures allant de 30 à 20°C, respectivement (Ridgway et Gyrisco 1960b). Les nymphes émergentes se dispersent peu et restent regroupées (Wipfli *et al.* 1992). Seuls les adultes de *L. lineolaris* sont capable de voler et de reproduction. Dans le sud du Québec, où les cultures fruitières sont concentrées, on peut observer jusqu'à trois générations de *L. lineolaris* par année (Stewart et Khoury 1976).

L. lineolaris hiberne comme adulte sous de la litière végétale (Boivin *et al.* 1981). Les adultes émergent vers la mi-avril, à des températures supérieures à 8°C, et se dispersent progressivement parmi les plantes printanières en pleine croissance. A cette période de la

saison, *L. lineolaris* se nourrit, entre autres, de bourgeons éclos d'espèces ligneuses tels que la vigne.

1.3 Mouvements effectués par *L. lineolaris* dans un agroécosystème diversifié

L. lineolaris se nourrit sur plusieurs espèces de plantes. Ce sont plutôt les femelles âgées accouplées qui colonisent les nouvelles aires de plantes hôtes que les femelles vierges (Wheeler 2001). L'adulte se déplace généralement d'une plante hôte à l'autre au fur et à mesure que la saison progresse (Stewart et Gaylor 1991). Préférant les méristèmes, *L. lineolaris* cherche des plantes jeunes et riches en nutriments, ce qui est le cas chez la plupart des plantes au moment de la floraison. On peut observer cet insecte sur *Trifolium pratense* en début de saison, sur *Centaurea jacea* en mi-saison et sur *Solidago canadensis* en fin de saison (Boivin *et al.* 1981). Le cycle évolutif de *L. lineolaris* est synchronisé avec le développement des inflorescences de ses plantes hôtes.

Il a été démontré que *L. lineolaris* effectue des déplacements entre plusieurs cultures selon la disponibilité des tissus méristématiques dans l'agroécosystème (Wise *et al.* 2005). Nous traiterons tour à tour les trois aspects suivants :

- 1^o déplacements de ce ravageur pour trouver des tissus succulents ;
- 2^o colonisations des champs cultivés aux alentours des aires boisées ;
- 3^o caractéristiques du vol de l'adulte.

Généralement, les populations de *L. lineolaris* sont plus abondantes sur les mauvaises herbes mais, sous certaines conditions (traitements herbicides), elles peuvent se déplacer sur une grande variété de plantes cultivées: il est donc primordial de prendre en considération la gestion des mauvaises herbes pour les contrôler (Boivin *et al.* 1981, Fleischer et Gaylor 1987, Fleischer et Gaylor 1988, Hardman *et al.* 2004). Le mouvement des adultes vers les champs cultivés se produit lorsqu'il y a une maturation avancée des mauvaises herbes, à la suite de leur fauchage ou encore quand des animaux pâturent (Fleischer *et al.* 1988).

A Vineland (Ontario), la périphérie des parcelles de pêchers a régulièrement un niveau d'infestation plus élevé de *L. lineolaris*, on peut observer des dommages plus importants sur les rangs extérieurs comparés aux rangs situés à l'intérieur du verger (Pree

1985). Ceci suggère que *L. lineolaris* ne passe pas l'hiver dans les cultures pérennes (pommiers, vignes, pêcheurs), mais dans les bois environnants. On observe la même dynamique de déplacements dans la région du delta du Mississippi (Louisiane, Arkansas et Mississippi), où *L. lineolaris* hiverne dans les surfaces boisées avoisinant les champs cultivés et migre au printemps dans les cultures de coton (Cleveland 1982, Mussel *et al.* 2007). Dans cette région, où le coton est la culture principale, les densités de population les plus élevées de *L. lineolaris* ont été observées durant les mois de mai et juin (Snodgrass *et al.* 1984). Au Québec, dans les fraisières, les adultes hivernants migrent sur les hampes florales dès le printemps (Rancourt *et al.* 2000). Les adultes ont pratiquement tous disparu à la mi-juin, car les tissus méristématiques sont moins abondants et la majorité de la population est composée de jeunes nymphes (Bostanian *et al.* 1990).

L. lineolaris peut voler sur une distance de plus de 12 km pendant une période de 12 heures, avec une vitesse maximum de $0,45 \text{ ms}^{-1}$ (Stewart et Gaylor 1994), et sans interruption sur une distance de 5,12 km (MacCreary 1965). La hauteur de vol des adultes se situe majoritairement en dessous d'un mètre (Prokopy et Owens 1978, Boivin et Stewart 1984, Rancourt *et al.* 2000, Blackmer *et al.* 2008), même si certains individus ont été capturés à plus de 1 500 m d'altitude dans les airs (Wheeler 2001).

A l'aide de poudre fluorescente saupoudrée sur les adultes, il a été établi qu'au crépuscule les populations diminuent dans les champs cultivés, suggérant une migration de *L. lineolaris* vers d'autres plantes hôtes présentes dans l'agroécosystème (Fleischer *et al.* 1988). Au Québec, dans les fraisières, les adultes ont été capturées en plus grand nombre aux heures suivantes: de 6h⁰⁰ à 8h⁰⁰, de 10h⁰⁰ à 14h⁰⁰ et de 20h⁰⁰ à 22h⁰⁰ (Rancourt *et al.* 2000). En Californie, à la périphérie d'un champ de cartâmes, le plus grand nombre de captures d'adultes a été enregistré entre 20h⁰⁰ et 22h⁰⁰ (Mueller et Stern 1973).

1.4 Dommages causés par *L. lineolaris* sur diverses cultures fruitières

Les dommages provoqués par *L. lineolaris* sont causés par deux comportements distincts: la nutrition et l'oviposition. Ils seront traités au travers des trois principales productions fruitières de l'est du Canada, soit: la pomme, la fraise et la pêche.

Les pommiers (*Malus pumila*) situés près des boisés sont les plus susceptibles de subir des attaques de *L. lineolaris*, puisqu'ils sont plus près des lieux d'hivernation (Smeesters *et al.* 2001). Au Québec, *L. lineolaris* cause des dégâts aussi bien en se nourrissant qu'en pondant ses œufs et elle est considérée comme un ravageur majeur de cette production (Michaud *et al.* 1990). Elle se nourrit pendant la floraison et empêche la formation des fruits par destruction complète de la fleur, ou en favorisant une chute prématurée des pommes (Hauschild et Parker 1976). La plupart des blessures infligées à la fleur sont situées près de la base des sépales et des pétales dans le pistil (Hammer 1939). *L. lineolaris* commence à se nourrir sur les boutons floraux jusqu'à la chute des pétales (Taylor 1908, Prokopy *et al.* 1979). Une fois la fécondation terminée, elle pond dans la pomme jusqu'à ce que le fruit atteigne un diamètre d'environ un cm. Les adultes deviennent rares passé ce stade, car ils préfèrent migrer sur les mauvaises herbes environnantes qui sont plus tendres (Hammer 1939). Une déformation des fruits peut aussi se produire par l'appareil buccal piqueur - suceur (blessure mécanique) ou par l'injection de sécrétion salivaire toxique dans les tissus de la jeune pomme (Boivin et Stewart 1982).

Dans les fraisières (*Fragaria vesca*) en Ontario, *L. lineolaris* est un des deux ravageurs les plus importants (Dale *et al.* 2008). L'évolution du réceptacle de la fleur du fraisier est induite par des hormones produites par les akènes (Griesser *et al.* 2008). En se nourrissant, *L. lineolaris* vient interférer avec ce processus (Handley 1991). Au microscope électronique à balayage, des individus ont été observés se nourrissant et pénétrant de façon répétée les tissus fragiles du réceptacle (après la fécondation) avec leur stylet (Handley et Pollard 1993). Les dommages sont principalement causés par les nymphes et un seuil économique de tolérance de 0,25 nymphe par hampe florale a été calculé (Mailloux et Bostanian 1989).

Sur les pêchers (*Prunus persica*) aux États-Unis, *L. lineolaris* se nourrit à partir de la floraison jusqu'après la pollinisation. Les dommages typiques sont appelés «face de chat» et ne seraient pas uniquement dus à la perforation mécanique du stylet, mais également à des substances toxiques injectées lors de la piqûre (Porter 1926). Généralement, *L. lineolaris* est un ravageur à faible impact économique en Ontario, bien que peu d'individus puissent causer des blessures nécessitant le déclassement des pêches (Phillips et De Ronde 1966). A Vineland, dans la péninsule de Niagara, la première génération (adultes hivernants) de *L.*

lineolaris peut causer des dégâts importants avec des diminutions de rendement allant jusqu'à 40% (Phillips 1957).

1.5 Contrôle des populations de *L. lineolaris* pour diminuer ses dégâts

Plusieurs insecticides, comprenant différentes matières actives, permettent de contrôler les dommages faits par *L. lineolaris* sur les plantes cultivées (Chagnon et Payette 1990). Les différentes populations de *L. lineolaris* sont génétiquement hétérogènes, le niveau de résistance peut changer selon la provenance géographique des individus capturés.

En laboratoire, sur des adultes de *L. lineolaris* capturés dans un champ non traité situé au sud du Québec, des tests ont démontré une sensibilité élevée aux carbamates et moyenne aux pyréthriinoïdes (Martel *et al.* 1986). Cependant, l'apparition de populations de *L. lineolaris* tolérantes à une concentration donnée d'insecticide est une possibilité. Les moyens de lutte contre *L. lineolaris* sont peu nombreux et la panoplie d'insecticides disponibles pour les agriculteurs nord-américains est limitée, tout comme les moyens de lutte alternatifs. La meilleure façon de contrôler *L. lineolaris* est le contact direct avec un insecticide ou lors de la prise de nourriture sur une plante hôte traitée (Tillman *et al.* 2001).

Dans le Delta du Mississippi, Snodgrass (1996a) a réalisé une étude avec dix insecticides sur trois populations de *L. lineolaris* provenant de lieux différents. Toutes les populations testées ont été sensibles aux insecticides à base de pyréthriinoïdes et des différences significatives de résistance ont été observées. La concentration létale pour 50% d'une population (CL_{50}) variait entre 37,05 à 0,67 μg avec le fenvalerate; le méthyl parathion était le plus toxique, avec des doses aussi basses que 0,26 μg . Avec ces deux insecticides organophosphorés, aucune différence significative ne fût relevée entre les populations testées. Par contre, une étude menée en Ontario révèle que les insecticides à base de pyréthriinoïdes synthétiques sont plus toxiques (cypermétrine = 1,2 ng insecte^{-1}) que d'autres groupes d'insecticides, comme les organophosphorés (azinphos-méthyl = 45,9 ng insecte^{-1}) ou les hydrocarbures chlorés (Pree 1985). Les individus résistants aux organophosphorés ont une activité significativement plus élevée de glutathione *S*-transférase au niveau de leurs ADN (Zhu *et al.* 2007).

Au Manitoba et en Alberta, différentes variétés de canola ont été traitées à deux stades phénologiques critiques contre *L. lineolaris* et, en moyenne par rapport au témoin, les traitements insecticides ont diminué l'importance des populations de 91 et 60% aux stades jeunes siliques et floraison, respectivement (Wise 1996). Le choix du pesticide et le moment de son application sont primordiaux pour obtenir le maximum d'efficacité. La pulvérisation d'insecticides est plus efficace contre les nymphes de *L. lineolaris*, lorsque le canola est au stade jeune silique. L'application d'insecticides permet de diminuer les dommages mais l'augmentation de rendement est parfois faible et le prix du traitement n'est pas justifié. Wise et Lamb (1996) ont observé des différences de rentabilité allant de - 24,76 à + 135,48 \$.

Le niveau de tolérance de *L. lineolaris* aux diverses matières actives est variable dans le temps et décline lorsque les individus sont gardés en cages d'élevage et qu'ils ne sont plus exposés aux pesticides. L'absence de pression de sélection par les insecticides est responsable de ce phénomène. Ainsi, le degré de tolérance de *L. lineolaris* aux insecticides est directement proportionnel à la fréquence d'utilisation des insecticides (Cleveland 1985). Il est aussi important de noter qu'il y a un coût biologique pour développer de la résistance. Par exemple, une femelle résistante (F_1) récoltée dans un agroécosystème soumis à des traitements insecticides pond en moyenne 47,1 œufs, alors qu'une femelle (F_3) prélevée à partir de la même population mais placée dans une cage d'élevage directement après la capture des F_1 pond jusqu'à 62,9 œufs (Snodgrass 1996b).

La période de l'année est également importante pour la récolte des individus à tester. En effet, lors de bio-essais avec des pyréthrinoïdes sur *L. lineolaris*, le niveau de résistance avait diminué significativement de 26,3% entre l'automne 1995 et le printemps 1996 alors que le niveau de résistance, avec des organophosphorés, n'a pas diminué de façon significative (Snodgrass et Scott 2000). Ceci suggère que les niveaux de sensibilités de *L. lineolaris* aux pesticides dans le temps et dans l'espace peuvent mener au développement de résistance.

1.6 Dégâts causés sur la vigne par des Mirides

Les Mirides comptent des insectes ravageurs déjà connus dans la vigne. Pour établir les interactions potentiellement à risque entre *L. lineolaris* et *V. vinifera*, voici des exemples d'effets que peuvent avoir certains Mirides sur la vigne.

Au Tessin (Suisse), la punaise verte [*Lygus spinolai* (Meyer-Duer)], cause des dégâts en vignoble. Les dommages sont surtout observés sur les *V. vinifera* jouxtant les forêts ou les haies. Seules les nymphes semblent provoquer des dégâts sur les jeunes organes verts de *V. vinifera*, avec une préférence pour les bourgeons qui ne sont pas encore éclos. Les dommages observés dans les vignobles suggèrent une ponte des œufs directement dans les bourgeons. Les feuilles et les grappes sont les principaux organes attaqués. Jusqu'à la floraison, l'aspect de la grappe paraît normal. Dans les cas graves, après l'apparition de la fleur, une coulure plus ou moins importante se manifeste et il ne reste que quelques baies sur la grappe. Les dégâts de *L. spinolai* ne sont visibles qu'une fois le stade phénologique G atteint, voir plus tardivement dès le stade phénologique I au moment où les adultes migrent sur d'autres plantes (Caccia *et al.* 1980). Les attaques sont relativement hétérogènes et il est possible de trouver sur un même cep des pousses saines à côté de pousses attaquées. L'hétérogénéité et la gravité des attaques rendent difficile l'établissement d'un seuil de tolérance (Linder et Remund 1996). En cage d'élevage, Caccia *et al.* (1980) ont observé une coulure totale suivie de chute des grappes pour une densité de cinq punaises vertes par pousse. Il est impossible de préciser la nuisibilité directe de *L. spinolai* pour les grappes: les cas de coulures totales ou partielles peuvent provenir également d'une cause météorologique non dissociable des conséquences directes ou indirectes de ces piqûres. Néanmoins, les traitements phytosanitaires effectués au stade phénologique D semblent être le meilleur moment d'intervention pour le viticulteur.

En Caroline du Nord (États-Unis), *Taedia multesignatus* (Reuter) est capturé fréquemment en vignobles, mais ce Miride ne cause pas de problème majeur sur les vignes de cette région (McGiffen et Neunzig 1985). Dans l'état de New York (États-Unis), *T. scrupeus* (Say) est un ravageur des vignobles près du Lac Érié. Les nymphes émergent immédiatement après le stade phénologique B pour se nourrir sur les jeunes pousses et inflorescences en formation, ce qui réduit la croissance du cep et de la grappe (Martinson *et al.* 1998). Sur le

terrain, les adultes ont été observés se nourrissant sur les feuilles et les jeunes pousses, mais jamais après le stade phénologique I. Par contre, en laboratoire sur des grappes du cépage Concord, les adultes sondent sporadiquement les tissus du rachis mais préfèrent se nourrir d'autres nymphes (cannibalisme). Les nymphes se nourrissant sur les grappes, avant le stade phénologique I et de la fin du stade phénologique I au stade phénologique J, ont affecté les rendements de façon significative, soit: une diminution du poids de la grappe de 68 et 71%, respectivement. Les nymphes qui se nourrissent pendant le stade phénologique I n'affectent pas significativement les rendements. Finalement, chaque nymphe de *T. scrupeus* était associée à une perte de 0,18 kg de raisin par cep ou 240 kg ha⁻¹, suggérant qu'une population de 0,5 nymphe par cep provoque un dommage économique assez important pour justifier l'application d'insecticides (Martinson *et al.* 1998).

A New York, *Lygocoris inconspicuous* (Knight) cause également des dommages au cépage Concord (Rhains *et al.* 2002). La densité des nymphes est plus élevée sur les ceps situés à proximité des boisés que sur ceux qui sont à l'intérieur du vignoble. Les nymphes attaquent les feuilles en développement et les jeunes inflorescences après le débourrement des bourgeons. En mettant jusqu'à dix nymphes sur une jeune inflorescence en début de saison, le nombre de baies diminue significativement lorsque la durée d'exposition est de sept jours; toutefois, le poids moyen des grappes de raisin n'est pas affecté. Finalement, Rhains *et al.* (2002) ont calculé que la diminution de rendement causée par une nymphe sur un cep était de 1,6%.

En Virginie (États-Unis), *Acrosternum hilaris* (Say) est fréquemment observé en vignobles. Les adultes et les nymphes ont été observés se nourrissant sur les vignes et ils causent les mêmes types de dégâts. Leur stylet pénètre à l'intérieur des tissus de la vigne et en prélève le contenu. Les méristèmes sont attaqués, ce qui cause une déformation des grappes et des feuilles. Les attaques sur des jeunes baies provoquent la chute prématurée des fruits (Underhill 1934).

A ce jour, aucun article scientifique ne traite spécifiquement de *L. lineolaris* comme ravageur de *V. vinifera*. Dans les vignobles de Pennsylvanie (États-Unis), Jubb *et al.* (1979) ont récolté plusieurs espèces de Miridae dont la plus fréquente était *L. lineolaris*. Au total 197 individus adultes ont été récoltés : 71 dans des vignobles commerciaux, 14 sur les mauvaises herbes, 17 en bordure de champs et 95 dans des vignobles abandonnés ; de plus, au total 39

nymphes ont été observées: 16, 4, 6, 13 dans les mêmes milieux respectivement. Chaque année, du mois de juin à la fin octobre, *L. lineolaris* est présente dans les agroécosystèmes. Toutes années confondues, le pic d'abondance est atteint durant les mois d'août et de septembre. Étant donné son apparition tardive, *L. lineolaris* ne causerait pas de pertes économiques importantes dans les vignobles de Pennsylvanie (Jubb *et al.* 1979). En Caroline du Nord, une étude mentionne la capture sporadique d'adultes de mai à juillet (McGiffen et Neunzig 1985). Au Québec, Bostanian *et al.* (2003) ont capturé des *L. lineolaris* en vignobles durant toute la saison de végétation.

Suite à cette revue de bibliographie, nous constatons que plusieurs mirides peuvent causer des dégâts en vignobles. Ces dégâts peuvent provoquer des diminutions de rendement nécessitant l'application d'insecticides. Les dommages engendrés par ces mirides dépendent de plusieurs facteurs: stade phénologique de la plante hôte, endroit attaqué et stade de l'insecte.

1.7 Objectifs

L'intérêt de cette thèse est d'évaluer l'importance de *L. lineolaris* dans les vignobles québécois et son éventuel impact économique. Dans ce contexte, nous avons étudié l'effet et les conséquences des relations plante - insecte entre *V. vinifera* et *L. lineolaris*. Plus spécifiquement, dans un agroécosystème diversifié de Dunham (Québec, Canada), nous avons observé l'activité des populations de *L. lineolaris* adultes à la périphérie d'un vignoble commercial et déterminé l'impact qu'elle pourrait avoir en se nourrissant durant de courtes ou longues périodes : une heure ou 30 jours, sur les grappes de raisin.

Les travaux de recherche décrits dans cette thèse visent principalement à comprendre les moments (stades phénologiques de la vigne vs stades de développement de l'insecte) où les interactions entre *V. vinifera* et *L. lineolaris* sont les plus critiques. De plus, dans un souci de lutte intégrée, nous tenterons de comprendre le comportement de *L. lineolaris* en vignobles et l'efficacité des moyens de luttés actuellement utilisés.

Plus spécifiquement, les quatre objectifs suivants seront examinés :

- Objectif 1 : Caractériser et déterminer, durant une courte période (1 heure), l'emplacement des attaques par *L. lineolaris* lors de sa prise de nourriture à différents stades phénologiques. L'hypothèse étant qu'aux stades phénologiques B et C, *L. lineolaris* choisirait préférentiellement de piquer dans les bourgeons pour se nourrir de pectine; aux stades phénologiques H et I, elle choisirait la base de l'ovaire (disque nectarifère) et plus particulièrement les nectaires pour se nourrir du nectar, substance sucrée et riche en éléments nutritifs qui permettrait un développement plus rapide des nymphes. Les nymphes et les adultes passent-ils le même temps à se nourrir sur *V. vinifera*?
- Objectif 2 : Évaluer l'effet que peuvent avoir, pendant une longue période (30 jours), différentes densités de *L. lineolaris* relâchées à plusieurs stades phénologiques et mesurer quelle partie de la grappe (rachis ou baies) est responsable des diminutions de poids encourues par *V. vinifera*. L'hypothèse étant que la plupart des plantes cultivées subiraient l'effet des ennemis des cultures (mauvaises herbes, maladies, insectes) et que certaines plantes seraient en mesure de compenser, en partie, les attaques répétées d'insectes. Est-ce que *L. lineolaris* est un ravageur potentiel de *V. vinifera*?
- Objectif 3 : Observer les mouvements des adultes de *L. lineolaris* en fonction des stades phénologiques de *V. vinifera* et de la présence de tissus méristématiques dans l'agroécosystème diversifié et déterminer l'endroit d'hibernation des adultes. L'hypothèse étant que dans les agroécosystèmes diversifiés (vigne, pommier, prairie) les adultes choisiraient, pour se nourrir, les plantes hôtes en fonction de la production de méristèmes. Le périmètre du vignoble est-il plus visité que l'intérieur?
- Objectif 4 : Évaluer l'efficacité de deux insecticides (azinphos-méthyl et cyperméthrine) sur diverses populations de *L. lineolaris* situées dans des régions à forte (Niagara) et faible densité fruitière (La Pocatière). L'hypothèse étant que le nombre de traitements varie d'une région à l'autre et, par conséquent, des niveaux de tolérance différents pourraient être observés. Les insecticides employés pour lutter contre *L. lineolaris* sont-ils toujours efficaces?

2. CHAPITRE I

Lors d'une étude préliminaire pour connaître l'impact de *L. lineolaris* sur *V. vinifera*, nous avons analysé les lésions causées sur les inflorescences (Fleury *et al.* 2003, annexe 2). Nous avons caractérisé les blessures provoquées lors de sa nutrition. Des nymphes de stade trois et des adultes ont été filmé en laboratoire pour localiser et observer les blessures infligées sur l'ovaire aux stades phénologiques H et I. L'analyse histologique du matériel, en microscopie optique et électronique à balayage, a permis d'établir que la zone des nectaires est nettement le lieu privilégié des lésions pendant la floraison. Comme il n'y a pas de relation fonctionnelle entre les nectaires et l'ovaire, la nutrition de *L. lineolaris* sur *V. vinifera* ne constituerait pas un risque majeur aux stades phénologiques H et I.

Pour préciser davantage les différents dommages que *L. lineolaris* serait potentiellement capable de causer au cours de la saison, il nous a paru opportun d'étudier son comportement lors de sa prise de nourriture pendant les stades phénologiques B à L. Cette expérience a été réalisée en laboratoire avec des nymphes et des adultes.

En plus d'observer les dégâts causés par *L. lineolaris* sur *V. vinifera* à différents stades phénologiques, nous avons également étudié le comportement des nymphes et des adultes. Cette étude comportementale de *L. lineolaris* permet de révéler à quels stades phénologiques *V. vinifera* se fait le plus fréquemment perforer par leur stylet et elle a aussi permis de déterminer le temps passé pour la prise de nourriture à chaque stade phénologique testé.

La référence complète du Chapitre 1 est : Fleury D., Paré J., Vincent C. et Mauffette Y. 2006. **Feeding impact of *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae) on *Vitis vinifera*: a behavioural and histological study.** *Canadian Journal of Botany* 84: 493-500.

2.1 Résumé

Des nymphes et des adultes de punaise terne (*Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois)) se nourrissant sur de la vigne ont été filmés en laboratoire pour déterminer l'impact à court terme de la prise de nourriture ponctuelle durant divers stades phénologiques. Le comportement nourricier était significativement différent entre les nymphes et les adultes pour le nombre de perforation, mais pas pour le temps passé lors de chaque piqûre. Les observations en microscopies électronique à balayage et optique montrent que, des stades phénologiques B (bourgeon dans le coton) à F (grappes visibles), les piqûres n'atteignent pas les méristèmes, ces derniers étant enrobés de pectine visqueuse ou filamenteuse. Durant les stades phénologiques H (boutons floraux séparés) et I (floraison), la prise de nourriture était restreinte au disque nectarifère et, comme aucune relation fonctionnelle entre les nectars et l'ovaire existe, les dommages ne présentaient aucune incidence sur le développement ultérieur du fruit. Aux stades phénologiques J (nouaison) à L (fermeture de la grappe), les dommages sont principalement situés sur le pédicelle des baies. Ces pédicelles attaqués et examinés, au stade phénologique suivant, ne montraient aucune trace de blessures. La vigne tolérerait les piqûres ponctuelles faites par cet insecte; les dommages sont minimaux et la production de baies n'est pas réduite.

Mots clés : *Vitis vinifera*, stades phénologiques, *Lygus lineolaris*, nourriture, relations plante-insecte.

2.2 Abstract

Nymphs and adults of the tarnished plant bug (*Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois)) feeding on grapevine were video recorded in the laboratory to determine the short-term impact of feeding punctures at various phenological stages. Feeding behaviour was significantly different between nymphs and adults in the number of punctures but not in the feeding time spent. Observations by light and scanning electron microscopy showed that, from phenological stages B (bud burst) to F (visible cluster), feeding did not cause plant damage and injuries did not impact the meristems, which were coated with viscous or filamentous pectin. During phenological stages H (florets separated) and I (flowering), feeding was restricted to nectar glands, and as there is no functional relationship between nectaries and ovaries, feeding had no impact on normal development of ovaries. In later phenological stages J (berry set) to L (cluster closure, berry touch), most damage was on the pedicels of berries. Pedicels attacked at the next phenological stage show no evidence of injuries. Grapevine appears to tolerate punctual feeding made by this insect; damage is minimal and berry production is not threatened.

Key words: *Vitis vinifera*, phenological stages, *Lygus lineolaris*, feeding, plant-insect relationship.

2.3 Introduction

Insects in the family Miridae, the largest family in the Order Heteroptera, are commonly plant feeders. Species are found on vegetation throughout North America and most feed on plant cells; however, some species are predacious on other insects. Some species are serious pests of cultivated plants, but little is known about the structural damage they cause to their hosts. One of these pests is the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Heteroptera: Miridae), which is commonly found throughout North America (Kelton 1975) and is one of the most polyphagous insects worldwide. It feeds on more than 385 plant species (Young 1986), generally on meristems (Strong 1968). Feeding by this insect is referred to as “lacerate and flush” (Flemion *et al.* 1954) and can be described by the following sequence of events: (i) placement on the plant, (ii) extension of labium with tapping on the substrate (probing), (iii) ejection of saliva and sucking it, (iv) stylet penetration into ingestible food, (v) food ingestion, and (vi) discontinuation of feeding and stylet withdrawal (Hatfield *et al.* 1983). An electrophysiological study of the labium showed that its tip sensilla function as contact chemoreceptors (Backus 1988), which allow tarnished plant bugs to choose plant parts with more sugars or amino acids on which to feed. Feeding can be also determined by the epipharyngeal chemosensitive sensilla (Hatfield *et al.* 1982).

The impact and appearance of damage resulting from *L. lineolaris* feeding is variable and depends on the species of host plant. On apple trees, overwintered adults begin feeding in the spring from the dormant bud stage to petal fall, and injuries occur on the calyx tube near the base of sepals and petals (Hammer 1939, Prokopy *et al.* 1979). On strawberries, they feed on achenes, and once the receptacle enlarges, they prefer the receptacle. Feeding causes a distinctive aggregation of achenes at the apical end of the receptacles, with an accompanying lack of development (Handley and Pollard 1993). On peaches, injury is indicated by a water-soaked area over which the pubescence is darker and the tissues are soft, leaving a cavity under the epidermis called “cat-facing” (Phillips 1957, Phillips and De Ronde 1966).

There are only a few records of tarnished plant bug feeding on grapevines (*Vitis vinifera* L.) (Vitaceæ). Crosby and Leonard (1914) stated that *L. lineolaris* is occasionally injurious while Kelton (1975) and McGiffen and Neuzing (1985) reported grapevine as a host. In a survey of grapevines in Erie County, Pennsylvania, by Jubb *et al.* (1979), tarnished

plant bug was the most numerous collected mirid. Bostanian *et al.* (2003) observed nymphs and adults from early spring until harvest in two Quebec vineyards.

In contrast with plants with determinate growth such as apples, strawberries, and peaches, grapevine is a crop that constantly produces meristematic tissues. As *V. vinifera* grows continuously throughout the season, *L. lineolaris* has renewed substrate to feed on and may not concentrate its feeding on the same plant parts or groups of cells.

In order to understand the feeding relationships of *L. lineolaris* on *V. vinifera*, we first determined if third-instar nymphs and adults can feed on cultivated grapes at 11 different phenological stages. We then characterized the physical damage caused by nymphal and adult feeding by using histological techniques. Finally, we quantified some behavioural parameters related to feeding to determine if there are differences between adults and third-instar nymphs.

Tarnished plant bugs overwinter as diapausing adults beneath plant litter. Overwintered adults resume activity at temperatures $> 8^{\circ}\text{C}$ and they feed on reproductive parts of plants (i.e. buds of flowers) or rapidly growing meristematic tissues (Bostanian 1994). Once the host becomes lignified, they migrate to other annual plants that have meristematic tissues. There are five nymphal instars before adulthood.

2.4 Materials & Methods

At the beginning of the season, tarnished plant bug adults and the grapevine “Seyval Blanc” were collected from L’Orpailleur’s vineyard, in Dunham ($45^{\circ} 06' \text{ N}$, $72^{\circ} 51' \text{ W}$), Eastern Township, Quebec, Canada. The shoots were grown in pots with BX Pro-Mix™ in a greenhouse (16 h light: 8 h darkness, $20\text{-}25^{\circ}\text{C}$). The plants were watered weekly with water soluble fertilizer (a blend of 20-8-20 and 14-0-14 mixed at 1:100 with water) to obtain the desired phenological stages of the grapevine. This procedure resulted in insect-free material, such that the injury observed on the grapevine was attributable only to *L. lineolaris*. Tarnished plant bugs were reared at 25°C on potato germs and organic lettuce in a controlled chamber, under a photoperiod of 16 hours of light (source: 22 neon Philips Durotests® of 30 W with a length of 89 cm) and 8 hours of darkness.

The phenological stages of grapevine of Baillod and Baggiolini (1993) were used. At phenological stage B (bud burst), we assayed only adults because only overwintered adults

are present in the vineyard early in the season. This was the only stage available in mid-May 2004 in the vineyard and in the greenhouse. This stage signals the beginning of cellular multiplication. At phenological stage C (green tip), buds expand until a tiny green tip indicates the development of leaves. At phenological stage D (emerging leaves), buds are open and leaves start to develop. At phenological stage E (first flat leaves), leaves are developed and start to photosynthesize. At phenological stage F (visible cluster), during late May and early June, young clusters could be observed in the vineyard. At phenological stage G (separated cluster), we can distinguish small florets on clusters, and the presence of nectar. At phenological stage H (florets separated), clusters open completely and the nectariferous disc are fully developed. At phenological stage I (flowering), from mid-June to early July, small inflorescences appeared. At phenological stage J (berry set), after pollination, development of grapes occurs and young berries start to grow and nectariferous glands disappear. At phenological stage K (pea size), the berries grow and are still firm to the touch. Finally, at phenological stage L (cluster closure - berry touch), berries are softer and light can not pass throughout the cluster.

For light microscopy, samples of grapevine were fixed in a formalin - acetic acid - ethanol (2:1:17 by volume) mixture (Johansen 1940, Langeron 1949). The standard paraffin method of tissue dehydration and embedding and serial sectioning (20 μ m) was followed. Serial sections were stained with Heidenhain's iron alun - hematoxylin (Langeron 1949). Histological material was examined with light microscopes (Leitz Orthoplan or Leica Wild MZ8). Images were taken digitally by a Nikon Coolpix 5000 camera.

For scanning electron microscopy, samples of grapevine were fixed with 4% glutaraldehyde solution in 0.1 mol sodium cacodylate/L buffer (pH 7.4) at room temperature. After a wash in the buffer, the material was dehydrated in a graded acetone series, and critical-point dried with CO₂ (Cohen and Garnier 1971, Guillaumin 1980), then mounted on stubs using double-sided sticky tape and sputter-coated with a thin layer of gold - palladium (10nm) for examination with a Philips type XL 30 Feg scanning electron microscope, operating at 5 Kv.

Adults or third-instar nymphs were starved for 4 h before experimentation. They were then offered pieces of grapevine at the various phenological stages, in a transparent cage,

which was a Petri plate (diameter of 9.5 cm) in glass for cut plant parts or a cylinder (10 cm by 4 cm) in polystyrene for the living plant. Experiments were run at approximately 21°C under artificial light to allow video recording of the single insect per cage. Individuals were unsexed and used only once before they were fixed in solution for further examination. Behaviour of the bug was video recorded for 1 h at each phenological stage of the grapevine. The tarnished plant bugs were either walking or sessile. Four types of behaviour were observed when the bugs were arrested: resting, grooming, probing and feeding. Among them, occurrence of probing (i.e., number of punctures with stylet penetration) and feeding (i.e., food pumping) were tallied. Periods when the mouthparts penetrated the plant for more than 30 s were counted as feeding. Video recordings were conducting on 34 third-instar nymphs and 37 adults placed on 49 reproductive structures of the grapevine. After the insects fed, samples of the grapevine were collected and immediately fixed. Among these, several samples were allowed to grow and they were fixed at the next phenological stage (n+1) in a formalin - acetic acid - ethanol or glutaraldehyde solution for examination in light microscopy or scanning electron microscopy, respectively. One of the criteria used for selecting samples for microscopy was the number of punctures and the time that the insect spent on a given structure. A second criterion was the presence of apparent damage as revealed by examination with a dissecting scope.

The number of punctures and the time (in seconds) spent feeding by third-instar nymphs or adults were analysed with the General Linear Model (GLM) procedure and the Least Square Means (LSM) of the SAS package (SAS Institute, 2001). For third-instar nymphs or adults, the number of punctures and feeding times were analyzed across grapevine phenological stages with the GLM procedure at $p = 0.05$. The number of punctures within a given phenological stage, and the feeding time was compared between third-instar nymphs and adults with the GLM procedure at $p = 0.05$.

2.5 Results

Adults and third-instar tarnished plant bugs fed on tissues of grapevine for 30 s to 45 min. Videotapes showed that this insect repeatedly probed numerous sites briefly before prolonged feeding was initiated. Feeding commonly occurred on either buds, ovaries or berries, the only soft-tissue plant material available to the insect. Adults and third-instar

nymphs showed the same type of attacks and caused similar injuries. There were significant differences among phenological stages for both third-instar nymphs ($P = 0.008$) and adults ($P = 0.018$) for the number of punctures (Table 1). No significant differences were observed across phenological stages for duration of feeding. At a given phenological stage, there was a significant difference in the number of punctures between third-instar nymphs and adults only for phenological stages D (df 7, $F = 22.5$, $P > 0.0032$), E (df 12, $F = 8.38$, $P > 0.015$), F (df 6, $F = 14.3$, $P > 0.013$), G (df 5, $F = 40.5$, $P > 0.031$) and H (df 8, $F = 28.5$, $P > 0.001$) (Table 1).

When phenological stage B was reached, buds were presented to adults for feeding (Fig. 1A). Light microscopy revealed that they were coated with a viscous substance outside scale leaves (suberin) (Fig. 1B). Inside the buds, between leaf primordia and around meristems, a syrupy and sticky compound (pectin) was observed (Figs. 1C and D). Observations of serial longitudinal sections under light microscopy revealed attacked zones at the basal part of the bud (Figs. 1E and F). Stylet insertion through the tissues of the external leaf primordia injured the epidermis and lacerated the cells of underlying tissues (Fig. 1G). Injuries were restricted to external zones of buds and never reached the meristems, which showed normal development.

The syrupy and sticky substance inside and around meristems was found from phenological stages B to F. It appears to be a food source for this insect, as at phenological growth stages B – F, punctures of this insect did not reach meristematic tissues, and if feeding on the substance occurred, it was outside the meristems.

Video recordings showed adults and third-instar nymphs feeding at phenological stages C, D and E (+ B for adults only). Scanning electron microscopy detected no injury at the cellular level and the attacked buds reached phenological stage E normally. One bud was punctured at phenological stage E in the main vein of the first external young leaf. After this attack, the bug was removed and there was no damage on the first external leaf compared to the control when the grapevine reached phenological stage F. Between phenological stages E to G, little damage was caused by insect feeding which was restricted to the main vein of young leaves.

At phenological stage F, the main feeding site was the top of the young cluster (Fig. 2A). At this phenological stage, we observed that the syrupy substance (Fig. 2B) turned dry and filamentous when exposed to air (Fig. 2C). The tarnished plant bug did not feed on this dried substance (pectin). The stylet penetrated the pectin and no injury was observed in meristematic tissues of the future inflorescence. Bugs attacked leaf primordia to seek feeding sites on veins, between the filamentous pectin (Fig. 2D). Light microscopy revealed small holes in the external part of the vein after the insect penetrated and lacerated epidermis cells (Fig. 2E).

During phenological stages H and I, *L. lineolaris* readily fed only upon the nectariferous disc zone located at the basal part of the ovary. Scanning electron and light microscopy revealed that nectar glands were the only feeding sites (Fig. 3A). Epidermal cells surrounding the lesion after penetration of the stylet appeared to be collapsed as a result of feeding (Figs. 3B and C); feeding holes were four to six epidermis cells in length and three to five layers of cells in depth (Fig. 3C).

A sample punctured at phenological stage I was collected at phenological stage J. The punctured zones were in the upper part of the inflorescence at phenological stage I. Observations of the attacked grape with the scanning electron microscope at phenological stage J showed no damage.

Insects were videorecorded during feeding episodes on the pedicel of young berries at phenological stages K and L (Fig. 4A). Attacks were located on the upper part of the pedicel, mainly in the thick portion of it (Fig. 4B). The injuries consistently showed the same typical aspect of a long and widen lesion, with lacerated plant tissues (Fig. 4C).

2.6 Discussion

Once they reached a suitable substrate of *V. vinifera* on which to feed, *L. lineolaris* probed the plant several times with their rostrum before penetrating tissues with their stylets. Third-instar nymphs and adults consistently probed and fed on the material after a starvation period.

The viscous substance around buds and outside scale leaves is suberin (Jones *et al.* 2000). Inside the bud, between leaf primordia and around meristems, the syrupy and sticky

compound is pectin (Jones *et al.*, 2000). It is produced in large quantity by *V. vinifera* and is composed of a galacturonic chain (pectic acid) that, once hydrolyzed, yields methylic alcohol during fermentation (Champagnol 1984). Pectin acts as a supercooling barrier that protects the meristematic tissues from cold temperatures (Jones *et al.* 2000). Tarnished plant bugs fed preferentially on suberin (outside) and pectin (inside), and do not damage meristematic tissues of the grapevine.

From phenological stages B to F, *V. vinifera* produces pectin. *Lygus lineolaris* saliva contains several digestive enzymes, including pectinase (Miles 1972). Tarnished plant bug can withdraw food without damaging tissues, including meristematic tissues. It likely fed on pectin inside the bud, a feeding strategy for overwintered adults foraging for food in spring when other tissues are unavailable in the agro-ecosystem. Little damage was observed between phenological stages E and G because young leaves play an essential role in apical dominance (Fournioux 1998). The insect then restricted its feeding to the main vein of young leaves, which did not alter the normal growth of the plant.

At phenological stages H and I, feeding damage by the tarnished plant bug was restricted to the nectar glands in the nectariferous zone at the basal part of the ovary. Nectar may be targeted by this insect because it is composed essentially of sugars. As there is no functional relationship between nectaries and ovaries, the feeding impact of *L. lineolaris* at these phenological stages is marginal from an agronomic standpoint (Fleury *et al.* 2003).

During phenological stages K and L, most feeding was in the upper part of the pedicel immediately subtending the berries. The pedicel is composed of 78% - 80% water, 3% tannins, 2% - 2.5% mineral matters, 1% - 1.5% nitrogenous compounds, and 1% sugars (Galet 2000). So, the few nutrients contained in the pedicel were chosen by *L. lineolaris* for feeding instead of the developed berries. The basal part of the pedicel is lignified and therefore unlikely to be attacked. The other parts of the pedicel became increasingly lignified, making them more difficult for stylet penetration.

In conclusion, videorecordings showed that third-instar nymphs or adults of *L. lineolaris* feed on *V. vinifera* from phenological stages B to L. Our experimental design allowed 60 min of attacks by one individual in a closed system (no-choice experiment). We determined that feeding behaviour was significantly different between third-instar nymphs

and adults for the number of punctures at phenological stages D-H, but not for the feeding time spent on a given substrate.

Observations by light and scanning microscopy revealed that, under our experimental conditions, *L. lineolaris* caused minor damage to *V. vinifera* tissues. The insect likely fed on suberin outside and pectin inside the bud. In spite of repeated attacks on specific reproductive plant parts, the grapevine developed normally when examined at the subsequent growth stage. Within this closed system, feeding of tarnished plant bugs on reproductive parts of the grapevine were investigated, notably their feeding impact at an histological level. In an open system, such as vineyards, the situation should be different as grapevine meristems as well as weeds are abundant and *L. lineolaris* populations may fluctuate throughout the season. Therefore, we would expect damage to be less severe in an open agroecosystem.

Table 2.1: Mean number of punctures and feeding time by *Lygus lineolaris* third-instar nymphs and adults at different phenological stages of *Vitis vinifera*.

Phenological Designation	Phenological stages	Number of punctures		Feeding Time (seconds)	
		Nymphs (<i>n</i>)	Adults (<i>n</i>)	Nymphs	Adults
B	Bud burst	na	3.80 ± 0.62 ^{bcd} (4)	na	442 ± 142
C	Green tip	2.16 ± 0.28 ^b (4)	2.75 ± 0.69 ^{bcd} (5)	410 ± 104	385 ± 187
D*	Emerging leaves	2.00 ± 0.28 ^b (5)	7.00 ± 0.98 ^a (4)	230 ± 108	357 ± 165
E*	First flat leaves	1.83 ± 0.28 ^b (4)	4.43 ± 0.52 ^b (5)	335 ± 113	579 ± 111
F*	Visible cluster	2.00 ± 0.31 ^b (4)	4.00 ± 0.98 ^{bcd} (4)	355 ± 118	465 ± 219
G*	Separated cluster	1.33 ± 0.40 ^b (5)	4.33 ± 0.80 ^{bc} (5)	792 ± 187	660 ± 172
H*	Florets separated	1.25 ± 0.35 ^b (8)	3.80 ± 0.62 ^{bcd} (8)	600 ± 167	826 ± 142
I	Flowering	na	2.33 ± 0.80 ^{cde} (8)	na	746 ± 234
J	Berry set	na	2.00 ± 1.39 ^{bcd} (4)	na	330 ± 438
K	Pea sized berries	4.00 ± 0.49 ^a (4)	3.00 ± 0.80 ^{bcd} (4)	474 ± 132	747 ± 206
L	Cluster closure	2.00 ± 0.40 ^b (4)	1.67 ± 0.80 ^d (4)	637 ± 153	804 ± 277
Df		7	10	7	10
<i>F</i>		3.50	2.74	1.61	0.95
<i>P</i> > <i>F</i>		0.008	0.018	0.15	0.49

Note: Phenological designation and stages are as described in Baillod and Baggiolini (1993). *n*, number of individuals tested at each phenological stage; na, not available. Different letters within a column indicate significant statistical differences according to GLM test (*P* = 0.05)

* For a given phenological designation, an asterisk indicates a significant difference between the number of punctures inflicted by third-instar nymphs and the number inflicted by adults

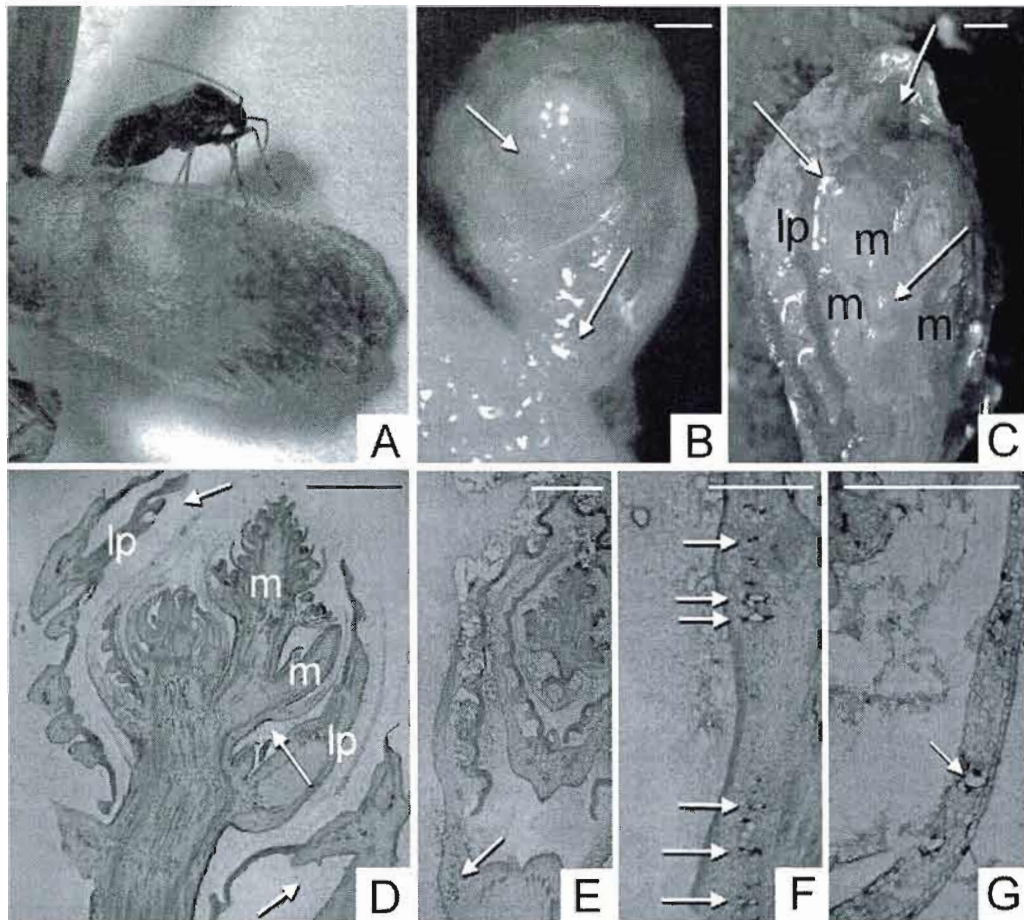


Figure 2.1: Injuries caused by *Lygus lineolaris* during feeding on buds of *Vitis vinifera* at phenological stage B

- A) Adult bug with mouthparts inserted into a bud
- B) Bud coated with suberin (arrows)
- C) Bud showing leaf primordia (lp) and meristems (m) in pectin (arrows)
- D) Meristematic tissues in control bud; longitudinal section observed by light microscopy. lp: leaf primordium, m: meristems, pectin (arrows)
- E) Injuries caused by feeding at the base of a bud (arrow)
- F) Close up of Fig. 2.1 E showing lesions at the base of a bud (arrows), observed by light microscopy
- G) Lesions on the external leaf primordium of a bud (arrow)

Scale bars = 1mm (Figs. 2.1B, 2.1C, 2.1D, and 2.1E) and 500 μ m (Figs. 2.1F and 2.1 G)

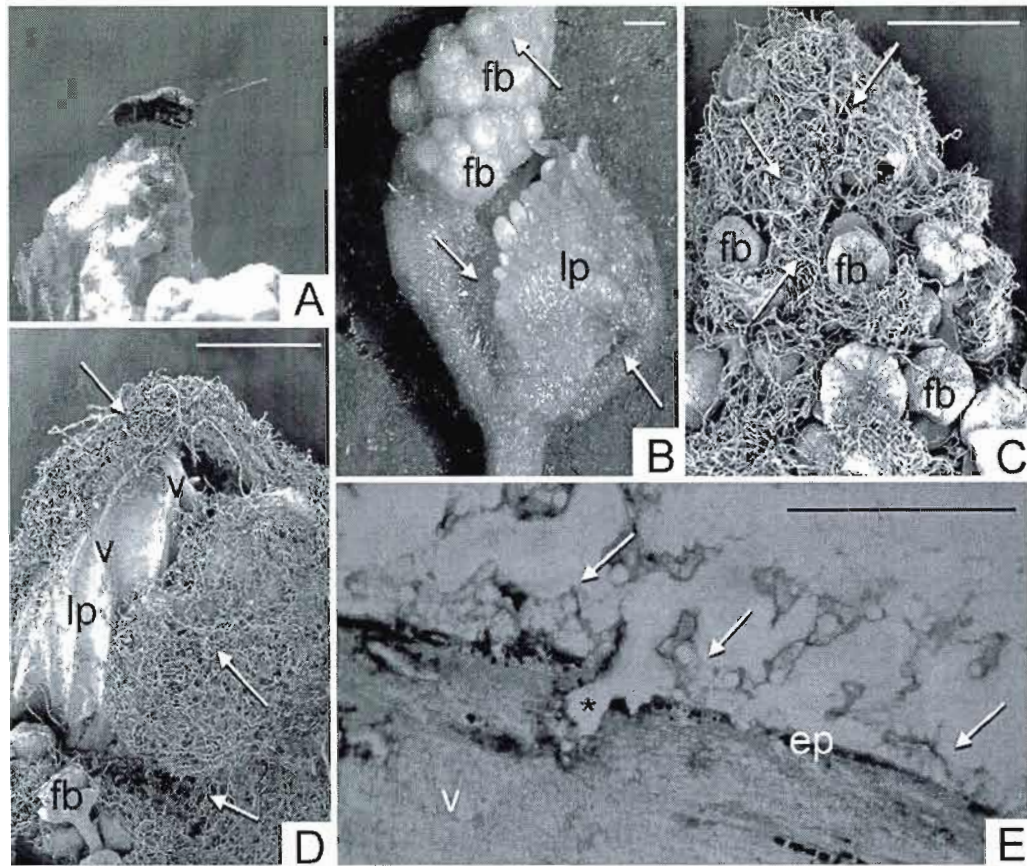


Figure 2.2: Injuries caused by *Lygus lineolaris* during feeding on *Vitis vinifera* at phenological stage F

- A) Adult bug puncturing visible young grape
- B) Very young flower buds (fb), leaf primordium (lp), both coated with pectin (arrows)
- C) Flower buds, coated with filamentous dried pectin (arrows), observed by scanning electron microscopy
- D) Leaf primordium and flower buds coated with dried filamentous pectin (arrows) observed by scanning electron microscopy. v, veins
- E) Aspect of an injury (asterisk) at the level of the main vein of leaf primordium, longitudinal cut observed in light microscopy. ep, epidermis, pectin (arrows)

Scale bars = 1mm (Figs. 2.2B, 2.2C, and 2.2D) and 500 μ m (Fig. 2.2E)

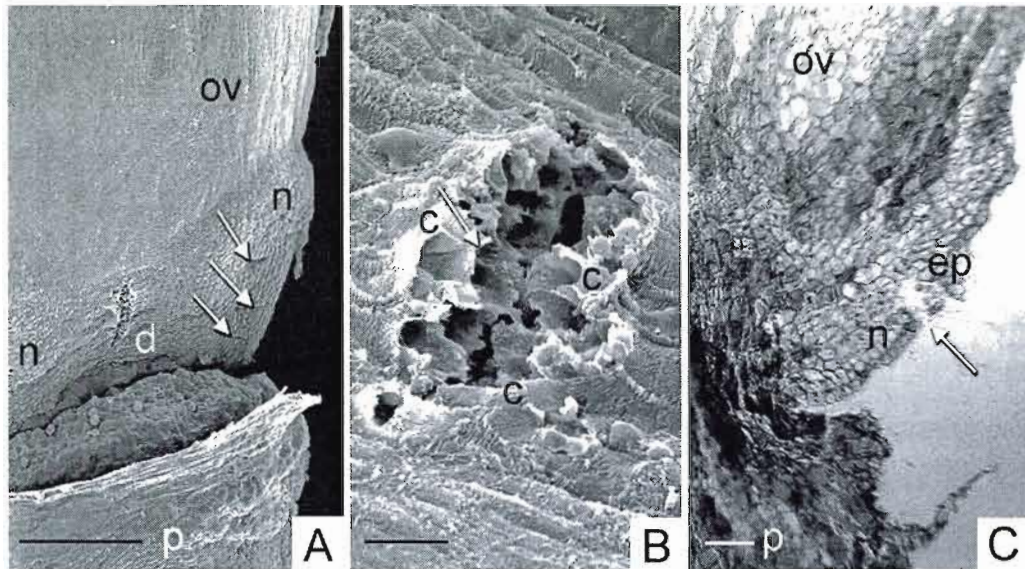


Figure 2.3: Injuries caused by *Lygus lineolaris* feeding on nectar glands at the base of an ovary of *Vitis vinifera* at phenological stages H and I. Photograph from Fleury *et al.* (2003)

- A) Lesions (arrows) on the nectar gland (n) observed by scanning electron microscopy. ov, ovary; p, pedicel; d, nectariferous disc
- B) Narrow and deep injury after feeding on nectar gland observed by scanning electron microscopy. c; cuticle, tissues and cell wall breakdown (arrow)
- C) Injury after feeding on nectar gland; longitudinal cut observed by light microscopy. ep, epidermis

Scale bars = 200 μm (Fig. 2.3A), 20 μm (Fig. 2.3B), and 3 μm (Fig. 2.3C)

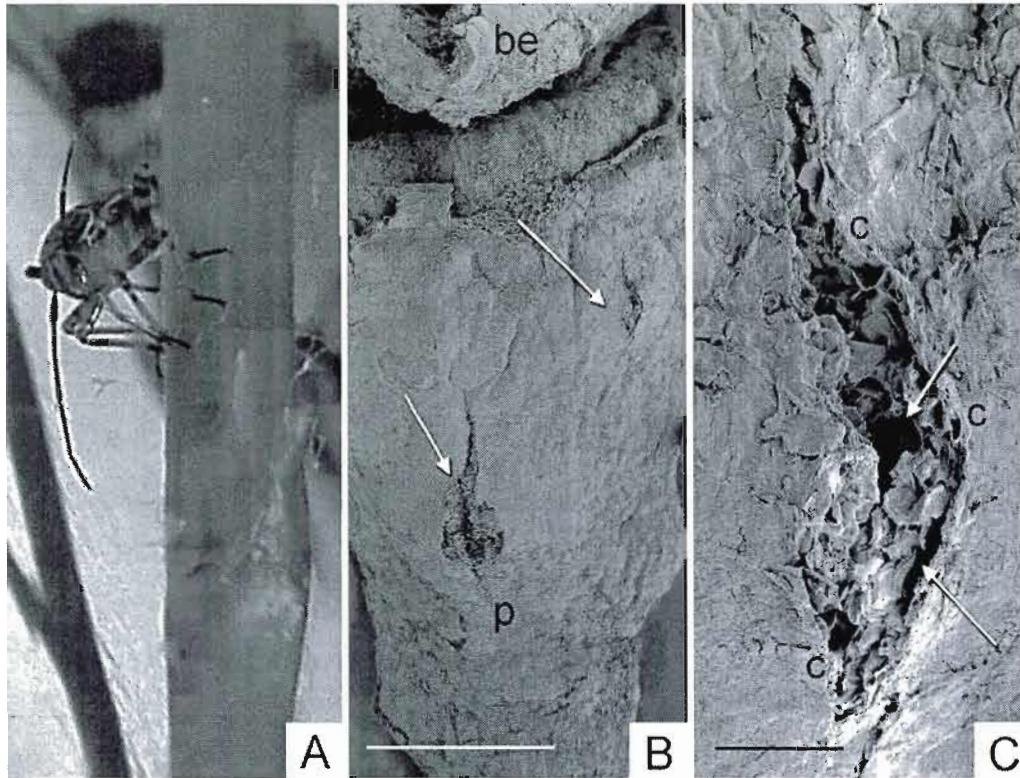


Figure 2.4: Injuries caused by *Lygus lineolaris* feeding on pedicel of a *Vitis vinifera* berry at phenological stages K and L

- A) Adult puncturing the upper part of the pedicel subtending the berry
- B) Aspect of two injuries (arrows) on the upper part of the pedicel supporting a berry (be) at the phenological stage L observed in scanning electron microscopy. p, pedicel
- C) Close up of Fig. 2.4B showing typical aspect of an injury caused by feeding, long and wide lesion, observed in scanning electron microscopy. c, cuticle; tissues and cells wall break-down (arrows)

Scale bars = 500 μ m (Fig. 2.4B), 50 μ m (Fig. 2.4C)

3. CHAPITRE II

En Amérique du Nord, depuis plus de 15 ans, les superficies viticoles ont augmenté considérablement. Les viticulteurs manquent de données scientifiques leur permettant de gérer de façon optimale *L. lineolaris* dans leurs vignobles. Compte tenu de l'importance de *L. lineolaris* comme ravageur reconnu dans plusieurs cultures fruitières (pommier, fraisier, framboisier), il nous a paru opportun d'étudier l'impact de *L. lineolaris* sur le rendement de *V. vinifera*.

Cette étude vise à évaluer le nombre de *L. lineolaris* par grappe qui pourraient engendrer des pertes de rendement significatives justifiant le recours à un moyen de lutte. Avec cette étude, les agronomes et les vignerons seront en mesure de prendre des décisions éclairées pour contrôler *L. lineolaris* en vignoble. Ce sera un pas vers la lutte intégrée.

En plus du nombre de *L. lineolaris* par grappe, il faut aussi tenir compte du stade phénologique de *V. vinifera* car, selon la plante hôte attaquée, plus une plante vieillit, plus les dégâts engendrés par un ravageur peuvent être d'importance inégale. Pour évaluer l'impact de *L. lineolaris* (adultes et nymphes) sur *V. vinifera*, nous avons relâché différentes densités de *L. lineolaris* à plusieurs stades phénologiques critiques de *V. vinifera*. Déterminer le poids complet des grappes, compter et peser les baies et les rachis nous ont permis d'expliquer les réponses de *V. vinifera*.

Selon le stade phénologique, les plantes attaquées ont des réponses différentes aux blessures causées par *L. lineolaris*. Certains végétaux sont en mesure de compenser les pertes. Nous déterminerons à partir de quelle densité de *L. lineolaris*, *V. vinifera* accuse une perte significative de rendement.

Le manuscrit du Chapitre 2 sera soumis pour publication dans la revue scientifique *Journal of Economic Entomology* et son titre sera : «**Impact of prolonged feeding by *Lygus lineolaris* on *Vitis vinifera* in the field**». Ses auteurs seront : Fleury D., Bostanian N.J., Mauffette Y., Vincent C., Panneton B. et Lasnier J.

3.1 Résumé

La punaise terne, *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae), est un mirid extrêmement polyphage qui se nourrit sur plusieurs cultures. Cependant, nous connaissons peu l'impact des piqûres sur la production de raisin (*Vitis vinifera*). En plein champ, pendant trois ans, nous avons testé l'impact de la prise de nourriture de *L. lineolaris* sur *V. vinifera*. Notre expérience avec mousselines implantée dans un vignoble commercial indique que les nymphes et les adultes peuvent affecter la croissance des grappes de raisin, mais que leurs effets sont dépendants de la saison. La prise de nourriture par *L. lineolaris*, a toujours provoqué la diminution de rendement total des grappes de raisin et le nombre de baies à maturités, par contre le poids moyen des rafles et des baies a diminué ou augmenté. Les nymphes avaient un impact plus important que les adultes sur la croissance des grappes de raisin et les quatre stades phénologiques testés (sortie des feuilles, apparition des grappes, floraison et croissance des baies) étaient tous de sensibilité similaire. En général, l'impact de *L. lineolaris* est très variable.

Mots clés : *Lygus lineolaris*, nymphes, adultes, stades phénologiques de *Vitis vinifera*, vignoble, baies, rafles et grappes.

3.2 Abstract

The tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae), is a highly polyphagous mirid that feeds on a broad range of crops. However, little is known about its importance in grape production (*Vitis vinifera*). In a three-year field study, we tested the impact of long term feeding by *L. lineolaris* on *V. vinifera*. Our enclosure experiments in a commercial vineyard indicated that feeding by nymphs and adults can affect the development of grape clusters, but these effects are highly seasonal. Whereas feeding insects always decreased yield and the number of berries ripened, the mean weight of stalks and berries could increase or decrease in the presence of *L. lineolaris*. Nymphs had a more pronounced impact on the growth of grape clusters than adults and the four phenological plant stages tested (i.e. leaf burst, cluster appearance, bloom and berry development) were all of similar susceptibility. Overall, the impact of *L. lineolaris* is highly variable.

Key words: *Lygus lineolaris*, nymphs, adults, phenological stages of *Vitis vinifera*, vineyard, berries, stalks and clusters.

3.3 Introduction

The tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Heteroptera: Miridae), is a pest commonly found from Mexico to Alaska (Kelton 1975). It is a highly polyphagous insect that feeds on more than 385 host plants across North America, including 130 economically important crops (Young 1986). *L. lineolaris* can cause various types of plant damage and its detrimental effect depends on the crop. On peach, the damage of *L. lineolaris* after bloom is described as cat-facing and feeding may decrease yield by 17% (Phillips 1957; Phillips and Ronde 1966). Damage and yield loss of strawberries and apples increases linearly with the number of *L. lineolaris* present (Schaefers 1980, Mailloux and Bostanian 1988, Michaud *et al.* 1989). After bloom, feeding by *L. lineolaris* can cause apple abortion and feeding punctures that develop either into characteristic circular depressions or small scabs on the ripe fruit (Hammer 1939). In all these examples, misshaped and damaged fruits are unmarketable for the fresh market.

Little is known on the importance of *L. lineolaris* feeding on grapevine (*Vitis vinifera*) production. At present, *Taedia scupeus* and *Lygocoris inconspicuus* are considered as the most important mirid pests on *V. vinifera* in North America. Both mirid species decreased yield significantly (i.e. $\leq 65\%$), in particular, when they attacked *V. vinifera* before bloom (Martinson *et al.* 1998, Rhains *et al.* 2002). In Switzerland, *Lygus spinolai*, another close relative of *L. lineolaris*, is also well known for damaging *V. vinifera* leaves and clusters, but attacks vary from season to season (Caccia *et al.* 1980, Linder and Remund 1996). The impact of *L. lineolaris* on *V. vinifera* is poorly understood. Crosby and Leonard (1914) observed *L. lineolaris* feeding on *V. vinifera*. Jubb *et al.* (1979) reported that *L. lineolaris* was the most abundant mirid in Pennsylvanian vineyards and they concluded that, because of its appearance late in the season, its effect on grape production was negligible. Bostanian *et al.* (2003) captured nymphs and adults of *L. lineolaris* in Quebec vineyards throughout the growing season. Short-term exposure experiments at early phenological stages of *V. vinifera* revealed that nymphs and adults of *L. lineolaris* can cause minor damage to buds and berries (Fleury *et al.* 2006). The influence of long-term feeding by *L. lineolaris* remains unknown.

The effect of a prolonged feeding by *L. lineolaris* on *V. vinifera* is necessary in the context of an integrated pest management program. In enclosure experiments we aimed to assess its importance for grape production. The following questions were addressed: 1) what

is the impact of feeding by *L. lineolaris* on clusters? 2) are there differences between nymphs and adults feeding? 3) which phenological stage of *V. vinifera* is most susceptible to *L. lineolaris* feeding? and 4) which parts of clusters (i.e. stalk or berries) are the most vulnerable to *L. lineolaris* feeding?

3.4 Materials & Methods

Biology. In Canada, the life cycle of *L. lineolaris* lasts three to four weeks and two to three generations per year can occur (Stewart and Khoury 1976). Nymphs and adults of *L. lineolaris* were captured in the field on a regular basis to maintain and refresh our laboratory culture. They were reared on potato germs and organic lettuce at 25°C and L/D: 16/8 h (Stevenson and Roberts 1973).

Study site. The study was conducted from 2002 to 2004 at L'Orpailleur, a commercial vineyard located in Dunham (Québec, Canada). Most of the vineyard was planted with cv Seyval Blanc (80%) and the remaining with cv Marechal-Foch (20%). The vineyard was managed according the local commercial practices. For winter protection, rootstocks were covered in autumn with 30 to 40 cm of soil, which was removed the following spring. Weeds were managed with the application of two treatments of: 1) diuron (Karmex 80W) and 2) simazine (Simadex). Diseases were managed with the application of seven treatments of: 1) captan (Captan 50 WP), 2) folpet (Folpan 50 WP), 3) kresoxym-methyl (Sovran), 4) o-ethyl phosphonate (Ridomil Gold-MZ), 5) mancozeb / dinocap (Dikar), 6) metiram (Polyram 80 WP) and 7) myclobutanil (Nova 40 WP). In June, leafhoppers were managed with one application of permethrin (Pounce EC at 138 g ai/ha) and one application of azinphosmethyl (Guthion 50 WP at 400 g ai/ha). In the experimental plot, only fungicides and herbicides that are mentioned above were applied. The entire experimental plot was surrounded by a buffer zone in order to reduce insecticides drift. The experimental plot was part of a 7.5 ha commercial block and spanned five rows of the grape cv Seyval Blanc, each 120 m long.

Experimental Design. The impact of long-term feeding of *L. lineolaris* on *V. vinifera* was studied in an enclosure experiment and the following factors were manipulated: 1) the stage of *L. lineolaris* (adults vs nymphs), 2) the density of *L. lineolaris* (0, 1, 2, 4, 8 or 16 individuals per sleeve cage) and 3) the phenological plant stages of *V. vinifera* (four different stages between leaf burst and berry development). In the experimental plot, one third of *V.*

vinifera were wrapped within sleeve cages, which covered the whole vine. Sleeve cages were made of nylon gauze of 0.5 mm mesh size. They were 1.5 m long and had a diameter of 48 cm. They were set up in a randomized block design in early May, at the bud burst of *V. vinifera*. Two days after the set-up, sleeve cages were opened and vines were treated with cypermethrin (Cymbush 250 EC at 250 g ai/L) in order to kill all present insects. One week later, vines and sleeve cages were washed with water to remove the residues of insecticide. The day the insects were released, we standardized vines by cutting off four buds or clusters per sleeve cage. As stated above, nymphs and adults of *L. lineolaris* were released at six different densities between zero (=control) and 16 individuals per sleeve cage. Released nymphs were in the first or second instar. Released adults were three days old maximum. All nymphs and adults were left in the sleeve cages for 30 days. The exposure period corresponded to the nymphal development time (1st instar to adult) and to the average lifespan of adults (Bostanian, 1994). After these 30 days, sleeve cages were opened and vines were once again treated with cypermethrin in order to kill all exposed individuals of *L. lineolaris*. Thereafter, sleeve cages were closed and vines continued growing in the cages until harvest.

Insect releases were conducted at four phenological stages of *V. vinifera*: 1) leaf burst, 2) cluster appearance, 3) bloom and 4) berry development. Leaf burst corresponded to the phenological stages green tip (C) and emerging leaves (D); cluster appearance to visible cluster (F) and separated clusters (G); bloom to florets separated (H) and full bloom (I); berry development to berry set (J) and pea size berries (K) (classification and abbreviations according to Baillod and Baggiolini 1993). In neither of the three years, all four phenological plant stages could be tested (see Table 1). All treatments were replicated six times in 2002 and five times in the following two years.

Data collection and analysis. During mid September, *V. vinifera* clusters inside the sleeve cages were harvested and weighed. After weighting, they were put in plastic bags, transported to the laboratory inside coolers and stored in a cooling chamber at 3-4 °C. Few days later, the number of berries per cluster was counted and each berry and stalks were weighted. As the model assumptions of homoscedasticity and normality of linear regression could not be applied (SAS 2002), the data was analysed according to a robust regression method suggested by Fox (2002). The level of significance was 0.05.

3.5 Results & Discussion

Slopes and P values of the effect of *L. lineolaris* feeding on grape yield, on the weight of stalks and berries as well as on the number of berries per sleeve cage are presented in Table 3.1. Significant negative slopes indicate a significant decrease of the term with increasing density of *L. lineolaris*. Insignificant slopes suggest that the exposure of *L. lineolaris* did not affect the growth of *V. vinifera* and significant positive slopes imply a stimulation of *V. vinifera* growth with increasing *L. lineolaris* density.

At the phenological stages C-D (leaf burst), both nymphs and adults had a tendency ($P \leq 0.1$) to decrease yield per sleeve cage, weight of stalks, number of berries and the mean weight of berries. Among these parameters a significant difference was noted only for nymphs in 2004 for yield per sleeve cage and number of berries. As a consequence, the yield of these vines was significantly reduced.

At the phenological F-G (cluster appearance), nymphs feeding on berries had a positive effect on all the four parameters measured in 2002. In 2004 again there was a positive effect except a decrease in the number of berries. In contrast to nymphs adults had a negative impact on all four parameters and significant decrease could be shown for yield per cage and mean berry weight in 2004. This might be explained by the fact that adults fed and punctured more clusters during the period of cluster separation (Fleury *et al.* 2006).

At the phenological stage H-I (bloom), nymphs appear to decrease yield per cage, stalk weight and number of berries but an increase in mean berry weight in 2002. In contrast in 2003 nymphs have exactly the opposite effect of the previous year and a significant increase in berry weight. The data on adults is similar to that of nymphs. A decrease of all the parameters measured in 2002 and an increase of all the parameters in 2003, except that the mean berry weight in 2003 decreased. In summary, feeding by nymphs and adults had no negative impact on the growth of grapevines. This is because attacks were concentrated on the nectariferous disc zone at the base of the ovary (Fleury *et al.* 2003) and did not inhibit the development of clusters. In contrast, a part of the sap flux may have even been directly attributed to grapes, which could have stimulated the growth of stalks and berries.

At the phenological stage J-K (berry development), both nymphs and adults decreased yield per cage in 2002 and 2003 and increased yield in 2004. Nymphs and adults

increased the weight of stalks in 2002 and 2004 and decreased it in 2003. The pronounced decrease observed at berry development can be explained because *L. lineolaris* exhibits a polygalacturonase protein in its saliva (Shakel *et al.* 2005, Allen and Mertens 2008). During feeding this enzyme could be responsible for the observed damages on clusters. In ripening clusters, the concentration of polygalacturonase inhibiting protein decreases while the sugar content is increasing (Carbonneau *et al.* 2007). The decrease of the inhibiting polygalacturonase enzyme may make ripening clusters more susceptible to *L. lineolaris* feeding. At the same time, insects are attracted by the higher sugar content of ripe berries. Thus, nymphs and adults preferentially feed on berries later in the season. Overall, the feeding by *L. lineolaris* always decreased significantly yield and the number of berries ripened. However, the mean weight of stalks and a berry could increase or decrease with higher *L. lineolaris* density. Finally, all phenological stages of *V. vinifera* were of similar susceptibility and the biggest decrease was recorded on yield at berry development effects were heterogeneous. None of them could be established in more than two successive phenological stages of *V. vinifera*. In seven out of the ten significant regression analysis, higher densities of *L. lineolaris* decreased significantly plant growth. Seven were attributed to nymphs and only three to adults.

In general, plant species differ in their ability to cope with herbivory. For example, strawberries are more susceptible to sucking insects at bloom than at harvest (Bostanian 1994, Wold and Hutchison 2003). In our study, we found similar responses between the four phenological stages of *V. vinifera* tested; yield per sleeve cage decreased at leaf burst, cluster appearance and berry development. However, we also observed in two of the three years that an increased insect density favoured the development of stalks and berries. *V. vinifera* may thus be capable to compensate herbivory on certain plant parts by the enhanced growth of other parts (Trumble *et al.* 1993).

Feeding by *L. lineolaris* always decreased yield and the number of berries ripened. However, the mean weight of stalks and a berry increased or decreased with higher *L. lineolaris* density. Finally, all phenological stages of *V. vinifera* were of similar susceptibility and the biggest decrease was recorded on yield at berry development. Unlike *T. scupeus* and *L. inconspicuus*, the impact of *L. lineolaris* was minor. Its impact varies from season to season similar to *L. spinolai*.

Table 3.1: Slope and P value on the effect of *L. lineolaris* released at several phenological stages of *V. vinifera* “Seyval blanc” after feeding during 30 days.

Phenological Stages* (g)	Years	<i>L. lineolaris</i>	Yield per sleeve cage (g)	Stalk without berries (g)	Number of Berries	Mean weight of a Berry
C-D	2004	Nymph(s)	-15.09x + 103.03 (0.04)**	-0.44x + 3.18 (0.07)	-7.71x + 48.36 (0.02)**	-0.02x + 1.96 (0.78)
		Adult(s)	- 8.83x + 86.75 (0.20)	-0.31x + 2.45 (0.14)	-3.64x + 38.56 (0.20)	-0.08x + 1.98 (0.45)
F-G	2002	Nymph(s)	+3.37x + 60.38 (0.42)	+0.09x + 1.98 (0.49)	+2.48x + 36.49 (0.30)	0.00x + 1.58 (0.97)
		Adult(s)	-1.50x + 74.39 (0.75)	-0.01x + 2.20 (0.95)	-0.25x + 41.69 (0.92)	-0.04x + 1.72 (0.37)
	2004	Nymph(s)	+ 0.01x + 98.62 (0.99)	+0.02x + 3.03 (0.94)	-1.31x + 51.97 (0.78)	0.00x + 1.73 (0.95)
		Adult(s)	-11.04x + 68.26 (0.04)**	-0.27x + 1.93 (0.10)	-3.99x + 46.00 (0.35)	-0.26x + 1.53 (0.01)**
H-I	2002	Nymph(s)	-7.42x + 87.98 (0.27)	-0.32x + 3.43 (0.17)	-4.26x + 49.35 (0.25)	+0.01x + 1.65 (0.88)
		Adult(s)	-15.59x + 125.05 (0.11)	-0.55x + 4.45 (0.07)	-8.47x + 70.92 (0.10)	-0.04x + 1.66 (0.56)
	2003	Nymph(s)	+12.21x + 91.24 (0.16)	+0.25x + 3.94 (0.57)	+2.51x + 66.03 (0.64)	+0.11x + 1.34 (0.01)**
		Adult(s)	+15.04x + 96.54 (0.08)	+0.99x + 3.03 (0.02)**	+10.92x + 64.41 (0.07)	-0.05x + 1.48 (0.32)
J-K	2002	Nymph(s)	-9.26x + 119.68 (0.18)	+0.02x + 3.69 (0.93)	-6.33x + 61.26 (0.08)	+0.06x + 1.85 (0.17)
		Adult(s)	-4.27x + 100.90 (0.48)	+0.02x + 3.60 (0.93)	+1.30x + 52.30 (0.60)	-0.07x + 1.87 (0.19)
	2003	Nymph(s)	-23.12x + 145.70 (0.04)**	-0.99x + 5.69 (0.03)**	-12.42x + 81.47 (0.04)**	-0.03x + 1.62 (0.65)
		Adult(s)	-15.42x + 168.36 (0.24)	-0.62x + 7.49 (0.28)	-6.24x + 93.74 (0.37)	-0.06x + 1.71 (0.09)
	2004	Nymph(s)	+6.46x + 125.25 (0.51)	+0.29x + 3.62 (0.29)	-4.29x + 62.10 (0.21)	+0.23x + 1.94 (0.01)**
		Adult(s)	+10.29x + 134.03 (0.44)	+0.31x + 4.28 (0.48)	+8.16x + 60.21 (0.15)	-0.04x + 2.12 (0.64)

*: According to Baillod & Baggiolini (1993)

**: Slope significantly different than 0 ($P \leq 0.05$)

Data based on the harvest of 1187 clusters comprising 62114 berries

4. CHAPITRE III

A l'est du Canada, le paysage agricole est morcelé en petites parcelles où différentes plantes sont cultivées (grandes cultures, vergers de pommiers, prairies, vignobles). Les agroécosystèmes représentent plus que des champs cultivés. Les mauvaises herbes et les boisés ont un impact substantiel sur les populations d'insectes. En aménageant le territoire, il serait possible de changer les proportions des différents habitats pour mieux gérer les ennemis des cultures.

Les paysages agricoles varient en fonction du temps. Au fur et à mesure que la saison avance, les végétaux ont des stades de développement différents et la production des méristèmes s'échelonne sur de grandes périodes (plusieurs mois). Donc, dans les agroécosystèmes diversifiés, les insectes polyphages comme *L. lineolaris* ont accès à diverses sources de nourriture.

L. lineolaris est attiré par les tissus méristématiques. Notre objectif est d'observer si les vignobles sont des milieux propices attirant les adultes lors de sa recherche de nourriture. Pour répondre à cet objectif, nous avons installé des pièges englués afin d'estimer la densité de *L. lineolaris* adultes à l'intérieur et à la périphérie d'un vignoble commercial (Dunham, Qc) situé dans un agroécosystème comprenant plusieurs habitats (verger de pommiers, prairies, boisés et maïs). Cette expérience nous a également permis de suivre, en fonction des stades phénologiques, les vols de *L. lineolaris* et de constater les périodes durant lesquelles ils sont les plus importants.

Le manuscrit du Chapitre 3 sera soumis pour publication dans la revue scientifique *European Journal of Entomology* et son titre sera : «**Population density of *Lygus lineolaris* adults at the periphery and inside a commercial vineyard located in a diversified agroecosystem**». Ses auteurs seront : Fleury D., Vincent C., Mauffette Y. et Méthot S.

4.1 Résumé

De mai à octobre 2002 et 2003, 39 pièges blancs englués ont été positionnés à l'intérieur et à la périphérie d'un vignoble pour étudier les mouvements des punaises ternes adultes. Les punaises ternes adultes étaient plus abondantes de la fin juillet à la mi-août, avec des captures d'environ 3000 individus par semaine. Durant la saison de végétation, la majorité des individus ont été capturés à une hauteur comprise entre 40 et 60 cm à l'intérieur et à la périphérie du vignoble. La fréquence des tontes de mauvaises herbes influençait le nombre de capture d'adultes. En périphérie, les captures étaient plus importante aux abords de la végétation pérenne, laquelle subissait moins de perturbations anthropiques (verger de pommier et boisé d'épinettes) qu'à l'intérieur du vignoble où les activités agronomiques provoquaient un changement du type de nourriture. Les adultes de punaises ternes volaient en dehors du vignoble pour passer la période hivernale. Suite aux observations obtenues, nous conseillons un suivi approprié des adventices comme stratégie de contrôle afin de diminuer les populations de punaises ternes en vignobles.

Mots Clés : Punaise terne, population, stade phénologique de la vigne, vignobles et relation plante-insecte.

4.2 Abstract

From May to October 2002 and 2003, 39 white sticky traps were positioned inside and at the periphery of a vineyard to study the movements of tarnished plant bug adults. Tarnished plant bug captures were most numerous from the end of July to mid August, with captures totalising ca. 3000 individuals for one week. During the vegetative season, most individuals were captured at a height of flight comprised between 40 and 60 cm inside as well as around the vineyard. The frequency of weeds mowing affected the captures of adults. At the periphery, tarnished plant bug abundance was greater near perennial vegetation which underwent less perturbation (an apple orchard, a spruce wood lot) than inside the vineyard where agronomic activities changed the availability of food resources. Tarnished plant bug adults flew outside the vineyard for the winter time. We suggest that appropriate weeds uncontrolled could be a sound tactic to manage tarnished plant bug populations associated to vineyards.

Key words: Tarnished plant bug, population, phenological stage of grapevine, vineyards and plant-insect relationship.

4.3 Introduction

The economy of Canadian grape and wine industries have grown remarkably since the early 1990s as a result of a successful strategy to develop premium quality wine and grapes (CGWRS 2007). The tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Heteroptera: Miridae), is a key pest distributed from Mexico to Alaska (Kelton 1975) and it feeds at least on 398 host plants across North America, including some 130 crops of economic importance, including grapevine (Young 1986, Esquivel and Mowery 2007). As it is a polyphagous pest, its population dynamics can be modulated by the spatial distribution of host plants in an agroecosystem (Rhainds and English-Loeb 2003). The majority of those plant hosts are broadleaves dicotyledonous plants that include many weed species (Hardman *et al.* 2004). As *L. lineolaris* adults are able to fly more than 12 km in 12 hours at a speed of 0.45 m s^{-1} (Stewart and Gaylor 1994) or 5.12 km without interruption (MacCreary 1965), crop to crop movements are likely to happen at larger scales (i.e. agroecosystems).

In diversified agroecosystems (spatially structured landscapes), food resources can explain local movements of populations of herbivorous insects (Hunter 2002). Agroecosystems contain a shifting mosaic of food resources that vary through time in their availability and suitability to pest species (Kennedy and Storer 2000, Shelton and Badenes-Perez 2006). Field boundaries are links between movements and dynamics, allowing insects flying in and out an agroecosystem to access different resource levels (Bommarco and Fagan 2002). Field boundaries or edge effects can be responsible for increases or decreases in population size in agrarian landscapes (Le Coeur *et al.* 2002). *L. lineolaris* were significantly more abundant in fields with borders (Outward *et al.* 2008). In an agroecosystem with several kinds of plants, flying insects are able to choose food resources and they can detect gradual changes between plant types, which increase the probability of crossing from one patch into another (Bommarco and Fagan 2002).

In agroecosystems with different sources of food availability, *L. lineolaris* adults are able to move easily from one crop to the other (Khattat and Stewart 1980). For example, they often move from alfalfa to canola (Timlick *et al.* 1993) or oil seed rape (Butts and Lamb 1991) within a season. In southern Quebec, this pest was successively observed on natural vegetation like white clover (*Trifolium pratense*) in early season and on goldenrod (*Solidago canadensis*) in late season (Boivin and Stewart 1983). Early in the spring, in agroecosystems

with fruit crops, overwintered adults move from adjacent woodlands or weedy areas to feed on developing leaves, flower buds of apple orchards and until apple reach 1 cm in diameter (Prokopy *et al.* 1979; Boivin *et al.* 1982). Adults then migrate on weeds in adjacent agroecosystems (Hammer 1939) or feed on crops producing young and meristematic tissues, like grapevines (*Vitis vinifera*).

In Niagara Peninsula (Ontario, Canada), *L. lineolaris* nymphs were more abundant on peach trees located at the periphery of the orchard (Pree 1985). In Fredonia (New York, USA), nymphs of two mirids plant bugs (*Taedia scupeus* and *Lygocoris inconspicuous*) were more abundant at the edge of commercial vineyards (Rhainds *et al.* 2002). *L. lineolaris* was the most abundant mirid of vineyards of Pennsylvania and it was mainly present in August (Jubb *et al.* 1979). In a commercial vineyard located in southwestern Quebec, *L. lineolaris* were captured throughout the growing season with pitfall, window traps and by tapping (Bostanian *et al.* 2003).

In this article, we investigate the immigration and emigration of *L. lineolaris* adults at the periphery of a commercial vineyard located in a diversified agroecosystem comprising several peripheral habitats (i.e. apple orchard, commercial vineyard, a mixed spruce wood lot and alfalfa) and if captures were more abundant inside the vineyard than at the edge. In the agronomic context of our experiment, we evaluate if weed management, the canopy height of *V. vinifera* and weather could have an impact on flying *L. lineolaris* adult populations.

4.4 Materials & Methods

4.4.1 Habitat description. The two year study was conducted at L'Orpailleur, a commercial vineyard located in Dunham (45° 06' N, 72° 51' W), Quebec, Canada (Fig. 4.1). The vineyard had two grape cultivars: Seyval (80%) and Marechal-Foch (20%) and belonged to a mosaic of farmlands dispersed among natural habitats. There were six habitats adjacent to the vineyard: a mixed spruce wood lot, a ditch of 6 m wide with a vineyard next to it, a housing complex with ornamentals, a commercial vineyard, a commercial apple orchard and a roadside (Fig. 4.1). At the periphery of the vineyard, the habitats were separated from the vineyard by a vegetation strip (from 6 to 15 m). The plant species in the vineyard, in the vegetation strips and in the roadside were noted each week when we recorded *L. lineolaris* captures.

4.4.2 *Commercial practices.* The vineyard was managed using standard commercial practices. For winter protection, the growers covered rootstocks with 30 to 40 cm of soil in autumn, and they removed it in the spring. In 2002 and 2003, the vegetation around the vineyard was mowed every two and six weeks respectively. To control fungal diseases, fungicides [captan (Captan 50 WP); folpet (Folpan 50 WP); kresoxym-methyl (Sovran); o-ethyl phosphonate (Ridomyl); mancozeb / dinocap (Dikar); metiram (Polyram 80 WP); myclobutanil (Nova 40 WP)] were applied. To control weeds, herbicides [diuron (Karmex 80W); simazine (Simadex)] were applied on the row at the base of the rootstock and the soil between rows was scraped every month. To control leafhoppers, cyhalothrin-lambda (Matador 120EC) was applied on June 10th in 2002 and July 1st in 2003. These pesticides were sprayed at label rates as registered in Canada.

4.4.3 *Experimental Design and Population Trapping of *L. lineolaris*.* We set up 39 white sticky traps, 35 at the periphery and 4 inside the vineyard (Fig. 4.1) in 2002 and 2003. The perimeter of the vineyard was 1051 m and the traps, equally spaced at 30 m, enclosed a surface of ca. 7.5 ha. The traps were 30 cm in width and were glued 20 cm up to 140 cm from the ground. The traps had two interfaces, one facing the vineyard (inner side) and another facing one of the six neighbouring habitats (outer side). *L. lineolaris* captures and the phenological stages of the grapevines were recorded weekly from May to October of both years. *L. lineolaris* adults were removed every week from the traps. The Tangle-trap® coating on the surface of the traps was refreshed monthly. The total number of insects captured was calculated at each phenological stage of *V. vinifera*.

4.4.4 *Overwintering experiment.* During November 2002 and 2003, we removed the soil on 15 Seyval rootstocks to establish if *L. lineolaris* adults overwinter inside the vineyard. In late November, vine plants were wrapped in a sleeve-cage to allow us to observe if *L. lineolaris* adults moved out of the vineyard in the spring. The 15 rootstocks were located near the apple orchard and the wood lot. Control vine plants were also wrapped in a sleeve-cage and covered with soil as previously mentioned.

The phenological stages of *V. vinifera* of Baillod and Baggiolini (1993) were used: winter bud (phenological stage A), bud burst (B), green tip (C), emerging leaves (D), first flat leaves (E), visible cluster (F), separated cluster (G), florets separated (H), flowering (I), berry set (J), pea size (K), cluster closure-berry touch (L), veraison (M), maturity (N), senescence

(O) and leaf fall (P). We noted alfalfa cuts and the apple phenological stages. Weather data (i.e. temperatures, rainfalls) was recorded at a station of Agriculture and Agri-Food Canada located ca. 3 km from L'Orpailleur vineyard.

4.4.5 Data Analysis. Captures of *L. lineolaris* adults were analyzed with a one-way analysis of variance (ANOVA) to detect differences among habitats. Pairwise comparisons of means were done using Tukey's test for multiple comparisons. Height of flight was analysed according to percentages of captures per section of the trap. All analyses were conducted using the SAS software (SAS 2000).

4.5 Results

Although more *L. lineolaris* were captured in 2003 (26'186) than in 2002 (17'109), the patterns of captured individuals across the season were similar (Figs. 4.2a and 4.2b), except for the first week of trapping when 639 individuals were captured on May 13th 2002 in contrast to 2'481 individuals on May 8th 2003. Slightly higher activities at phenological stages J in 2002 and I in 2003 were also recorded (Figs. 4.2a and 4.2b). A great number of captures was observed during phenological stages A, B and D in 2003. The highest number of captures for one week was recorded at phenological stage L: 1'969 (early August) and 2'868 (end of July) in 2002 and 2003, respectively. The largest captures occurred at phenological stage M.

In 2002, cumulative captures per habitat were significantly different between inner or outer sides of traps. In 2003 the spruce wood lot, the housing and the ditch were significant (Table 4.1). Captures at the edge of the spruce wood lot and the apple orchard had a similar distribution, as evidenced by captures on inner and outer sides of traps (Fig. 4.1). For example, around the vineyard, the captures of all traps were of 6'829 and 8'345 for the inner and outer sides in 2002, compared to 11'683 and 11'879 in 2003. Therefore, we pooled the captures of inner and outer sides of each trap to reflect the global activity of a specific trap belonging to a given habitat.

We observed significant differences of average captures of *L. lineolaris* adults between habitats and years. For example, for both years, a separate analysis showed that captures were significantly higher near the apple orchard habitat than those near the roadside (Table 4.2). In 2002, captures were significantly higher near mixed spruce wood lot than

along the ditch and the roadside; and captures were significantly higher near apple orchard than along the roadside (Table 4.2). On the ten sticky traps along the edge of the apple orchard habitat (Fig. 4.1), we observed a decrease of 78% (from 622 to 131) of captured adults between May 22nd and 29th in 2003. In 2002, trap O 10 (Fig. 4.1) recorded the greatest activity with 789 adults captured. In 2003, trap O 10 recorded the second greatest activity with 1'009 adults captured.

All phenological stages of *V. vinifera* pooled, we captured most individuals between a height of 40 and 60 cm (Fig. 4.4). The height of flight by *L. lineolaris* adults significantly differed among phenological stages of *V. vinifera*. We observed a mean flight height > 80 cm from phenological stages A to L and a mean flight height < 80 cm in late phenological stages M to P.

On the roadside and the vegetation strip in and around the vineyard, we observed dandelion (*Taraxacum officinale*), rayless camomile (*Matricaria matricarioides*), white clover (*Trifolium repens*), red clover (*T. pratense*), ox-eye daisy (*Chrysanthemum leucanthemum*), cow vetch (*Vicia cracca*), yellow water-crowfoot (*Ranunculus flabellaris*), aster (*Aster* spp.) and goldenrod (*Solidago canadensis*). In the vineyard, the main weeds were common plantain (*Plantago major*), red-root pigweed (*Amaranthus retroflexus*), purslane (*Portulaca oleracea*), barnyard-grass (*Echinochloa crus-galli*) and common milkweed (*Asclepias incarnata*). All these plants are potential hosts of *L. lineolaris* (Young, 1986).

Concerning the overwintering experiment, no *L. lineolaris* adults emerged the following spring in sleeve-cages positioned in late autumn around Seyval Blanc rootstocks uncovered of soil. The same result was observed with rootstocks covered with soil.

4.6 Discussion

L. lineolaris populations in L'Orpailleur vineyard varied between the two years. Population variations of *L. lineolaris* have been documented in other crops. In Iowa peak populations of *L. lineolaris* in 2001 were approximately 2.5 times the population of 2000 in alfalfa and strawberry fields (Bethzayda and Obrycki 2004). Abiotic conditions (i.e. rain, temperature) could have an effect on the number of *L. lineolaris* adults captured (Wold and Hutchison 2003). During May-June, high rainfall (165 to 272 mm) reduced first generation nymphs of *L. lineolaris* in alfalfa by 50% (Day 2006). In the present study, we observed that

adults continued to fly even with few rains, certainly because the rainfalls were lower: from 83.2 to 127.8 mm (Figs. 4.2a and 4.2b). At the end of October, the population collapsed for both reasons temperatures dropped and *V. vinifera* lost their leaves (Figs. 4.2a and 4.2b). Due to the changing wind direction during each week of sampling it was impossible to correlate wind direction with the captured numbers of *L. lineolaris* caught on each inner or outer trap.

Phenological stages M and L coincided with peak captures of *L. lineolaris* adults. Phenological stage M lasted for six weeks (i.e. longer than any other phenological stages during the season). On a weekly basis, we found *L. lineolaris* to be more abundant at phenological stage L, from the end of July to early August, as Jubb *et al.* (1979) reported in Pennsylvania's vineyards. In a laboratory experiment, Fleury *et al.* (2006) found that adults spent more time feeding at phenological stage L than any other stages except H. This underlines a preference for those tissues and explains why adults were more numerous during this period of the year in vineyard. The peak in early October 2002 suggests a third generation in southern Quebec. This could be explained because *V. vinifera* may have flowers during all the growing season and this are a valuable source of food for first generation adults of *L. lineolaris* but also the second and the third generations from early-maturing weed species late in the season.

The full bloom period in apple orchard was an attractive food source to overwintering flying adults (Prokopy *et al.* 1979). This suggests that *L. lineolaris* adults stayed inside the commercial apple orchard instead of searching food near the vineyard. On mid-June, apples were 1 cm in diameter and activity of *L. lineolaris* adults at the edge of the apple orchard decreased. After bloom, as the apple orchard offer less meristematic tissues (except a few suckers), flying adults moved elsewhere likely to feed upon young and tender hosts in the agroecosystem.

Blackmer *et al.* (2008) observed that *L. lineolaris* were captured in highest number on traps located in a cleared area between two alfalfa field and that lower captures were at the edge and in the center of the field. In vineyard, we globally found that the density of captures was similar for the traps inside the vineyard and at the periphery (Fig. 4.3). Three reasons can explain that: a) traps were white, like flowers of *V. vinifera* and this color mimicked more closely flowers encountered in the vineyard; b) traps bottom were located at 20 cm above ground until 140 cm, which corresponded to within canopy, at canopy and above canopy

levels in *V. vinifera*; c) for several insect species, host plants surrounded by bare ground are more often visually apparent and consequently these plants receive more visits (Smith 1976).

In general, habitats with less perturbation (low management) should experience lower dispersal rates because insects have the food resources available (St Pierre *et al.* 2005). For example, *L. lineolaris* populations increased when there was a shift from conventional cultivation to conservation tillage (Byers *et al.* 1999, Tillman *et al.* 2004).

As reported by Prokopy *et al.* (1979) in apple orchards and Rancourt *et al.* (2000) in strawberries, flying activity of *L. lineolaris* adults in the vineyard occurred between 40 and 100 cm. In the present experiment, most captures of *L. lineolaris* adults were also comprised between those heights. This means that adults flew at the same height in most cultivated fruit crops. Also, to monitor this insect we should have traps between 40 and 100 cm to catch the maximum of adults.

In 2002, the greater number of mowing had decreased the weed populations in and around the vineyard and it could explain the difference between the total captures in 2002 and 2003. Several authors reported that *L. lineolaris* populations are more abundant on weeds than on crops (Fleischer and Gaylor 1988, Boivin *et al.* 1981) and frequently feed on both, crops and weeds (Norris and Kogan 2000). The weeds are a valuable source of food for *L. lineolaris* because with fertilisation they grow rapidly and they offer meristematic tissues (Marshall and Moonen 2002). As *L. lineolaris* adults had a propensity to move easily between habitats to follow attractive food, management of weeds can allow a reduction of individuals: on peaches orchards in North Carolina (Killian and Meyer 1984) and in New Jersey (Atanassov *et al.* 2002), or on cotton in southern US (Womack and Schuster 1987, Snodgrass *et al.* 2000), or on alfalfa in Washington (Fye 1980). In L'Orpailleur, field boundaries contained weeds and they could have act as shelters for winter. This could be an important factor influencing arthropod abundance, especially with insects moving at the end of the vegetative season (Maudsley *et al.* 2002). As weeds are used by *L. lineolaris* for food as well as reproduction (Snodgrass *et al.* 2006), a valuable control strategy could be the mowing of strips to allow continuous production of attractive food in roadside and ditch. This strategy will allow to have less quantity of attractive food to *L. lineolaris* to increase its populations but enough to avoid feeding on *V. vinifera*. Thus, even if *V. vinifera* continuously

produce meristems, the higher population of adults captured in 2003 could be due to the presence of more weedy patches around L'Orpailleur.

In laboratory, Fleury *et al.* (2006) showed that *L. lineolaris* adults were able to feed on all phenological stages of *V. vinifera*. In vineyard, adults were present early in the growing season in Quebec's vineyard and throughout all phenological stages. So, *L. lineolaris* could spend all the season in vineyards and feed on continuously growing *V. vinifera*.

Results from the overwintering experiment showed that L'Orpailleur vineyard does not represent a suitable habitat during winter for *L. lineolaris* adults, since no adults emerged from the soil (debris) or other host plants sampled in the vineyard (control and removed soil). This suggests that *L. lineolaris* adults either moved to overwinter in the surrounding habitats (i.e. mixed spruce wood lot) or stayed in the vineyard which experiences very harsh winter conditions and likely died. In late October, the captures suggested that *L. lineolaris* adults flew from the interior to the exterior of the vineyard and did not spend the winter on *V. vinifera* because they had no more food to feed on.

In vineyards, *V. vinifera* may offer an attractive source of food from spring to autumn to *L. lineolaris* adults. Even if *L. lineolaris* is highly polyphagous, it was a meristem specialist which fed mostly on young apples and weeds. In an Integrated Pest Management (IPM) context: the application of herbicides or mowing of weeds should allow regulation of *L. lineolaris* population during the vegetative season; and, in vineyards located in diversified agroecosystems, we could set up sticky traps below 1 m (inside or at the periphery) to monitor *L. lineolaris* adults.

Table 4.1: Total captures of *L. lineolaris* adults on the inner and outer sides of traps at the periphery of a vineyard in 2002 and 2003 (data for traps at the center of the vineyard not shown).

Habitats	# of traps	2002		2003	
		Inner	Outer	Inner	Outer
Wood lot (with mix spurs)	7	2061 **	1287	2679 **	1877
Ditch (with a vineyard next to it)	8	830 **	1610	2674 *	2848
Housing (with ornamentals)	5	1170 **	935	1521 **	2201
Roadside (with alfalfa next to it)	5	945 **	467	1167	1154
Apple Orchard	10	1823 **	4046	3642	3799

Inner: trapping surface facing inside the vineyard

Outer: trapping surface facing outside the vineyard (habitats zone described)

*: χ^2 significant at $P = 0.05$, ** χ^2 significant at $P = 0.01$

Table 4.2: Probability resulting from statistical comparison of average captures between habitats, in 2002 and 2003 (both side of traps pooled).

Comparison of Habitats	2002	2003
Vineyard vs Wood lot	0.9988	1.0000
Vineyard vs Orchard	0.3889	0.9534
Vineyard vs Ditch	0.2168	0.9989
Vineyard vs Housing	0.9986	0.9881
Vineyard vs Roadside	0.1750	0.4453
Wood lot vs Orchard	0.4457	0.8861
Wood lot vs Ditch	0.0325*	0.9962
Wood lot vs Housing	0.9522	0.9725
Wood lot vs Roadside	0.0331*	0.3184
Ditch vs Orchard	< 0.0001*	0.9913
Ditch vs Housing	0.3518	0.9994
Ditch vs Roadside	0.9990	0.1285
Housing vs Orchard	0.1271	1.0000
Housing vs Roadside	0.2830	0.1171
Roadside vs Orchard	0.0002*	0.0328*

*: Significant differences at $P = 0.05$ (ANOVA + Tukey comparison)

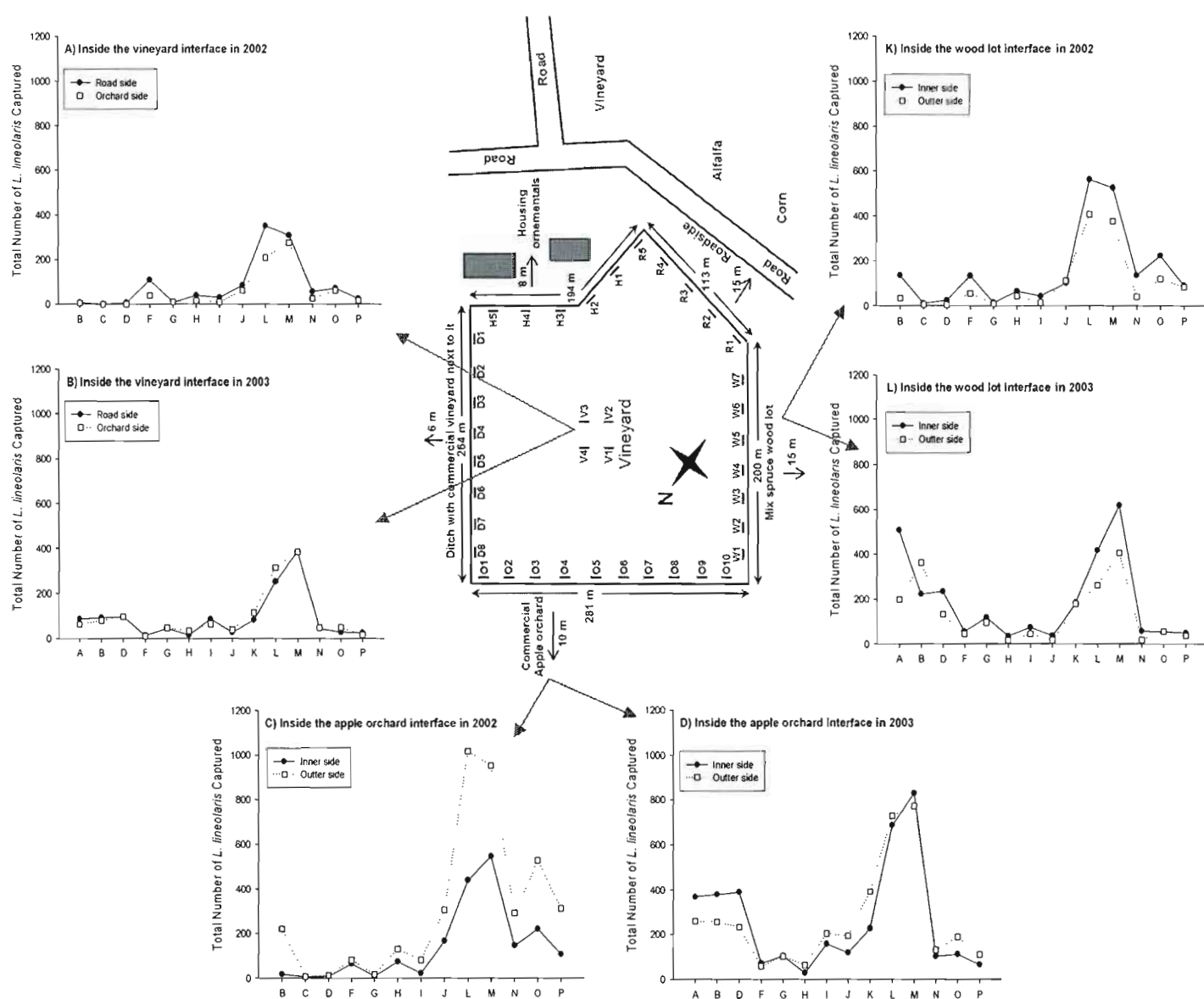


Figure 4.1: The commercial vineyard of L'Orpailleur (Dunham, Qc, Canada) and its surrounding habitats. Traps are represented by bars flanked with letters as follow: O = commercial apple Orchard, D = Ditch with commercial vineyard next to it, H = ornamentals around Houses of the vineyard, R = Roadside, W = mix spruce Wood lot and V = inside the Vineyard Seasonal abundance of *L. lineolaris* at the interface (inner and outer sides of trap captures) of the vineyard: A + B) inside the vineyard interface in 2002 and in 2003; C + D) the apple orchard interface in 2002 and 2003; K + L) the wood lot interface in 2002 and 2003. Capital letters on the horizontal axis refers to phenological stages of the grapevine from Baillod and Baggiolini (1993)

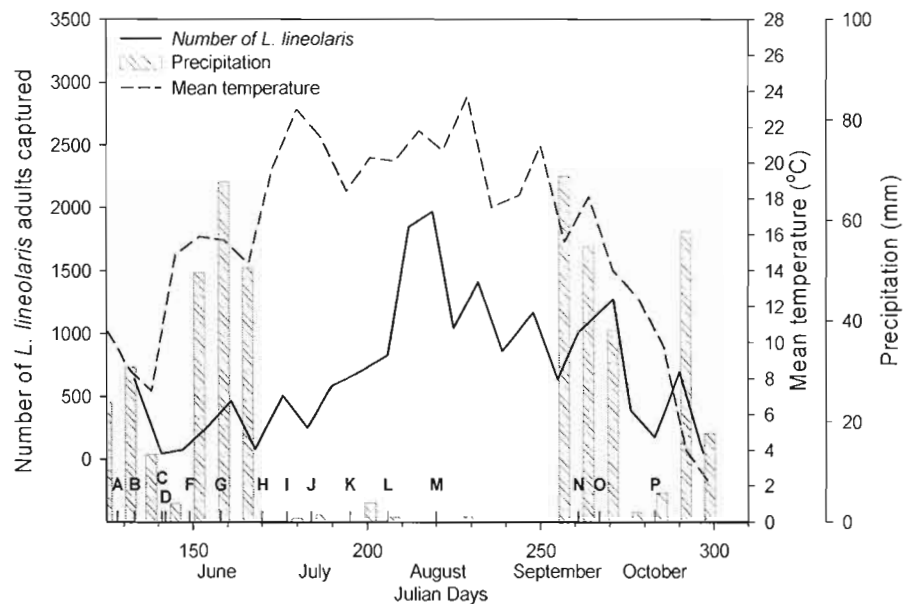


Figure 4.2a: Seasonal abundance of *L. lineolaris* adults in a commercial vineyard (pooled data from the 39 white traps) with mean temperatures and precipitations in 2002. Letters indicate phenological stages of the grapevine from Baillood and Baggiolini (1993)

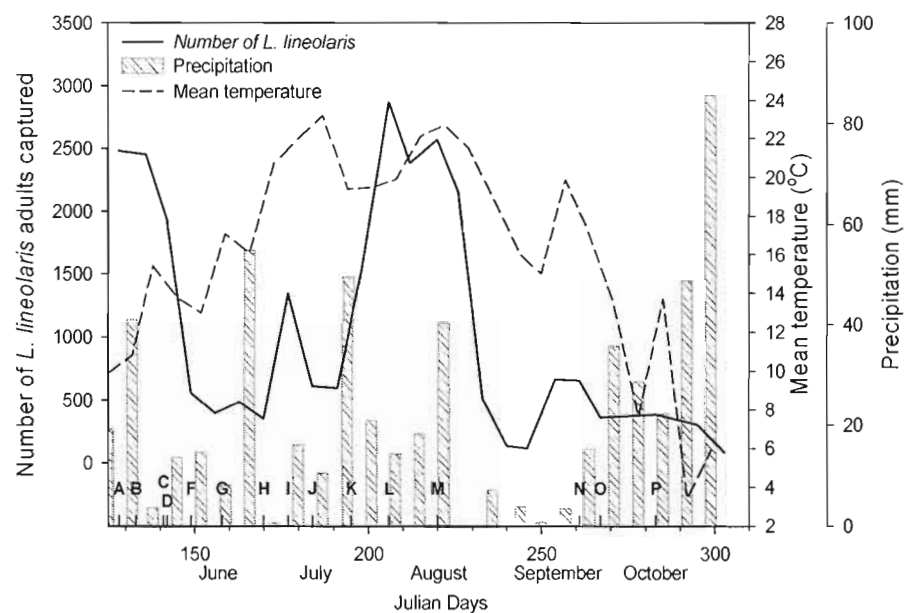


Figure 4.2b: Seasonal abundance of *L. lineolaris* adults in a commercial vineyard (pooled data from the 39 white traps) with mean temperatures and precipitations in 2003. Letters indicate phenological stages of the grapevine from Baillood and Baggiolini (1993)

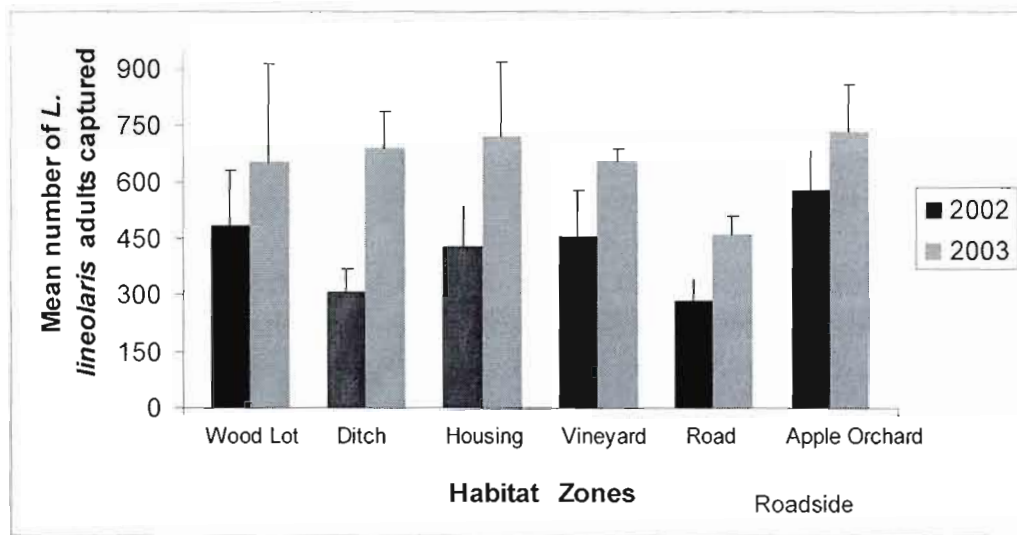


Figure 4.3: Distribution of *L. lineolaris* adults collected for each particular adjacent habitat of the vineyard in 2002 and 2003

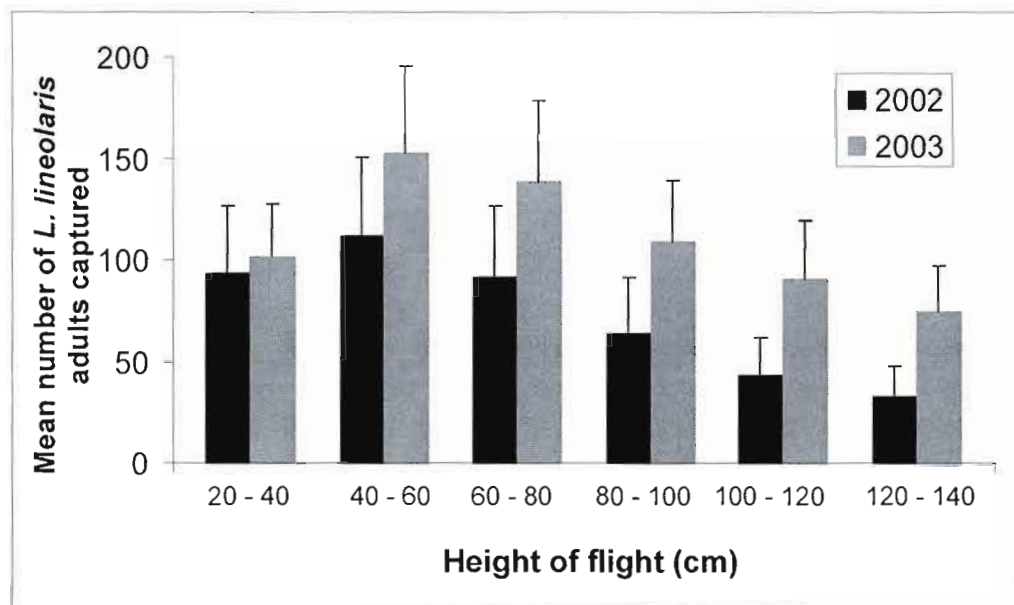


Figure 4.4: Height of flight by *L. lineolaris* adults captured in 2002 and 2003

5. CHAPITRE IV

Dans un programme de lutte intégrée, il est important d'évaluer l'efficacité des outils disponibles pour les producteurs afin de gérer les ennemis des cultures. En comparant différentes populations de ravageurs exposées à des insecticides identiques, nous évaluons l'efficacité de ce moyen de lutte contre *L. lineolaris*. Cette recherche a permis d'étudier trois populations différentes de *L. lineolaris* situées le long de la vallée du fleuve Saint-Laurent et d'évaluer leur niveau de résistance ou de tolérance aux deux principales matières actives recommandées pour la contrôler dans l'est du Canada.

Pour tester les trois populations de *L. lineolaris* et obtenir des résultats comparables, nous avons utilisé une méthodologie identique. Dans le Delta du Mississippi, il existe plusieurs populations de *L. lineolaris* tolérantes ou résistantes à certains insecticides. Les différences observées entre ces deux populations habitant ces agroécosystèmes seraient principalement dues à la diversité agricole (alternance entre champs cultivés et boisés) rencontrée dans les paysages à l'est du Canada (Ontario et Québec).

Au Chapitre 3, nous avons vu que l'Est du Canada a un paysage agricole diversifié et qu'il est très différent de celui observé dans le sud des États-Unis. Il est vraisemblable que, contrairement à la monoculture du coton, la diversité des petites parcelles en cultures fruitières offre à *L. lineolaris* un refuge sur des plantes hôtes non traitées par des insecticides.

L'accroissement de la productivité agricole (monoculture) a un coût environnemental et social. Non seulement la perte d'habitats naturels (boisés) réduit la biodiversité, mais elle menace également la durabilité et l'efficacité des moyens de lutte utilisés pour contrôler les dégâts occasionnés par les ennemis de nos cultures.

La référence complète du Chapitre 4 est : Fleury D., Bostanian N.J., Mauffette Y. et Vincent C. 2007. **Residual toxicity of two insecticides on three field populations of *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae) collected along the St-Lawrence valley in eastern Canada.** *Pest Management Science* 63: 495-499.

5.1 Résumé

Les insecticides sont encore le moyen de lutte le plus employé par les agriculteurs pour contrôler les dégâts de la punaise terne, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera : Miridae). L'agroécosystème dans l'est du Canada, décrit comme une mosaïque d'exploitations agricoles à travers divers habitats naturels (forêts, prairies), permet à la punaise terne adulte de voler d'un endroit traité à un autre endroit non traité. En 2004 (fin août au début septembre), trois populations de *L. lineolaris* ont été récoltées à partir de bandes riveraines adjacentes à des vergers de pommiers ou à des vignobles situés le long de la vallée du fleuve Saint-Laurent : la région de Niagara (Ontario), Dunham (Québec) et La Pocatière (Québec). Nos essais ont été réalisés en laboratoire en déposant des adultes dans des éprouvettes préalablement traitées avec deux différentes matières actives insecticides. Les estimations des valeurs de LC_{50} variaient de 11,2 à $16,8 \times 10^{-5} \text{ gL}^{-1}$ pour l'azinphos-méthyl et de $0,8$ to $1,4 \times 10^{-5} \text{ gL}^{-1}$ pour la cyperméthrin. A l'inverse du delta du Mississippi, les populations testées ne montraient aucune tolérance aux insecticides employés. Une explication possible pour cette non-tolérance aux insecticides serait une pression de sélection très basse ; en effet, le nombre de traitements insecticides appliqué dans l'est du Canada est moins important et les agroécosystèmes permettent aux adultes de passer d'un lieu traité à un lieu non traité.

Mots Clés : Toxicité, organophosphorés, pyréthrinoïdes, *Lygus lineolaris*, agroécosystème, tolérance.

5.2 Abstract

Insecticides are still the single main pest control method employed today by most growers to mitigate damage done by the tarnished plant bugs, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera: Miridae). In eastern Canada, the complex agricultural ecosystem, which may be described as a mosaic of farmlands dispersed among natural habitats (forest, prairies), allow tarnished plant bug adults to fly and move from sprayed to non-sprayed areas. In 2004 (late August to early September), three populations of *L. lineolaris* were collected from three mixed vegetation strip adjacent to orchards and vineyards along the St-Lawrence valley: the Niagara Peninsula (Ontario), Dunham (Quebec) and La Pocatière (Quebec). Assays were done in the laboratory by confining adults in glass vials coated with dried residues. The estimated LC₅₀ values for the three populations varied from 11.2 to 16.8 x 10⁻⁵ gL⁻¹ for azinphos-methyl and from 0.8 to 1.4 x 10⁻⁵ gL⁻¹ for cypermethrin. In contrast to the Mississippi delta, no tolerance to insecticides was found in the populations collected. Possible explanation for this non-tolerance to insecticides includes a very low selection pressure as a result of the reduced number of insecticide treatments done in the context of diversified agricultural landscape encountered in eastern Canada which allow movements of adults from treated to non-treated areas.

Keywords: Toxicity, organophosphates, pyrethroids, *Lygus lineolaris*, agricultural landscape, tolerance.

5.3 Introduction

The tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Heteroptera: Miridae), is a native polyphagous pest that feeds on more than 350 hosts plants (Young 1986) indigenous to North America (Kelton 1975). In eastern Canada (Quebec and Ontario), growers apply insecticides to mitigate economic losses of this key pest on fruit crops such as peaches (Pree 1985), strawberries (Paradis 1979), raspberries (Boivin *et al.* 1981) and apples (Rivard 1975).

As *L. lineolaris* is a polyphagous pest (Young 1986), it is also found in numerous crops or non-cultivated host plants. *Lygus lineolaris* is found in different habitats, i.e. diversified agroecosystems comprising several habitats or monoculture crops. In eastern Canada, the average farm size is about 98 ha (Statistics Canada 2004) and the agricultural landscapes are characterized by a mosaic of farmland scattered among natural vegetation (deciduous forests in fruit production area) (Bélanger and Grenier 2002). In such a context, *L. lineolaris* adults can frequently feed on hosts that are unsprayed with pesticides. In such agroecosystems, *L. lineolaris* may escape and return to treated fields. Consequently, a low selection pressure is exerted every year. In Quebec, *L. lineolaris* were collected in La Pocatière and Dunham. In La Pocatière, monoculture covers 8% of the total area, and, in Dunham, monoculture covers 9% of the total area in the region (Thériault and Lamontagne 2004). In the Niagara Peninsula, the fruit crops (grapes, peaches and apples) cover 19'700 ha and are cultivated mostly in monocultures. Along the Niagara Parkway (scenic roads) there are abundant small deciduous forests with wild vegetation (Yee *et al.* 2002). In contrast, in the Mississippi delta (USA) where landmark studies on *L. lineolaris* resistance were done (Snodgrass 1996a, Snodgrass 1996b, Snodgrass and Scott 2000), the average farm size is about 130 ha; 78% of cotton is cultivated in monoculture and 80% of these fields are frequently treated with pesticides throughout the season (Johnson *et al.* 2002). Therefore, *L. lineolaris* is constantly exposed and selected for pesticide resistance.

In Integrated Pest Management (IPM) programs it is essential that pesticides are effective against target species and relatively harmless to beneficials (Dent 1995). Since 1954, *Lygus* bugs (*L. hesperus* Knight, *L. elisus* Van Duzee, *L. desertus* Knight and *L. lineolaris*) have developed a 3-4 greater tolerance in alfalfa seed fields treated with DDT than in untreated alfalfa fields (Menke 1954; Andres *et al.* 1955). Recently, in the United States,

populations resistant to organophosphate and pyrethroid insecticides were reported from Louisiana, Mississippi and Arkansas (Snodgrass 1996a, Snodgrass 1996b, Cleveland and Furr 1979, Cleveland 1985). In eastern Canada, organophosphates have been used since the early 1950s (Paradis 1955) to manage *L. lineolaris* in orchards and small fruit crops, whereas pyrethroids have been marketed and used for the same crops since the early 1980s (Bostanian *et al.* 1985). In spite of the economic importance of this pest, little is known about its resistance to insecticides in Canada. A notable exception is the report by Pree (1985) in which the toxicity of several insecticides to *L. lineolaris* collected in peach orchards of Ontario was estimated.

In this study, we estimate the LC₅₀ of azinphos-methyl and cypermethrin is estimated for three distinct populations of *L. lineolaris* along the St Lawrence valley in eastern Canada. This information should be useful in the short term in current IPM programs and in the long term to establish a baseline for resistance management.

The three sites were chosen because they have quantitative differences in the amount of insecticides applied in each region and because there are marked differences in the number of generations per season: three generations in the Niagara Peninsula (Ontario) and Dunham (Quebec), and two generations in La Pocatière (Quebec).

5.4 Materials & Methods

In 2003, a preliminary study was done with specimens collected in the Niagara Peninsula. Laboratory assays were carried out in non-disposable vials. The treated vials were rolled by hand. Unfortunately, this procedure formed an uneven layer of the insecticide inside the vial and the estimated LC₅₀ values were low.

In 2004, specimens were collected from the Niagara Peninsula, Dunham and an old apple orchard in La Pocatière. All these regions have diversified agroecosystems that allow *L. lineolaris* to find temporary refuges from pesticide applications.

5.4.1 Field collection of *Lygus lineolaris*

In 2004, nymphs and adults were collected by a sweep net or tapping from Canada Goldenrod (*Solidago canadensis* L.), shepherd's-purse [*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medicus], wild mustard [*Brassica kaber* (DC) Wheeler], knotweed (*Polygonum aviculare* L.)

and alsike clover (*Trifolium hybridum* L.) on vegetation strips near fruit crops (apple orchards and vineyards) in the Niagara Peninsula (43°15'N, 79°04'W), in Dunham (45°08'N, 72°48'W) and La Pocatière (47°36'N, 69°99'W). *Lygus lineolaris* were collected in late August or early September. This period corresponded to the second generation of *L. lineolaris* in La Pocatière and the third generation in Dunham and Niagara.

Lygus lineolaris adults were placed in wooden framed cages (47 x 32 x 32 cm) covered with a screen (mesh size 2 mm). They were protected from the sun to reduce mortality and they were fed on potato sprouts and organic lettuce. The samples remained in the cages for no longer than 48 h. Once in the laboratory, specimens were reared at 25°C in a controlled growth chamber, under a 16:8 h light: dark photoperiod (source: 22 neon Philips Durotests® of 30 W, 89 cm length) on the same food items. Only nymphs that became adults were used in the toxicological tests.

5.4.2 Laboratory bioassays

The concentrations used in the laboratory were based on 475 L ha⁻¹ of sprayable material (OMAFRA 2001). In the laboratory, this was equivalent to 163 X 10⁻⁵ g active ingredient (AI) L⁻¹ of azinphos-methyl (Guthion® 240 g L⁻¹ SC) and 12.6 X 10⁻⁵ g AI L⁻¹ of cypermethrin (Cymbush® 250 g L⁻¹ EC). Based on preliminary mortality assays carried out in the laboratory, the field concentrations used decreased in geometric progression (azinphos-methyl: 81.4, 57, 32.6, 24.4, 16.3, 12.2, 8.14 and 4.07 X 10⁻⁵ g AI L⁻¹; cypermethrin: 6.32, 4.42, 2.53, 1.26, 0.63, 0.32 and 0.13 X 10⁻⁵ g AI L⁻¹) to estimate the LC₅₀.

The technique developed by Snodgrass (1996a) was adopted. We used 20 mL glass disposable vials that had been treated with azinphos-methyl or cypermethrin. Each insecticide was applied by pipetting 0.5 mL of the insecticide diluted in acetone into each vial. The vials were rolled under a fume hood on a hotdog roller grill (model HRS-50S from APWwyott™, Dallas, TX, USA) rotating at 5.4 rpm until an even layer of insecticide had dried on their inner surface (approximately 20 min). This procedure evaporated the acetone and left a thin evenly distributed insecticide residue. Control vials were treated with 0.5 mL of acetone. In all assays, insecticides were applied to the vials on the same day as the assays were performed. Once the vials had dried, a piece ca 5 mm thick of organically grown green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) was cut and added to each vial as food for the adults. Three unsexed

adults, less than 8 days old, were then placed into the vial. The vial was plugged with muslin, which allowed air circulation into the vials but prevented escape.

In a controlled growth chamber, vials were held in an upright position during each assay. Mortality was estimated after 24 h. Adults were considered dead if they did not move when they were probed with a fine needle. Each treatment was replicated three times at the concentrations reported above. Each replication consisted of ten vials. Each concentration required 90 *L. lineolaris* for a total of 540-630 adult insects per compound.

Probit analyses were carried out on the mortality data with Polo PC (LeOra 1994). The estimated LC_{50} values and LC_{50} ratios for adults treated with each insecticide were estimated as described by Robertson and Preisler (1992) and Bostanian and Larocque (2000).

5.5 Results

The three populations tested had similar responses to both insecticides (Figs 5.1 and 5.2). The two insecticides were highly toxic to *L. lineolaris* adults because 100% of the specimens were dead at only 50% of the recommended concentration for both insecticides. The concentration-mortality responses shown by *L. lineolaris* adults are summarized in Table 5.1. Lethal dose ratios between the three sites and amongst the pesticides are reported in Table 5.2.

5.6 Discussion

Agricultural landscapes can have a pronounced effect on the development of tolerance to pesticides in pests. In the Mississippi delta, *L. lineolaris* adults collected in cotton fields showed significantly higher levels of pyrethroid resistance than in Arizona USA (Cleveland 1985). In the Mississippi delta, Snodgrass (1996b) reported the highest levels of insecticide resistance in *L. lineolaris* adults to pyrethroids and suggested that the resistance resulted from selection with these insecticides in cotton. In contrast, such differences were not observed between the three populations of eastern Canada because of two major factors: (1) the agroecosystem habitats are highly diversified and include untreated hosts that may be used as refuges by pests during heavy pesticide application periods, and 2) the number of treatments are fewer than in the Mississippi delta.

In eastern Canada, *L. lineolaris* are rarely exposed to more than three treatments with multiple and variable classes of insecticides per season. Furthermore, *L. lineolaris* may easily move to unsprayed hosts. However, in Mississippi, up to six treatments of insecticides, also with multiple and variable classes of insecticides, may be applied on crops such as cotton (NRC 2000). Thus, the selection pressure for resistance in the southern United States is greater than in eastern Canada. With such pressure, *L. lineolaris* has developed some tolerance or even resistance to a number of insecticides following repeated exposure (Mani and Wood 1984). In this respect, Zhu and Snodgrass (2003) found that a resistant strain of *L. lineolaris* contained 2.1 times more cytochrome P450 mRNA per microgram total RNA than a susceptible strain.

Lygus lineolaris adults from the three locations were all susceptible to cypermethrin (pyrethroid) and azinphos-methyl (organophosphate). No significant differences were observed between LC_{50} estimates from the three locations for cypermethrin and azinphos-methyl as well or between the two insecticides at the same sites (Table 5.2). Elsewhere Snodgrass (1996a) had noted that OP insecticides had been used to control tarnished plant bugs for several decades without development of serious resistance problems to them. On the other hand, highest levels of resistance were observed with pyrethroids (Cleveland 1985). This is probably due to the longer residual activity of pyrethroids when compared to OPs. Bostanian *et al.* (1985) reported that only 8% of the original azinphos-methyl residue level was detected on apple foliage 9 weeks after two treatments against apple maggot, *Rhagoletis pomonella* (Walsh), compared to 28% of the original cypermethrin residue level detected for the same interval of time and under the same environmental conditions.

In an earlier study, Pree (1985) determined that cypermethrin (1.2 ng per insect) was more toxic to *L. lineolaris* adults than azinphos-methyl (45.9 ng per insect) in peach orchards of Ontario. In the present study, cypermethrin was also more toxic than azinphos-methyl, but observations indicate no significant differences in LC_{50} values between azinphos-methyl and cypermethrin at any of the three sites (Table 5.2). There was also no significant difference for either pesticide at the three sites (Table 5.2).

As *L. lineolaris* is a polyphagous insect (Young 1986), and as agricultural landscapes are diversified in eastern Canada (Bélanger and Grenier 2002), the selection pressure for resistant strains of *L. lineolaris* to azinphos-methyl and cypermethrin is minimal. In contrast,

the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Busck), a key pest of peaches in Niagara peninsula (sometimes found on apples and pears), has a very restricted host range and it is much more exposed to pesticides than *L. lineolaris*. Strains of *G. molesta* resistant to azinphos-methyl have been reported in the literature from Canada (Pree *et al.* 1998).

The period of season when *L. lineolaris* specimens are collected is crucial, as specimens collected later in the season may have been exposed to several pesticide treatments. Snodgrass and Scott (2000) reported that mortality of *L. lineolaris* tested for pyrethroid resistance, during the spring (April-May) and again at the same locations during the fall (September-October) declined significantly from spring to fall by an average of 18.7, 21.3, and 21.7% in Arkansas, Louisiana and Mississippi respectively.

The present results suggest that these two insecticides can be used by growers for the short and probably medium term because they provide adequate control of this pest in the given context encountered in Ontario and Quebec (mosaic agricultural landscape and number of treatments).

Table 5.1: Relative residual toxicity of two insecticides to *Lygus lineolaris* adults collected in eastern Canada at La Pocatière (Quebec), Dunham (Quebec) and Niagara (Ontario) in 2004.

Insecticides used in the laboratory	Locations	Slope (\pm SE)	LC ₅₀ (CI ^a 95%) (X 10 ⁻⁵ g AI litre ⁻¹)	df ^b	χ^2	g (0.95)
Azinphos-methyl	La Pocatière	3.443 (0.623)	15.2 (12.0 – 18.1)	5	1.988	0.126
	Dunham	3.382 (0.554)	11.2 (8.7 – 13.4)	5	0.749	0.103
	Niagara	2.657 (0.368)	16.8 (13.1 – 20.4)	6	3.256	0.074
Cypermethrin	La Pocatière	1.430 (0.214)	0.8 (0.4 – 1.3)	5	5.251	0.156
	Dunham	1.759 (0.211)	1.4 (0.9 – 2.4)	5	8.768	0.167
	Niagara	1.721 (0.350)	1.2 (0.4 – 2.0)	5	6.086	0.332

^a Confidence intervals

^b Number of test individuals is 540 when *df* is equal to 5 and 630 when *df* is equal to 6

Table 5.2: Lethal concentration ratios of two insecticides on three different populations of *Lygus lineolaris* adults in 2004.

Insecticides used in the laboratory	Locations	Ratio ^a	95% Confidence intervals	
			Lower limit	Upper limit
Cypermethrin vs Azinphos-methyl	La Pocatière (Quebec)	0.9997 ns ^b	0.2752	3.6310
	Dunham (Quebec)	0.9998 ns	0.2962	3.3743
	Niagara (Ontario)	0.9996 ns	0.2883	3.4665
Azinphos-methyl	Dunham vs La Pocatière	0.9999 ns	0.2743	3.6452
	La Pocatière vs Niagara	1.0000 ns	0.2840	3.5207
	Dunham vs Niagara	0.9999 ns	0.3126	3.1978
Cypermethrin	La Pocatière vs Dunham	1.000 ns	0.2975	3.3618
	La Pocatière vs Niagara	1.000 ns	0.2794	3.5787
	Niagara vs Dunham	1.000 ns	0.2742	3.6473

^a Calculated according to the lethal dose ratio formula (LeOra 1994; Robertson et Preisler 1992)

^b The LC₅₀ values are not significantly different ($P = 0.05$) because the 95% confidence intervals include the value 1, when they are rounded to the nearest whole number (Robertson et Preisler 1992; Bostanian et Larocque 2000)

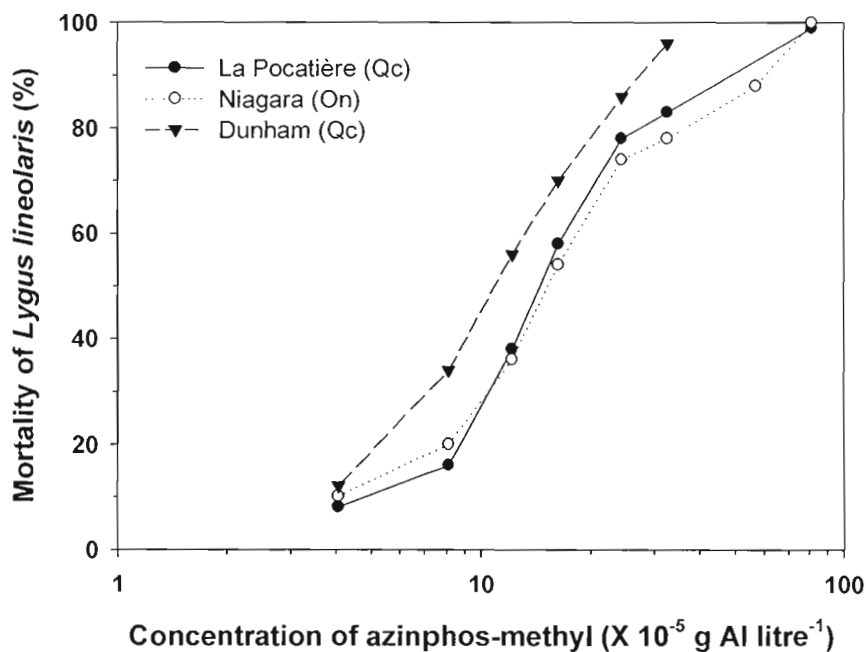


Figure 5.1: Toxicity of azinphos-methyl (Guthion[®] 240 SC) to *Lygus lineolaris* adults from three different regions

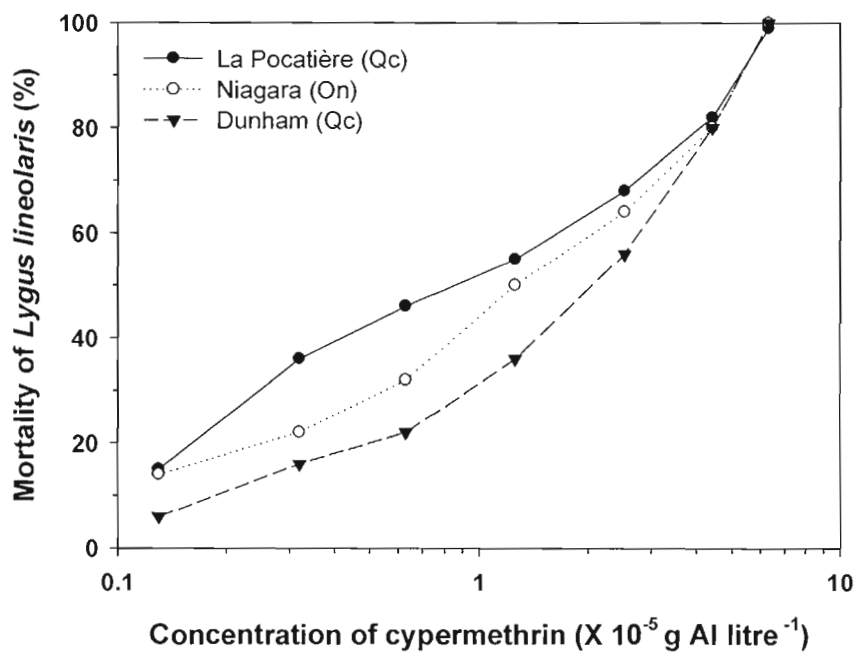


Figure 5.2: Toxicity of cypermethrin (Cymbush[®] 250 EC) to *Lygus lineolaris* adults from three different regions

6. CONCLUSIONS

Les expériences en laboratoire et sur le terrain nous ont permis de constater que *L. lineolaris* se nourrit sur tous les tissus aériens de *V. vinifera* pendant toute la saison végétative. En laboratoire, après une heure de prise de nourriture, *L. lineolaris* n'affecte pas la production de grappe. En vignoble, dans des mousselines, les diminutions de rendement sont significatives ($P = 0.05$) dans 11 % des cas et des augmentations de rendement sont observées dans 5 % des cas; une tendance ($P = 0.01$) à diminuer le rendement a été notée dans 9 % des cas et à augmenter les rendements dans 3 %. La biologie de *V. vinifera* (croissance continue) explique le peu de réponses obtenues après les attaques de *L. lineolaris*. Dans un contexte agronomique, où *L. lineolaris* qui est hautement polyphage peut se déplacer d'une plante hôtes à l'autre dans l'agroécosystème, il paraît peu probable que les densités de populations mesurées puissent causer des problèmes de diminutions de rendement nécessitant un moyen de lutte.

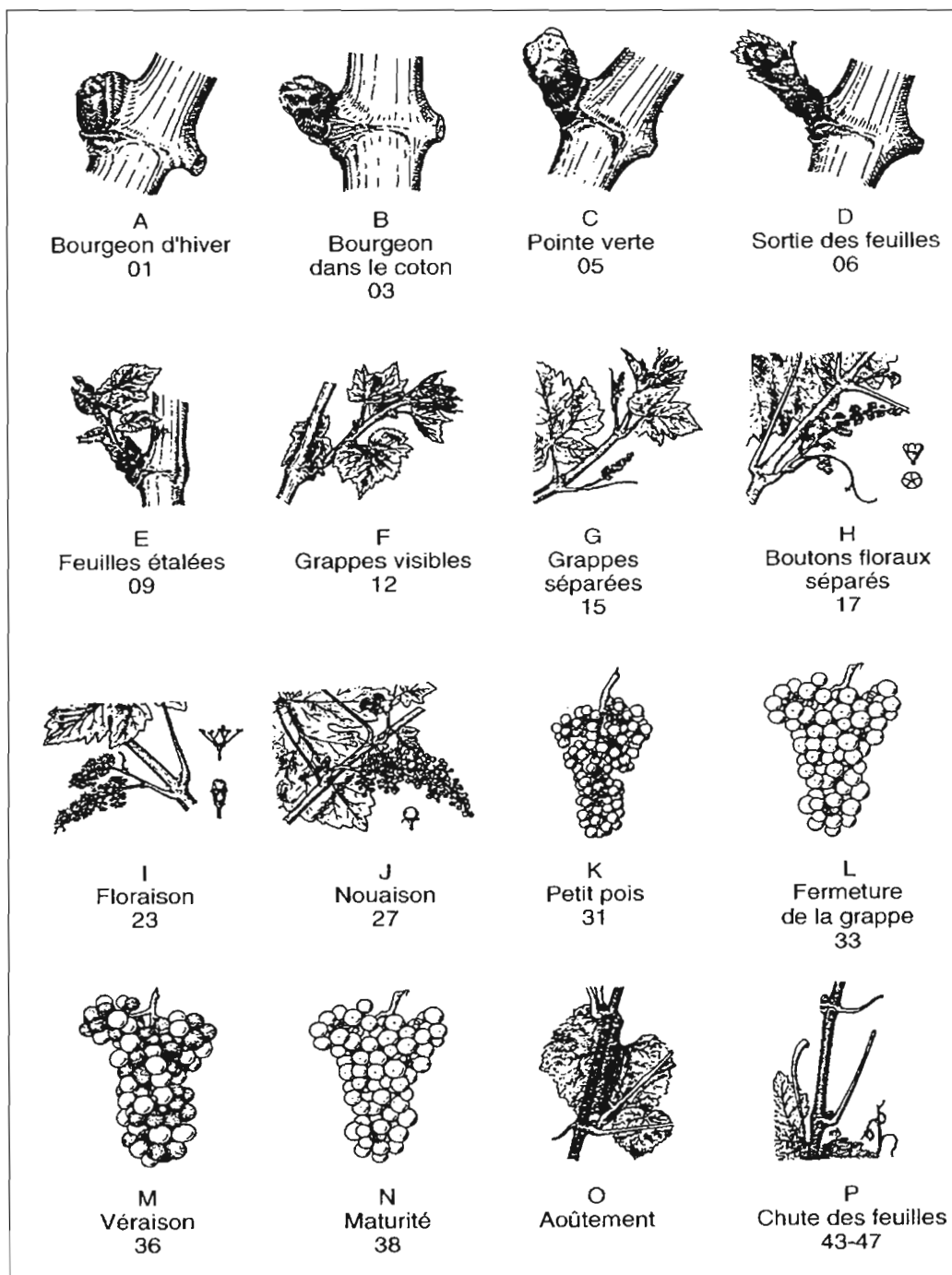
Au Canada, présentement, aucun traitement insecticide n'est recommandé contre *L. lineolaris* en vignobles. Par contre, il faut rester vigilant car les fluctuations de populations d'une année à l'autre peuvent être grandes. Comme nous l'avons évalué, les deux principales matières actives appliquées contre les ravageurs principaux de la vigne (vers de la grappe) ont également un effet majeur sur *L. lineolaris* et permettent certainement de maintenir ses populations sous contrôle. A l'est du Canada (Ontario et Québec), contrairement aux États-Unis (Mississippi), la diversité des habitats présents dans les agroécosystèmes (refuges) permettrait une meilleure efficacité et durabilité des traitements insecticides.

De fortes concentrations de *L. lineolaris* pourraient causer d'autres types de problèmes que les diminutions de rendement. Lors de nos captures de nymphes ou d'adultes, avec des pompes buccales, nous avons constaté que de fortes odeurs et un goût désagréable étaient perceptibles à partir de 15 individus. Ceci pourrait affecter les qualités organoleptiques du vin. Une étude a révélé que *L. lineolaris* émet des composés (hexyl, (*E*)-2-hexenyl butyrates et (*E*)-4-oxo-2-hexenal) lorsqu'elle est stressée (Zhang *et al.* 2007), il serait possible que ces composés puissent dénaturer les qualités organoleptiques des vins. Par comparaison, la coccinelle asiatique (*Harmonia axyridis*) présente ce même désavantage. Des expériences menées en Ontario et en Suisse ont révélé que lorsque *H. axyridis* est stressée

(machine à vendanger), elle relâche du 2-isopropyl-3-méthoxy-pyrazine (IPMP) : un composé retrouvé dans l'hémolymphe et qui est à l'origine des faux goûts dans le vin (Pickering *et al.* 2004, Linder *et al.* 2009). La limite de détection de ce composé par l'être humain est extrêmement basse, de l'ordre de 2 ng l^{-1} d'eau (Pickering *et al.* 2005). En Ontario, lors d'un panel sensoriel, le vin blanc était moins affecté que le vin rouge et une limite sécuritaire de 200 coccinelles par tonne de raisin a été définie, soit une *H. axyridis* pour 0,75 à 1,5 ceps considérant un rendement de 9,8 tonnes ha^{-1} et 2 940 ceps ha^{-1} (Pickering *et al.* 2007). Au Minnesota (États-Unis), sur le cépage Frontenac, il y a une altération organoleptique des vins dès $1,9 \text{ H. axyridis kg}^{-1}$ de raisin ou 0,27 individu par grappe (Galvan *et al.* 2007). Dans la région du centre Nord des États-Unis, *H. axyridis* est devenu un problème tellement important que l'Université du Michigan conseille des traitements insecticides pour diminuer ces populations dans les vignobles (NCRGPMSP 2007). En Suisse, en considérant un poids moyen de grappe de 300 gr pour le cépage Chasselas, on peut estimer que la détection de faux goût peut déjà intervenir à partir d'une densité de 0,3 *H. axyridis* par grappe (Linder *et al.* 2009). Les conséquences du désagrément de *L. lineolaris* en vignoble pourraient être plus liées à l'odeur dégagée par celles-ci qu'à la diminution de rendement. Il serait intéressant d'évaluer un seuil d'intervention pour que les viticulteurs (oenologistes) puissent agir si la pression de population de punaises ternes dans leurs vignobles ou dans leurs cuves est élevée. Le but étant que les vins canadiens demeurent de haute qualité avec des saveurs représentant toute la richesse de son terroir.

Finalement, cette étude comportementale de *L. lineolaris* sur *V. vinifera* a été réalisée à deux échelles, soit microscopiquement en laboratoire et macroscopiquement en vignoble. L'originalité et l'avancement scientifique des travaux présentés dans cette thèse sont une approche multidisciplinaire qui permet l'évaluation des effets potentiels d'un ravageur. Ce travail propose une approche appliquée pour répondre à des questions soulevées par les vitiviniculteurs et en accord avec la production intégrée.

ANNEXE A



Stades repères de la vigne.

Baillod M. et Baggiolini M. 1993. *Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* 25: 7-9.

ANNEXE B

**IDENTIFICATION HISTOLOGIQUE DES LÉSIONS CAUSÉES SUR
L'INFLORESCENCE DE *Vitis vinifera* L. (Vitacées) PAR *Lygus lineolaris* (Palisot de
Beauvois) (Heteroptera: Miridae)**

PAR

D. FLEURY^(1,3), J. PARE⁽²⁾ et C. VINCENT⁽³⁾

- (1) Institut des Sciences de l'Environnement, Université du Québec A Montréal, C.P. 8888, Succursale Centre-Ville, Montréal (Qc), H3C 3P8, Canada.
- (2) Université de Picardie Jules Verne, Faculté des Sciences, 33 rue Saint Leu, 80039 Amiens Cedex 1, France.
- (3) Centre de Recherche et de Développement en Horticulture, Agriculture et Agro-Alimentaire Canada, 430, Boul. Gouin, Saint-Jean-sur-Richelieu (Qc), J3B 3E6, Canada.

Résumé

Dans le cadre d'une investigation générale destinée à évaluer les différents ravages que la punaise terne, *Lygus lineolaris*, est susceptible de causer au vignoble, nous avons évalué et caractérisé les blessures provoquées par l'insecte lors de sa nutrition sur les inflorescences (stades phénologiques H et I). Des punaises ternes, adultes et nymphes de stade 4-5, ont été filmées en laboratoire pour localiser et recenser les blessures infligées à la vigne. L'analyse histologique du matériel, en microscopie optique et en microscopie électronique à balayage, a permis d'établir que la zone des nectaires est nettement le lieu privilégié des lésions pendant la floraison. Comme il n'y a pas de relation fonctionnelle entre nectaires et ovaire, cet impact de prédation par *L. lineolaris* sur la vigne à ces stades phénologiques ne serait pas un risque majeur d'un point de vue agronomique.

Mots-clés: Vigne, *Vitis vinifera*, Punaise terne, *Lygus lineolaris*, Histologie, Dommages.

Histological identification of injuries on *Vitis vinifera* L., (Vitaceæ) at the bloom by *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Heteroptera: Miridae).

Summary

As part of a research project to determine the damage caused by the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*, in vineyards, we studied the injury caused by feeding on grapevines at bloom (phenological stages H to I). Adults and nymphs (4-5 instars) were video-recorded in the laboratory to localize injuries on the plant. Histological studies, done by light and electronic scanning microscopy, revealed that feeding damage at bloom is restricted to the nectaries. As there is no functional relationship between nectaries and ovaries, the impact of the predatory tarnished plant bug, feeding during stages H to I should be marginal from an agronomic standpoint.

Key-words: Grapevine, *Vitis vinifera*, Tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*, Histology, Damage.

1.- Introduction

La punaise terne, *Lygus lineolaris* Palisot de Beauvois (Heteroptera: Miridae), est un ravageur très répandu et important en Amérique du Nord (Kelton 1975). Polyphage, elle est reconnue pour se nourrir sur plus de 385 espèces de plantes-hôtes, incluant 130 espèces d'importance économique (Young 1986). Par exemple, *L. lineolaris* est fréquemment observée dans les cultures fruitières telles que la pomme (Michaud *et al.* 1990), la fraise (Bostanian 1994; Rancourt *et al.* 2000) et la framboise (Boivin *et al.* 1981).

Plusieurs auteurs mentionnent que *L. lineolaris* a été observée se nourrissant au détriment de la vigne (Crosby et Leonard 1914; Kelton 1975; Stewart et Khoury 1976; McGiffen et Neunzig 1985; Young 1986), ce qui suggère que la punaise terne pourrait provoquer des pertes de rendement. La vigne semble particulièrement vulnérable au moment de la floraison (stades phénologiques H et I), d'autant plus que l'ovaire n'est plus protégé après la chute de la corolle. Le disque nectarifère situé sous la base de l'ovaire paraît être un tissu très attractif en raison de la production de nectar. Cette sécrétion sucrée produite pendant la période de floraison serait recherchée par *L. lineolaris* en quête de nourriture.

Cette étude histologique a pour objectif d'identifier et de décrire les caractéristiques des lésions tissulaires engendrées sur la fleur de vigne lors de sa prise de nourriture de la punaise terne. Ceci constitue une première étape pour initier un recensement objectif des effets réels imputables à *L. lineolaris* dans les vignobles, dans le but d'organiser efficacement et au moindre coût les moyens de luttes adéquats, en fonction du cycle saisonnier.

2.- Matériel et méthodes

Les punaises ternes proviennent d'un élevage effectué dans une chambre à atmosphère contrôlée (6.5 x 2.0 x 2.5 m) sur germes de pommes de terre, à une température de 25°C, sous une photopériode de 16 heures de lumière (source: 22 fluorescents Philips Durotests® de 30 W avec une longueur de 89 cm) et 8 heures d'obscurité. Les boutures de vigne, prélevées sur la variété Seyval provenant du vignoble de L'Orpailleur (Dunham, Québec, Canada), ont poussé en serre. Sitôt les stades phénologiques H et I atteints, les inflorescences entières coupées à la base étaient présentées soit à des punaises adultes, soit à des nymphes de stades 4 et 5, affamées au préalable pendant une période de cinq heures. Les déplacements et les piqûres de *L. lineolaris* étaient filmés en continu pendant une heure à l'aide d'une caméra numérique, ce qui a permis d'identifier exactement les lieux de piqûres.

Les échantillons ainsi repérés ont été préparés pour les travaux de microscopie. Pour l'observation en microscopie électronique à balayage, les échantillons fixés dans une solution aqueuse de glutaraldéhyde ont été traités selon la technique du point critique (Cohen et Garnier 1971; Guillaumin 1980), puis métallisés par un mélange or-palladium (10nm d'épaisseur). Les observations ont été réalisées à l'aide d'un microscope électronique à balayage Philips type XL 30 Feg, et les images ont été directement numérisées.

Pour l'observation en microscopie optique, les échantillons fixés dans un mélange formol-alcool-acide acétique (Johansen 1940; Langeron 1949) ont été inclus en paraffine, les coupes sériées de 15µm d'épaisseur colorées à l'hématoxyline ferrique de Heidenhain (Langeron 1949). Les observations ont été réalisées avec un microscope Leitz Orthoplan ou un microscope Leica Wild MZ8, et les images ont été directement numérisées à l'aide d'un appareil photo Nikon Coolpix 5000.

3.- Résultats

3.1.- Echantillons concernés

La fleur de *Vitis vinifera*

Les inflorescences de la vigne (Pl. 1, Fig. 1) sont disposées en grappes d'environ une centaine de fleurs, hermaphrodites, actinomorphes, construites sur le type 5; le calice est composé de 5 sépales rudimentaires soudés en une cupule; 5 pétales alternisépales forment la corolle. Ces pétales d'abord soudés donnent un aspect de capuchon au bouton floral (Pl. 1, fig. 2). Lors de la floraison, la corolle s'ouvre par la base (Pl. 1, Fig. 2). Le capuchon est soulevé puis libéré par la distension des filets des étamines; l'androcée compte 5 étamines (Pl. 1, Figs 2 et 3). Le gynécée ne présente qu'un seul ovaire surmonté d'un style court (Pl. 1, Figs 3 et 4). Sous la base de l'ovaire, précisément entre l'ovaire et le pédicelle de la fleur, se différencie un disque nectarifère réceptaculaire, avec 5 nectaires apparents sous forme de coussinets alternant avec les étamines (Pl. 1, Figs 3 à 5); ces nectaires sécrètent un suc sucré et odorant: le nectar (Echevin 1964). Ils dégénèrent (Pl. 1, Fig. 5) au moment de la nouaison (stade phénologique J) puis disparaissent. Après la fécondation, généralement anémophile (parfois entomophile; l'autofécondation est également possible), les inflorescences développent les futures grappes de raisin (Huglin 1986).

L'appareil buccal de *Lygus lineolaris*

L. lineolaris possède des pièces buccales de type piqueur-suceur (Pl. 2, Fig. 1). A l'extrémité du rostre on observe deux champs sensoriels comprenant chacun 11 sensilles basiconides (Pl. 2, Fig. 2), chémoréceptrices, situées à l'extérieur du canal d'ingestion de nourriture (Pl. 2, Fig. 3). Ces chimiorécepteurs sont nécessaires pour que la punaise terne porte un choix préférentiel lors de la recherche de ses plantes hôtes (Avé *et al.* 1978). Chaque sensille, d'une longueur de 5-6 μ m, est innervée par trois à quatre neurones bipolaires (Hatfield et Frazier 1980). Le stylet ne peut s'allonger: le rostre se plie en fonction de la profondeur de l'attaque (Flemion *et al.* 1954). La longueur du stylet des adultes et des nymphes de stade 4-5 est semblable. L'extrémité du stylet ressemble à un cylindre creux biseauté (Pl. 2, Fig. 4) par lequel *L. lineolaris* prélève sa nourriture liquéfiée dans les tissus de la plante hôte.

3.2.- Zones lésées et piqûres

Déplacements de la punaise sur l'ovaire et caractérisation de la zone piquée

L'enregistrement vidéo des déplacements de l'insecte met en évidence que les adultes et les nymphes de la punaise terne effectuent un repérage concernant la qualité de la zone de nourriture avant de perforer les tissus végétaux à l'aide de leur stylet (Fig. 1). La composition chimique de la plante hôte est déterminante pour l'acceptation ou le refus de la prise de nourriture par l'insecte phytophage (Chapman 1974). La fréquence ainsi que la durée du sondage avec le rostre et le temps pour initier la prise de nourriture sont inversement reliés au temps passé à se nourrir (Hatfield *et al.* 1983). De façon générale, *L. lineolaris* sélectionne une plante hôte et se comporte comme suit: a) déplacement sur l'hôte avec mouvements aléatoires d'antennes et de rostre; b) immobilisation et extension du labre pour sondage du substrat; c) injection d'une salive riche en enzymes (protéase, trypsine, élastase, amylase, pectinase), impliquées dans la digestion et la liquéfaction extra-orale des tissus végétaux. De plus, d'autres enzymes (glucosidase, phospholipase C, lipase) digèrent subséquentement le bol alimentaire au niveau de l'intestin de la punaise terne (Agusti et Cohen 2000); d) insertion du stylet pour pénétrer la source de nourriture; e) ingestion de nourriture liquide, lysat cellulaire;

f) arrêt de la prise de nourriture avec retrait du stylet. Pendant la prise de nourriture, la tête reste immobile et le stylet demeure au même endroit pour des périodes d'au moins 30 secondes, ce qui corrobore les observations de Hatfield *et al.* (1983) sur la moutarde, la luzerne et le coton.

Aspect de l'ovaire intact (témoin)

La durée de la floraison, de l'anthèse jusqu'à la fin de la floraison (stades phénologiques H, I, et J), s'étale sur une période d'environ huit jours, vers la fin mai dans le sud du Québec. L'examen de l'ovaire par microscopie électronique à balayage révèle que la cuticule est recouverte d'une pruine cireuse épaisse (Pl. 3, Fig. 1) qui rend le grain imperméable, ce qui limite les échanges d'eau. Les cellules épidermiques (Pl. 3, Fig. 2) sont agencées à la façon d'un pavage peu bombé, unisérié (Pl. 4, Figs 1 et 2). Sous la base de l'ovaire, le disque nectarifère et les nectaires sont bien visibles (Pl. 3, Fig. 1 ; Pl. 4, Figs 1 et 2). La différence d'aspect entre les cellules épidermiques de l'ovaire et celles qui composent les bourrelets nectarifères est notable (Pl. 3, Fig. 2 ; Pl. 4, Fig. 2): celles-ci sont caractérisées par leur surface convexe et un aspect particulièrement turgescent due à la présence du nectar.

Aspect des régions lésées

L'observation en microscopie électronique à balayage permet d'examiner la surface de la zone perforée par *L. lineolaris* et de connaître l'aspect du point de pénétration du stylet (Pl. 5, Figs 1 à 4). L'examen d'un grand nombre d'ovaires a montré que la punaise terne privilégie systématiquement la région des nectaires et du disque nectarifère comme zone de prélèvement de nourriture. La pénétration du stylet entraîne la formation d'une blessure par incision de la cuticule de l'épiderme et des cellules sous-jacentes sur une longueur d'environ 4 à 6 cellules épidermiques et sur une profondeur de 3 à 5 assises cellulaires (Pl. 5, Figs 1 à 4). Le stylet éventre les parois cellulaires et pénètre directement dans le cytoplasme des cellules épidermiques; les cellules lésées sont vidées de leur contenu (Pl. 5, Figs 3 et 4). Les blessures causées par *L. lineolaris* ont toutes ce même aspect d'une ouverture béante de forme allongée. La taille de la lésion peut néanmoins varier en fonction du temps passé par la punaise terne pour se nourrir. Les lésions provoquées par *L. lineolaris* sont restreintes aux zones épidermique et sous épidermique de l'organe attaqué, généralement le nectaire, et leurs profondeurs maximales ne dépassent pas la moitié de l'épaisseur totale des tissus nectarifères (Pl. 6, Figs 1 et 3), comme le confirme l'examen des coupes sériées, préparées pour l'étude en microscopie optique.

Les traces de la pénétration du stylet sont bien visibles sur une profondeur de 3 à 5 assises cellulaires (Pl. 6, Figs 1 à 4). Par ailleurs, on constate que la blessure est nette, en forme de fente, dans le cas d'un temps de séjour court du stylet dans les tissus végétaux (Pl. 6, Figs 1 et 2). Au contraire elle prend la forme d'un cratère évasé, avec des cellules épidermiques déchiquetées sur une plus large zone quand la punaise se nourrit longuement au même endroit (Pl. 6, Figs 3 et 4). Ainsi, une nymphe de stade 4-5 a pu être enregistrée en train de se nourrir au même endroit pendant 25 minutes.

L'enregistrement vidéo du comportement de *L. lineolaris* montre que l'insecte visite aussi quelques inflorescences portant des boutons floraux au stade H (Fig. 1), c'est-à-dire juste avant la chute de la corolle lorsque, les nectaires ne sont pas encore véritablement fonctionnels. Cependant, les lésions résultant de ces quelques cas rares présentent un aspect, qui ne diffère pas de celui des blessures précédemment décrites.

Aucune trace de piqûres n'est décelable sur l'ovaire lui-même au cours des stades phénologiques H à I de la vigne.

Finalement, nos observations montrent que la nutrition de *L. lineolaris* sur l'inflorescence de la vigne concerne essentiellement les zones nectarifères, lorsqu'elles sont fonctionnelles, c'est-à-dire lors de la période de floraison-pollinisation, avant la dégénérescence du disque nectarifère et des nectaires.

4. Discussion

Les dégâts provoqués à la vigne par la punaise terne peuvent être la conséquence de deux types de comportements: la nutrition et l'oviposition. Nous n'avons étudié ici que le premier type et pris en compte que la prédation au niveau de l'inflorescence par des insectes affamés. Il s'agit d'une première étape de notre recherche afin de mieux comprendre les relations entre *V. vinifera* et *L. lineolaris* et de mieux estimer l'impact de la nutrition de cet insecte sur le rendement de la vigne dans le cadre de pratiques de phytoprotection.

Le protocole expérimental et l'enregistrement vidéo du comportement de la punaise terne sur la vigne ont permis faire la liaison entre le type de lésion et le mode de nourriture au même endroit. La lacération des cellules sous épidermiques du parenchyme et du mésophylle (Pl. 5, Figs 3 et 4; Pl. 6, Figs 2 et 4), ne peut correspondre qu'à des mouvements rapides du stylet dans la cellule et entre les cellules de la plante, comme l'écrit Backus (1988). Par ailleurs, la salive injectée lors de la pénétration du stylet dans les tissus végétaux agirait comme un transporteur de stimuli des sensilles de l'extrémité du stylet (Miles 1972). Cette salive susceptible d'intervenir dans la destruction des parois cellulaires faciliterait la prise de nourriture pour la punaise terne. Il semblerait que plus la durée de prise de nourriture est longue, plus les enzymes digestives dégraderont les tissus végétaux, et plus la blessure sera importante. En conséquence, l'ampleur des dégâts causés sur les nectaires serait proportionnelle au temps que *L. lineolaris* passe à se nourrir.

L. lineolaris peut se nourrir sur plusieurs espèces de plantes. Ainsi, au cours d'une saison de végétation l'adulte volant exploite une séquence de différentes espèces de plantes hôtes en fonction de leurs degrés de maturation et corrélativement d'attraction (Stewart et Gaylor 1991). Au Québec, ce ravageur s'intéresse successivement à *Trifolium pratense*, *Centaurea jacea*, *Solidago canadensis* (Boivin *et al.* 1981). Une telle répétitivité du comportement traduit une véritable recherche préférentielle de la punaise terne des tissus végétaux arrivés dans un état physiologique spécifique de pleine croissance, particulièrement ceux des boutons floraux turgescents (Williams et Tugwell 2000).

Nos résultats montrent clairement que pour la vigne, la nutrition de *L. lineolaris* s'exerce de façon très privilégiée aux dépens des tissus les plus turgescents, tendres, riches en nutriments, du bouton floral et de la fleur au moment de la fécondation: le disque nectarifère et les nectaires au moment de leur activité sécrétrice de nectar. En effet, les traces de blessures ne sont enregistrées qu'au niveau des nectaires et pendant un court laps de temps correspondant à la période de mise en place des stades phénologiques H à I de la vigne. L'explication serait double: (i) d'ordre mécanique avec la présence d'une cuticule épaisse et de tissus compacts qui composent le jeune ovaire, donc des tissus très difficiles à perforer, (ii) d'ordre nutritionnel avec la présence de tissus plus tendres contenant du nectar. D'ailleurs après la dégénérescence des nectaires, les stades phénologiques H à I étant achevés, la punaise terne semble montrer une désaffection pour la vigne, et privilégier les végétaux possédant des tissus tendres, à suc odoriférant, présents dans l'agroécosystème. Par la suite, *L. lineolaris* peut de nouveau être observée sur les plants de vigne, se nourrissant sur de

nouvelles inflorescences ou sur des extrémités de tiges en pleine croissance. Les dégâts causés en fin de saison par la punaise terne restent négligeables au plan économique. En effet, les fruits issus de fleurs tardives ne seront pas récoltés ou seront taillés par le viticulteur, comme il est de pratique courante dans le sud-ouest québécois. La vigne est certes une plante pérenne sur laquelle la punaise terne se retrouve tout au long de la saison de végétation (Bostanian *et al.* 2003). Cependant l'insecte semble avoir adopté des périodes de prédation privilégiées vis-à-vis du plant de vigne, et être particulièrement actif au printemps, au moment où les autres plantes de l'agroécosystème, aux tissus moins tendres, moins odoriférants, apparaissent moins attrayantes que la vigne à la même période. D'autre part, l'ampleur des dégâts causés par la prédation au niveau des cellules des tissus nectarifères de la vigne par *L. lineolaris* semble directement liée au temps de l'action du stylet et de la salive lytique.

Il semble désormais bien établi que la plupart des blessures consécutives aux piqûres de l'inflorescence concernent les seuls nectaires. D'un point de vue morpho-fonctionnel et en particulier au niveau vasculaire, le tissu nectarifère est totalement indépendant de l'ovaire. La lésion pour la nutrition de *L. lineolaris* ne paraît donc pouvoir induire un effet néfaste important sur le développement normal de l'ovaire.

Afin de préciser totalement si les dégâts potentiellement liés à la prédation par *L. lineolaris* sur la fleur de vigne sont réellement négligeables, l'étude de l'impact de la punaise terne au cours des stades phénologiques K et L sera poursuivie. Il est probable que la quantité de nourriture prélevée sur l'inflorescence par la punaise terne reste dans tous les cas insuffisante pour avoir quelquel'effet d'importance sur le rendement économique du vignoble. Il est néanmoins possible d'envisager que certaines blessures provoquées pourraient permettre des infections secondaires par divers micro-organismes; consécutivement les baies ainsi attaquées pourraient se nécroser, déterminant au final une certaine perte sur le rendement du vignoble.

S'il est désormais établi que la pression de prédation de *L. lineolaris* n'a très probablement que peu d'effets sur l'inflorescence de la vigne, il ne faut toutefois pas perdre de vue que l'insecte est susceptible de s'attaquer à d'autres organes sensibles dont la destruction peut être beaucoup plus lourde de conséquences, comme par exemple le méristème caulinaire végétatif ou, pire, en phases préflorale ou florale.

Les perspectives ouvertes par nos résultats permettent aux recherches actuelles sur les relations entre *V. vinifera* et *L. lineolaris* de s'appuyer sur les critères histologiques des structures attaquées par la punaise terne et, par conséquent, d'évaluer sur des bases objectives l'impact réel de l'insecte sur la formation de la baie de raisin.

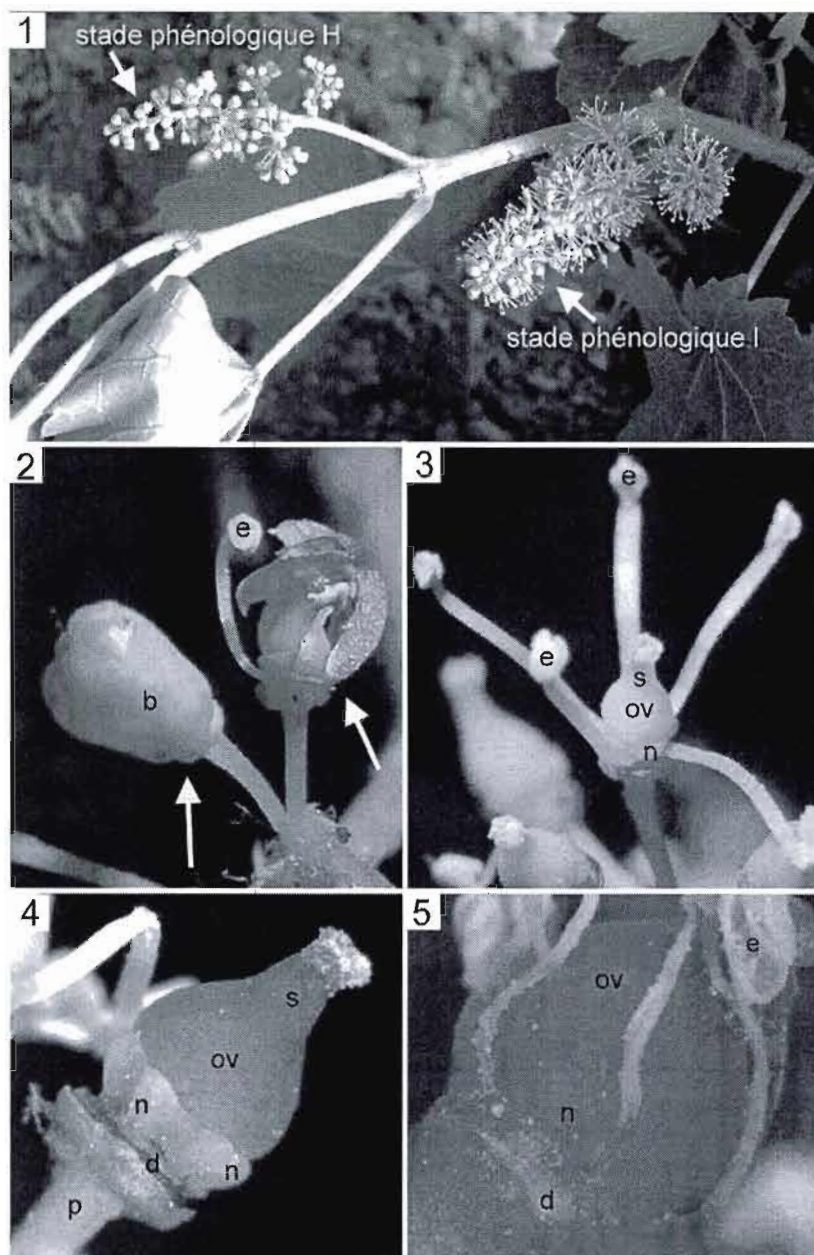


Planche 1: Inflorescence et fleur de la vigne (*Vitis vinifera* L.)

Fig. 1: Inflorescences, stades phénologiques H et I; Fig. 2: à gauche fleur fermée, bouton floral (b): les pétales sont encore soudés au réceptacle par leur base (flèche). A droite, la fleur au début de l'anthèse: la corolle s'ouvre à la base (flèche) et les étamines (e) sont visibles (Gr. X: 10); Fig. 3: fleur dépourvue de corolle: les 5 étamines (e) sont fixées à la base de l'ovaire (ov) surmonté d'un style court (s); n: nectaire (Gr. X: 8,5); Fig. 4: disque nectarifère réceptaculaire (d) et nectaires (n) à la base de l'ovaire (ov); p: pédicelle (Gr. X: 24); Fig. 5: disque nectarifère (d) et nectaires (n) en cours de dégénérescence; e: étamines, ov: ovaire (Gr. X: 33)

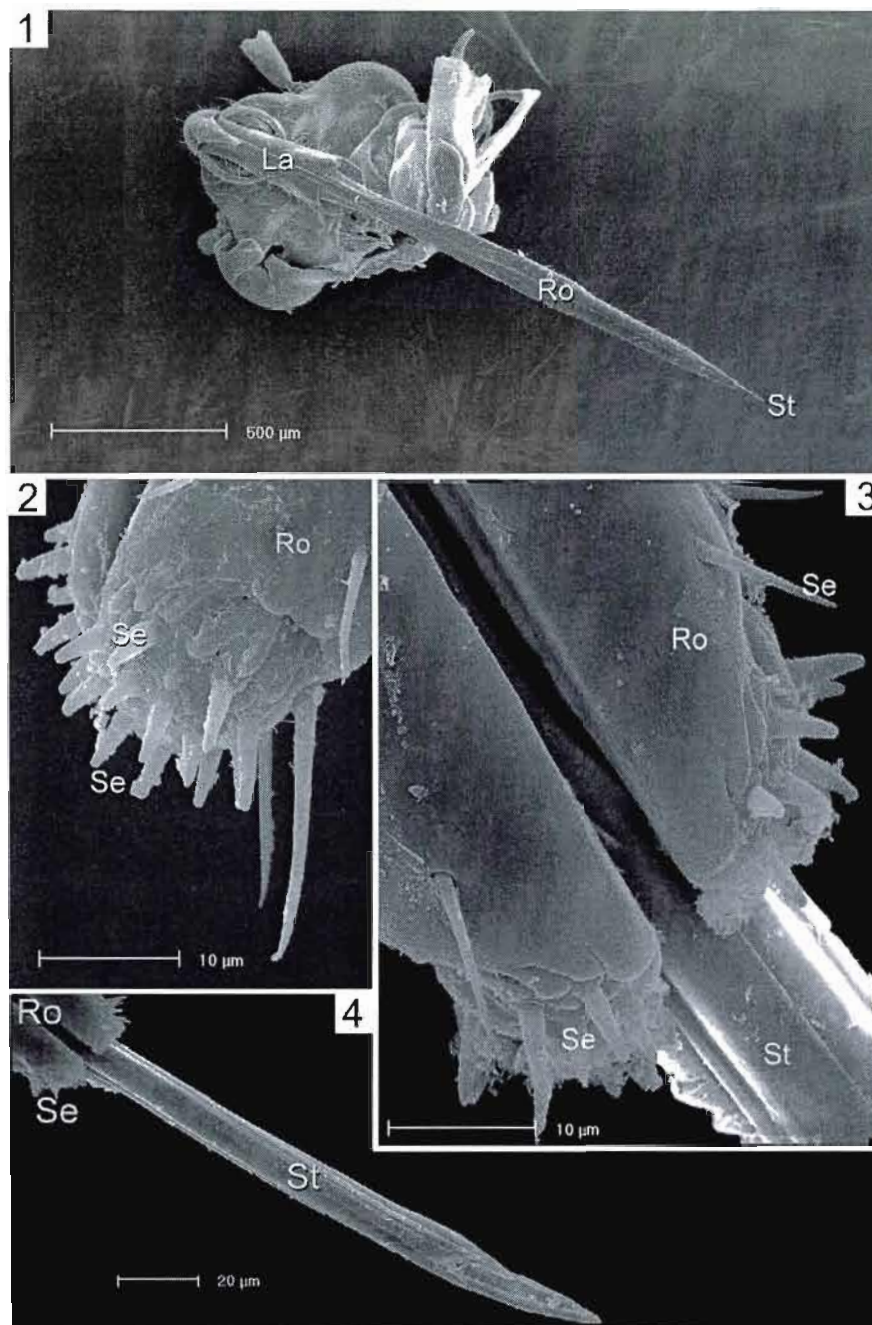


Planche 2: Appareil piqueur-suceur d'une punaise terne (nymphes stade 4-5) (*Lygus lineolaris* Palisot de Beauvois) observé au microscope électronique à balayage
 Fig. 1: vue générale des pièces buccales avec le labre (La) et le stylet (St) partiellement sorti du rostre (Ro) (Gr. X: 60); Fig. 2: sensilles (Se) à l'extrémité du rostre (Ro) (Gr. X: 2500); Fig. 3: détail de l'extrémité du rostre (Ro) avec présence des sensilles (Se) et du stylet (St) (Gr. X: 2650); Fig. 4: aperçu du stylet (St), des sensilles (Se) et du rostre (Ro) (GR. X: 700)

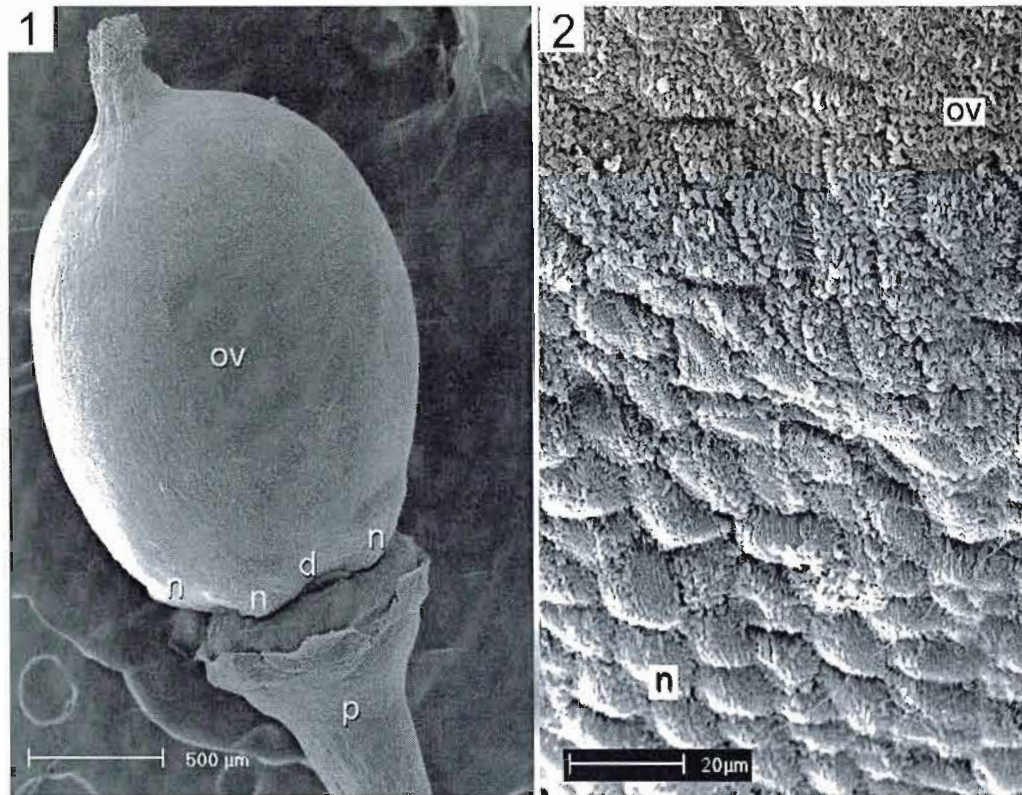


Planche 3: Ovaire témoin, observé en microscopie électronique à balayage

Fig. 1: vue générale de l'ovaire (ov), du disque nectarifère (d), et des nectaires (n); p: pédicelle (Gr. X: 40); Fig. 2: cellules épidermiques bombées, turgescents des nectaires (n) et pruineuses de l'ovaire (ov), (Gr. X: 900)

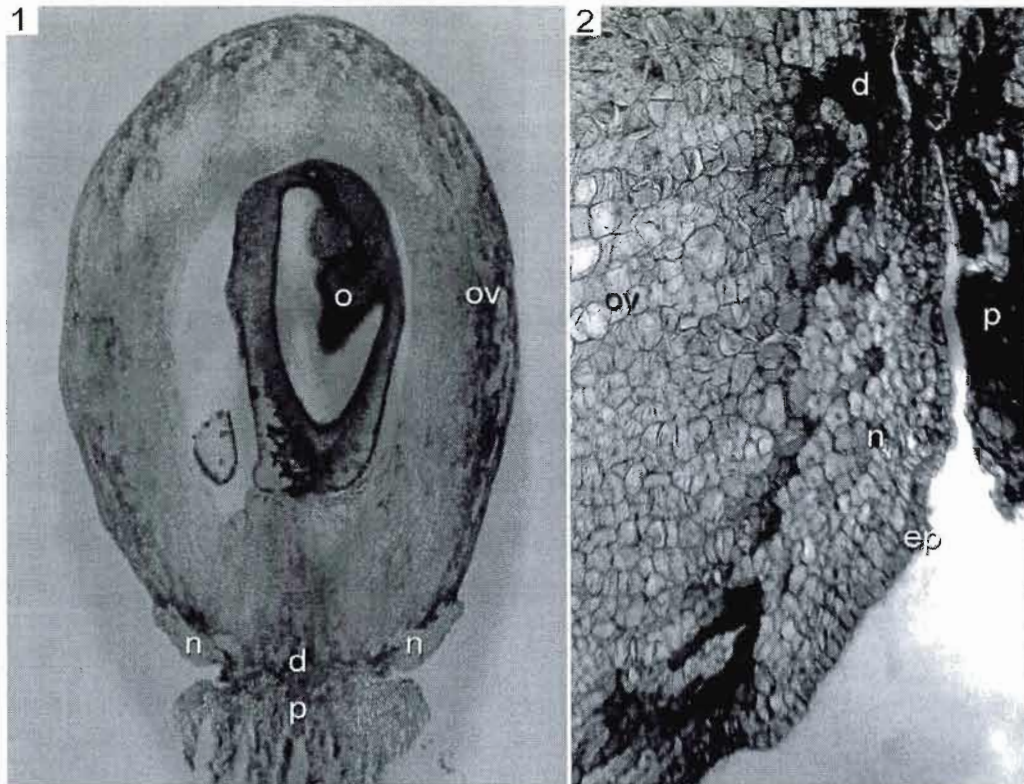


Planche 4: Ovaire témoin, coupe longitudinale observée en microscopie optique

Fig. 1: vue générale de l'ovaire (ov); o: ovule, p: pédicelle, n: nectaire, d: disque nectarifère (Gr. X: 40); Fig. 2: aspect et structure des cellules constituant l'ovaire (ov), le disque nectarifère (d) - les nectaires (n), l'épiderme unisérié (ep); p: pédicelle (Gr. X: 235)

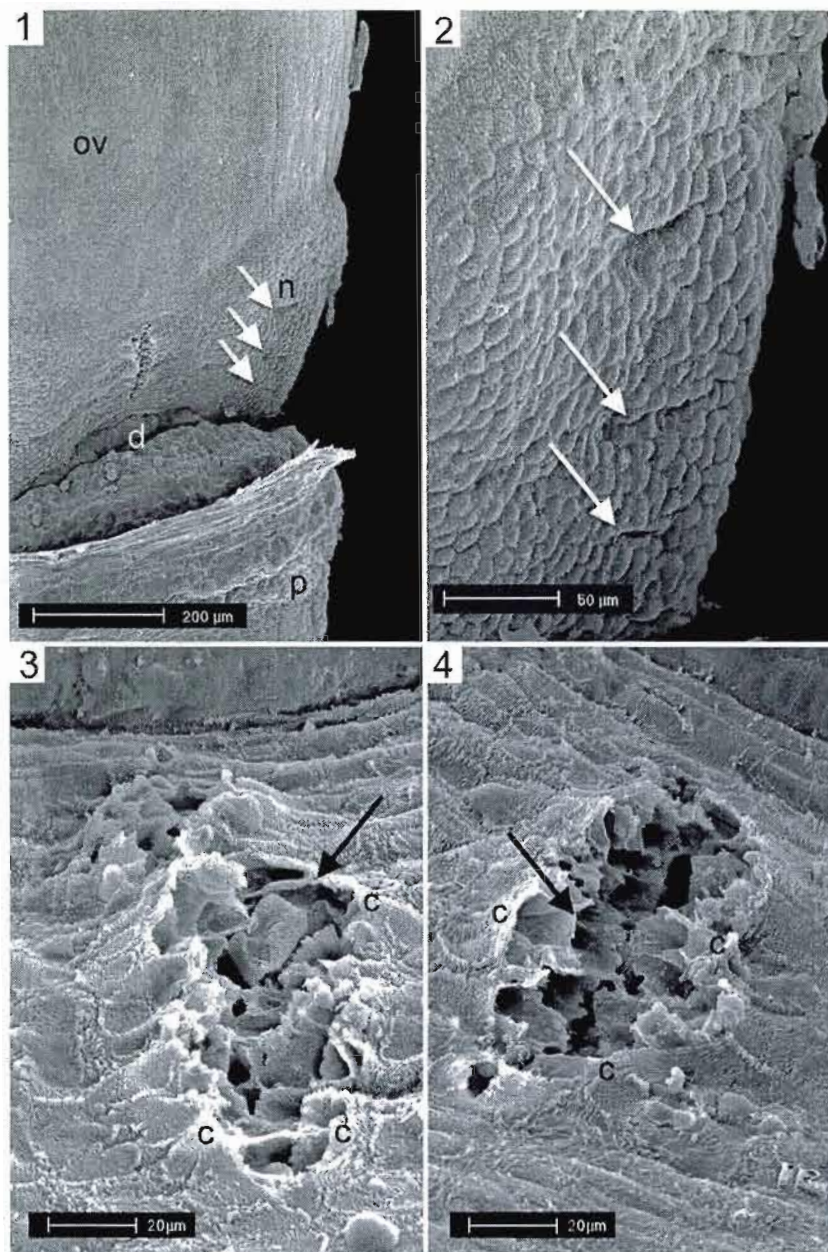


Planche 5: Aspects de différentes blessures, observées en microscopie électronique à balayage, dans la zone nectarifère située à la base de l'ovaire

Fig. 1: localisation des blessures (flèches), au niveau d'un nectaire (n); ov: ovaire, p: pédicelle (Gr. X: 125); Fig. 2: vue détaillée d'une série de blessures (flèches) après piqûres dans la zone nectarifère (Gr. X: 430); Fig. 3: blessure étroite et profonde résultant d'un temps de piqûre long (Gr. X: 825); Fig. 4: aspect lacéré des cellules de la région nectarifère, pour un temps de piqûre court (Gr. X: 825)

Dans les deux cas on observe les dégâts consécutifs à la déchirure des parois cellulaires (flèches); c: cuticule

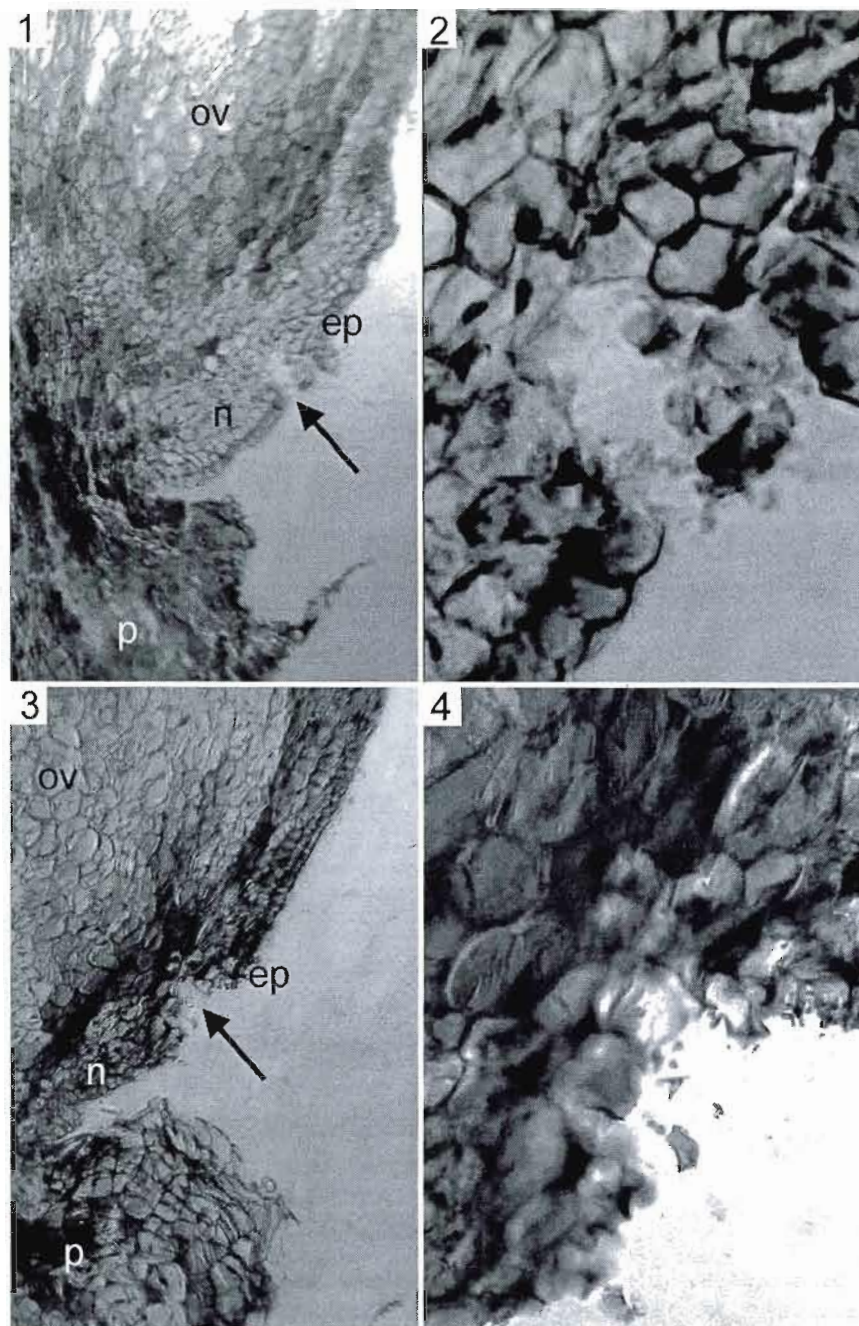


Planche 6: Aspects de différentes blessures en fonction du temps de prédation, observées en microscopie optique dans la zone nectarifère

Fig. 1: nutrition brève: blessure étroite et profonde (flèche) dans un nectaire (n); o: ovaire, p: pédicelle, ep: épiderme (Gr. X: 165); Fig. 2: aspect détaillé de cette blessure (Gr. X: 910); Fig. 3: nutrition longue: blessure large et peu profonde dans un nectaire (n); ov: ovaire, p: pédicelle (Gr. X: 205); Fig. 4: aspect détaillé de cette blessure (Gr. X: 910)



Figure 1: Punaise terne (*L. lineolaris*), nymphe (stade 4), piquant la base d'un bouton floral de la vigne dans la zone du disque nectarifère

ANNEXE C

PUBLICATIONS

- Fleury D.**, Bostanian N.J., Mauffette Y. et Vincent C. 2007. Residual toxicity of two insecticides on three field populations of *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae) collected along the St-Lawrence valley in eastern Canada. *Pest Management Science* **63**: 495-499.
- Fleury D.**, Paré J., Vincent C. et Mauffette Y. 2007. Seasonal abundance and feeding impact of *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae) on *Vitis vinifera*. *Bulletin de la Société Suisse d'Agronomie* **21**: 26-27 (Résumé).
- Fleury D.**, Paré J., Vincent C. et Mauffette Y. 2006. Feeding impact of *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae) on *Vitis vinifera*: a behavioural and histological study. *Canadian Journal of Botany* **84**: 493-500.
- Fleury D.**, Bostanian N.J., Mauffette Y. et Vincent C. 2006. Residual toxicity of azinphos-methyl and cypermethrin on tarnished plant bug populations collected along the St-Lawrence valley, Canada. Dans Stich K., Steffer R., Halbwirth H. et Persen U. (Eds). COST Action 864: Pome fruit health research in Europe (current status 2006). Pp. 109-111.
- Fleury D.**, Paré J. et Vincent C. 2003. Identification histologique des lésions causées sur l'inflorescence de *Vitis vinifera* L. (Vitacées) par *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Heteroptera: Miridae). *Revue de Cytologie et de Biologie Végétale, Le Botaniste* **26** (1/2):8-18.
- Fleury D.**, Paré J. et Vincent C. 2003. Intérêt pour la stratégie phytosanitaire de l'étude histologique des lésions causées par *Lygus lineolaris* sur *Vitis vinifera*. *Phytoprotection* **84**: 171.

PRESENTATIONS ET AFFICHES

- Fleury D.**, Paré J., Vincent C. et Mauffette Y. 2007. Seasonal abundance and feeding impact of *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae) on *Vitis vinifera*. 15^{ème} Assemblée Annuelle de la Société Suisse d'Agronomie (SSA). Zürich (Suisse): 9 mars (Affiche).
- Fleury D.**, Bostanian N.J., Mauffette Y. et Vincent C. 2006. Residual toxicity of azinphos-methyl and cypermethrin on tarnished plant bug populations collected along the St-Lawrence valley, Canada. COST Meeting 864: Combining traditional and advanced strategies for plant protection in pome fruit growing. Vienne (Autriche): 21 novembre (Affiche).
- Fleury D.**, Vincent C., Mauffette Y. et Paré J. 2005. La punaise terne en vignoble. 132^{ème} Réunion Annuelle, Société d'Entomologie du Québec (SEQ). Orford (Qc): 27 octobre (Présentation).
- Fleury D.**, Paré J., Vincent C. et Mauffette Y. 2005. Seasonal abundance and feeding impact of *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois)(Heteroptera:Miridae) on *Vitis vinifera*. XXXV Réunion annuelle de la European Society for New Methods in Agricultural Research (ENSA). Amiens (France): 29 août au 2 Septembre (Affiche).
- Fleury D.**, Vincent C. et Mauffette Y. 2005. Seasonal abundance of *Lygus lineolaris* in a Quebec vineyard and its effect on yield. Réunion conjointe - 90th Annual Meeting- Ecological Society of America (ESA) and IX International Congress of Ecology (INTERCOL). Montréal (Qc): 10 août (Affiche).
- Fleury D.**, Vincent C., Mauffette Y. et Paré J. 2005. La punaise terne en vignobles. "Production et protection de la vigne au Québec" dans le cadre de La Semaine Horticole. Boucherville (Qc): 11 février (Présentation).

- Fleury D.**, Vincent C. et Mauffette Y. 2005. Seasonal abundance of adult *Lygus lineolaris* inside and at the periphery of a vineyard. International Symposium on the Ecology and Management of *Lygus* Plant Bugs. Ottawa (On): 31 janvier (Présentation).
- Fleury D.**, Vincent C., Mauffette Y. et Paré J. 2004. Impact et écologie de *Lygus lineolaris* (Miridae) en vignobles. 131^{ème} Réunion Annuelle de la Société d'Entomologie du Québec (SEQ). Montréal (Qc): 4 novembre (Affiche).
- Fleury D.**, Vincent C., Paré J. et Mauffette Y. 2004. Ecology and feeding of tarnished plant bug in vineyards. Au Symposium Biology and Management of Plant Bugs (Heteroptera: Miridae) Durant le XXII International Congress of Entomology. Brisbane (Australie): 18 août (Présentation).
- Fleury D.**, Paré J., Vincent C. et Mauffette Y. 2004. Relations entre la punaise terne et la vigne lors de la floraison. Symposium sur la Protection des Végétaux durant le 72^{ème} Congrès de l'ACFAS. Montréal (Qc): 10 mai (Présentation).
- Vincent C., **Fleury D.**, Mauffette Y. et Paré J. 2004. Études sur l'écologie et le comportement de nutrition de la punaise terne en vignobles. Journée viticole organisée par l'Association des Vignerons du Québec (AVQ) avec Agriculture and Agro-alimentaire Canada (AAC). Saint-Jean-sur-Richelieu (Qc): 19 mars (Présentation).
- Fleury D.**, Paré J. et Vincent C. 2003. Intérêt pour la stratégie phytosanitaire de l'étude histologique des lésions causées par *Lygus lineolaris* sur *Vitis vinifera*. 95^{ème} Réunion Annuelle, Société de Protection des Plantes du Québec (SPPQ). Saint-Hyacinthe (Qc): 5 novembre (Présentation).

8. BIBLIOGRAPHIE

- Agriculture et Agro-alimentaire Canada (AAC). 2006. Profil de la culture de la vigne au Canada: programme de réduction des risques liés aux pesticides. Centre pour la lutte antiparasitaire. 78 p.
- Agusti N. et Cohen A.C. 2000. *Lygus hesperus* and *L. lineolaris* (Hemiptera: Miridae), phytophage, zoophages, or omnivores: evidence of feeding adaptations suggested by salivary and midgut digestive enzymes. *J. Entomol. Sci.* 35: 176-186.
- Allen M. et Merthens J. 2008. Molecular cloning and expression of three polygalacturonase cDNAs from the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *J. Ins. Sci.* 8: 27.
- Andres L.A., Burton V.E., Smith R.F. et Swift J.E. 1955. DDT tolerance by *Lygus* bugs on seed alfalfa. *J. Econ. Entomol.* 48: 509-513.
- Atanassov A, Shearer P.W., Hamilton G. et Polk D. 2002. Development and implementation of reduced risk peach arthropod management program in New Jersey. *J. Econ. Entomol.* 95: 803-812.
- Auderset G. 1987. Biologie végétale. Éditions Florimontanes, Genève (Suisse). 268 p.
- Avé D., Frazier J.L. et Hatfield L.D. 1978. Contact chemoreception in the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*. *Entomol. Exp. Applic.* 24: 17-27.
- Backus E.A. 1988. Sensory systems and behaviours which mediate Hemipteran plant-feeding: a taxonomic overview. *J. Insect Physiol.* 34: 151-165.
- Baillod M. et Baggiolini M. 1993. Les stades repères de la vigne. *Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* 25: 7-9.
- Bélanger L. et Grenier M. 2002. Agriculture intensification and forest fragmentation in the St. Lawrence valley, Québec, Canada. *Landsc Ecol* 17:495-507.
- Belliveau S., Smit B. et Bradshaw B. 2006. Multiple exposures and dynamic vulnerability: evidence from the grape industry in the Okanagan Valley, Canada. *Global Environ. Change* 16: 364-378.
- Bethzayda M. et Obrycki J.J. 2004. Abundance and parasitism of *Lygus lineolaris* in alfalfa and strawberry fields. *J. Kansas Entomol. Soc.* 77: 69-79.
- Blackmer J.L., Byers J.A. et Rodriguez-Saona C. 2008. Evaluation of color traps for monitoring *Lygus* spp.: design, placement, height, time of day, and non-target effects. *Crop Prot.* 27: 171-181.
- Boivin G., Mailloux G., Paradis R.O. et Pilon J.-G. 1981. La punaise terne, *Lygus lineolaris* (P. de B.) (Hemiptera: Miridae), dans le sud-ouest du Québec: I. Information additionnelle sur son comportement dans les fraisières et framboisières. *Ann. Soc. Entomol. Qc.* 26: 131-141.
- Boivin G., Mailloux G., Paradis R.O. et Pilon J.-G. 1981. La punaise terne, *Lygus lineolaris* (P. de B.) (Hemiptera: Miridae), dans le sud-ouest du Québec: II. Fluctuations saisonnières des populations sur certaines mauvaises herbes. *Ann. Soc. Entomol. Qc* 26: 159-169.
- Boivin G., Stewart R.K. et Rivard I. 1982. Sticky traps for monitoring phytophagous mirids (Hemiptera: Miridae) in an apple orchard in southwestern Quebec. *Environ. Entomol.* 11: 1067-1070.

- Boivin G. et Stewart R.K. 1982. Identification and evaluation of damage to McIntosh apples by phytophagous mirids (Hemiptera: Miridae) in southwestern Québec. *Can. Entomol.* 114: 1037-1045.
- Boivin G. et Stewart R.K. 1983. Seasonal development and interplant movement of phytophagous mirids (Hemiptera: Miridae) on alternate host plants in and around an apple orchard. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 76: 776-778.
- Boivin G. et Stewart R.K. 1984. Effect of height and orientation of flight traps for monitoring phytophagous mirids (Hemiptera: Miridae) in an orchard. *Rev. Entomol. Qué* 29: 17-21.
- Bolduc E., Buddle C.M., Bostanian N.J. et Vincent C. 2005. Ground-dwelling spider fauna (Araneae) of two vineyards in southern Quebec. *Environ. Entomol.* 34: 635-645.
- Bommarco R. et Fagan F.F. 2002. Influence of crop edges on movement of generalist predators: a diffusion approach. *Agric. Forest Entomol.* 4: 21-30.
- Borror D.J., Triplehorn C.A. et Johnson N.F. 1989. An introduction to the study of insects. 6th Edition. Saunders College Publishing. Philadelphia, PE (USA). 875 p.
- Bostanian N.J., Mailloux G., Binns M.R. et Thibodeau P.O. 1990. Seasonal fluctuations of *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera: Miridae) nymphal populations in strawberry fields. *Agric. Ecos. Environ.* 30: 327-336.
- Bostanian N.J. 1994. The tarnished plant bug and strawberry production. Agriculture and Agri-Food Canada. Technical Bulletin 1994-1 E. 28 p.
- Bostanian N.J. et Larocque N. 2000. The use of LC₅₀ ratios to determine the toxicity of three insecticides used in Quebec apple orchard to the mirid *Hyaliodes vitripennis* (Say). *IOBC WPRS Bull.* 23: 93-98.
- Bostanian N.J., Bélanger A. et Rivard I. 1985. Residues of four synthetic pyrethroids and azinphos-methyl on apple foliage and their toxicity to *Amblyseius fallacis* (Acari: Phytoseiidae). *Can. Entomol.* 117: 143-152.
- Bostanian N.J., Vincent C., Goulet H., Lesage L., Lasnier J., Bellemare J. et Mauffette Y. 2003. The arthropod fauna of Quebec vineyards with particular reference to phytophagous arthropods. *J. Econ. Entomol.* 96: 1221-1229.
- Bouchard P., Lesage L., Goulet H., Bostanian N.J., Vincent C., Zmudzinska A. et Lasnier J. 2005. Weevil (Coleoptera: Curculionidae) diversity and abundance in two Quebec vineyards. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 98: 565-574.
- Bournier A. 1976. Grape Insects. *Annu. Rev. Entomol.* 22: 355-376.
- Broadbent A.B, Mason P.G., LaChance S., Whistlecraft J.W., Soroka J.J. et Kuhlmann U. 2002. *Lygus* spp., plant bugs (Hemiptera: Miridae). Pp. 152-159. Dans Mason P.G. et Huber J.T.: Biological control programmes in Canada, 1981-2000. CABI Publishing, New York. 583 p.
- Butts R.A. & Lamb R.J. 1991: Seasonal abundance of three *Lygus* species (Heteroptera: Miridae) in oilseed rape and alfalfa in Alberta. *J. Econ. Entomol.* 84: 450-456.
- Byers R.A., Bahler C.C., Strout W.L., Leath K.T. et Hoffman L.D. 1999. The establishment of alfalfa into different maize residues by conservation-tillage and its effect on insect infestation. *Grass Forage Sci.* 54: 77-86.
- Caccia R., Baillod M. et Mauri G. 1980. Dégâts de la punaise verte de la vigne dans le vignoble de la Suisse italienne. *Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* 12: 275-279.
- Caccia R., Remund U., Boller E. et Baillod M. 1988. La punaise verte de la vigne, *Lygus spinoplaei* (Meyer-Duer), extension et importance en Suisse. *Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* 20: 109-116.

- Canadian Grape and Wine Research Strategy (CGWRS). 2007. Championing a winning example for Canadian agriculture. 34 p.
- Carbonneau A., Deloire A. et Jaillard B. 2007. La vigne: physiologie, terroir, culture. Edition Dunod (Paris, France). 442 p.
- Carew R., Florkowski W. J. et He S. 2004. Demand for domestic and imported table wine in British Columbia: a source-differentiated almost ideal demand system approach. *Can. J. Agric. Econ.* 52: 183-199.
- Chagnon M. et Payette A. 1990. Modes alternatifs de répression des insectes dans les agro-écosystèmes québécois, tome 1: document synthèse. Ministère de l'Environnement du Québec et Centre québécois de valorisation de la biomasse. 81 p.
- Champagnol F. 1984. Éléments de physiologie de la vigne et de viticulture générale. Saint-Gely-du-Fesc. 351 p.
- Chapman R.F. 1974. The chemical inhibition of feeding by phytophagous insects: a review. *Bull. Ent. Res.* 64: 339-363.
- Chinta S., Dickens J.C. et Aldrich J.R. 1994. Olfactory reception of potential pheromones and plant odors by tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *J. Chem. Ecol.* 20: 3251-3267.
- Cleveland T.C. 1982. Hibernation and host plant sequence studies of tarnished plant bugs, *Lygus lineolaris*, in the Mississippi delta. *Environ. Entomol.* 11: 1049-1052.
- Cleveland T.C. 1985. Toxicity of several insecticides applied topically to tarnished plant bugs. *J. Entomol. Sci.* 20: 95-97.
- Cleveland T.C. et Furr R.E. 1979. Toxicity of methyl parathion applied topically to tarnished plant bugs. *J. Ga. Entomol. Soc.* 15: 304-307.
- Cohen A.L. et Garnier G.E. 1971. Delicate botanical specimens preserved for scanning electron microscopy by critical point drying. Proc. 29th Annual Meeting Electron Microscopy Society of Florida, 29: 450-451.
- Coll M. et Guershon M. 2002. Omnivory in terrestrial arthropods: mixing plant and prey diets. *Annu. Rev. Entomol.* 47: 267-297.
- Crosby C.R. et Leonard M.D. 1914. The tarnished plant-bug. Agricultural experiment station of the college of agriculture. Department of entomology, Cornell University. Bulletin 346: 462-525.
- Dale A., Galic D. et Hallett R.H. 2008. *Fragaria virginiana* resists tarnished plant bug. *Entomol. Exp. Applic.* 126: 203-210.
- Day W.H. 2006. The effect of rainfall on the abundance of tarnished plant bug nymphs {*Lygus lineolaris* (Palisot)} in alfalfa fields. *Trans. Am. Entomol. Soc.* 132: 445-450.
- Dent D. 1995. Integrated pest management. First Edition. Chapman & Hall, London, UK. 356 p.
- Dubois J.-M. 2001. De la Nouvelle-France à nos jours. Une tradition viticole tenace au Québec. *Cap-aux-Diamants* 65: 32-37.
- Dubois J.-M. et Deshaies L. 1997. Guides des vignobles du Québec: Sur la route des vins. Les Presses de l'Université Laval. Édition Diffusion Dimédia inc., St-Laurent, Qc. 297 p.
- Echevin R. 1964. Angiospermes, Apétales et Dialypétales, Tome I. Doin, Paris. 104 p.
- Esquivel J.F. et Mowery S.V. 2007. Host plants of the tarnished plant bug (Heteroptera: Miridae) in central Texas. *Environ. Entomol.* 36: 725-730.
- Fleischer S.J. et Gaylor M.J. 1987. Seasonal abundance of *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae) and selected predators in early season uncultivated hosts: implications for managing movement in cotton. *Environ. Entomol.* 16: 379-389.

- Fleischer S.J. et Gaylor M.J. 1988. *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae) population dynamics: nymphal development, life tables, and Leslie matrices on selected weeds and cotton. *Environ. Entomol.* 17: 246-253.
- Fleischer S.J., Gaylor M.J. et Hue N.V. 1988. Dispersal of *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae) adults through cotton following nursery host destruction. *Environ. Entomol.* 17: 533-541.
- Flemion F., Ledbetter M.C. et Kelley E.S. 1954. Penetration and damage of plant tissues during feeding by the tarnished plant bug (*Lygus lineolaris*). *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 17: 347-357.
- Fleury D., Paré J. et Vincent C. 2003. Identification histologique des lésions causées sur l'inflorescence de *Vitis vinifera* L. (Vitacées) par *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Heteroptera: Miridae). *Rev. Cytol. Biol. Vég., Le Botaniste* 26 (1/2):8-18.
- Fleury D., Paré J., Vincent C. et Mauffette Y. 2006. Feeding impact of *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae) on *Vitis vinifera*: a behavioural and histological study. *Can. J. Bot.* 84: 493-500.
- Fournioux J.-C. 1998. Influences foliaires dans le contrôle du développement des "bourgeons anticipés" chez *Vitis vinifera*. *Can. J. Bot.* 76: 1385-1403.
- Fox J. 2002. Robust regression. Appendix to "Fox", J. 2002. An R and S-Plus companion to applied regression, Sage Publication, Thousand Oaks, CA".
- Fye R.E. 1980. Weed sources of *Lygus* bugs in the Yakima Valley and Columbia basin in Washington. *J. Econ. Entomol.* 73: 469-473.
- Galet P. 2000. Précis de viticulture. 7^{ème} Édition. JF Impression, Saint-Jean de Védas (France). ISBN: 2-902771-10-X. 602 p.
- Galvan T.L., Burkness E.C., Vickers Z., Stenberg P., Mansfield A.K. et Hutchison W.D. 2007. Sensory-based action threshold for multicolored Asian lady beetle-related taint in winegrapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 58: 4:518-522.
- Goulet H., Lesage L., Bostanian N.J., Vincent C. et Lasnier J. 2004. Diversity and seasonal activity of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in two vineyards of southern Quebec, Canada. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 97: 1263-1272.
- Griesser M., Vitzthum F., Fink B., Bellido M.L., Raasch C., Munoz-Blanco J. et Schwab W. 2008. Multi-substrate flavonol O-glucosyltransferases from strawberry (*Fragaria x ananassa*) achene and receptacle. *J. Exper. Bot.* 59: 2611-2625.
- Guillaumin D. 1980. La pratique du microscope électronique à balayage en biologie. Masson, Paris.
- Hammer O.H. 1939. The tarnished plant bug as an apple pest. *J. Econ. Entomol.* 32: 259-264.
- Handley D.T. 1991. Strawberry fruit development and the effects of feeding by the tarnished plant bug (*Lygus lineolaris*), pp. 209-216. In A. Dale & J.L. Luby (eds.), The strawberry in the 21st century: Proceeding of the third North American strawberry conference, Houston (TX), 14-16 February 1990. Timber Press, Portland (ME).
- Handley D.T. et Pollard J.E. 1993. Microscopic examination of tarnished plant bug (Heteroptera: Miridae) feeding damage to strawberry. *J. Econ. Entomol.* 86: 505-510.
- Hardman J.M., Jensen K.I.N., Moreau D.L., Franklin J.L. et Bent E.D. 2004. Effects of ground cover treatments and insecticide use on population density and damage caused by *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae) in apple orchards. *J. Econ. Entomol.* 97: 993-1002.
- Harlan J.R. 1992. Crops & man. 2nd Edition. American Society of Agronomy. Madison, WI (USA). 284 p.

- Hatfield L.D. et Frazier J.L. 1980. Ultrastructure of the labial tip sensilla of the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (P. de Beauvois)(Hemiptera: Miridae). *J. Insect Morphol. & Embryol.* 9: 59-66.
- Hatfield L.D., Ferreira J. et Frazier J.L. 1983. Host selection and feeding behavior by the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 76: 688-691.
- Hatfield L.D., Frazier J.L. et Ferreira J. 1982. Gustatory discrimination of sugars, amino acids, and selected allelochemicals by the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*. *Physiol. Entomol.* 7: 15-23.
- Hauschild K.I. et Parker B.L. 1976. Seasonal development of the tarnished plant bug on apple in Vermont. *Environ. Entomol.* 5: 675-679.
- Huglin P. 1998. Biologie et écologie de la vigne. 2^{ième} Edition, Lavoisier Tech & Doc, Paris. 370 p.
- Hunter M.D. 2002. Landscape structure, habitat fragmentation, and the ecology of insects. *Agric. Forest Entomol.* 4: 159-166.
- Institut de la Statistique du Québec (ISQ) et Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPQ). 2005. Profil sectoriel de l'industrie bioalimentaire au Québec. ISBN : 2-550-46011-1 (PDF). 122 p.
- Johansen D.E. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill, New York.
- Johnson J.R., Bloodworth H. et Summers D. Agricultural land and water use in Mississippi: 1982-1998. *Miss Agric For Exp Stn Tech Bull* 118 28 p.
- Jones K.S., McKersie B.D., et Paroschy J. 2000. Prevention of ice propagation by permeability barriers in bud axes of *Vitis vinifera*. *Can. J. Bot.* 78: 3-9.
- Jubb G.L. Jr, Masteller E.C. et Wheeler A.G. Jr. 1979. Survey of arthropods in vineyards of Erie county, Pennsylvania: Hemiptera-Heteroptera. *Environ. Entomol.* 8: 982-986.
- Kelton L.A. 1975. The *Lygus* bugs (Genus *Lygus* Hahn) of North America (Heteroptera: Miridae). *Memoirs of the Entomological Society of Canada* (# 95). Publié par la Société d'Entomologie du Canada, Ottawa (ON). 89 p.
- Kennedy G.G. et Storer N.P. 2000. Life systems of polyphagous arthropod pests in temporally unstable cropping systems. *Ann. Rev. Entomol.* 45: 467-493.
- Khattat A.R. et Stewart R.K. 1977. Development and survival of *Lygus lineolaris* exposed to different laboratory rearing conditions. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 70: 274-278.
- Khattat A.R. et Stewart R.K. 1980. Population fluctuations and interplant movements of *Lygus lineolaris*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 73: 282-287.
- Killian J.C. et Meyer J.R. 1984. Effect of orchard weed management on catfacing damage to peaches in North Carolina. *J. Econ. Entomol.* 77: 1596-1600.
- Langeron M. 1949. Précis de microscopie. Masson, Paris.
- Le Coeur D., Baudry J., Burel F. et Thenail C. 2002. Why and how we should study field boundary biodiversity in an agrarian landscape context. *Agric. Ecos. Environ.* 89: 23-40.
- LeOra. 1994. Software: POLO-PC Probit and logit Analysis. Berkeley, CA, 28 p.
- Linder C., Lorenzini F. et Kehrli P. 2009. Potentiel impact of processed *Harmonia axyridis* on the taste of „Chasselas“ and „Pinot Noir“ wines. *Vitis* 48: 101-102.
- Linder C. et Remund U. 1996. La punaise verte de la vigne. *Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* 28: 368.
- Ma P.W.K., Baird S. et Ramaswamy B. 2002. Morphology and formation of the eggshell in the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois)(Hemiptera: Miridae). *Arthrop. Struc. & Develop.* 31: 131-146.

- MacCreary D. 1965. Flight range observations on *Lygus lineolaris* and certain other Hemiptera. *J. Econ. Entomol.* 58: 1004-1005.
- Mailloux G. et Bostanian N.J. 1988. Economic injury level model for tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera: Miridae), in strawberry fields. *Environ. Entomol.* 17: 581-586.
- Mailloux G. et Bostanian N.J. 1989. Presence-absence sequential decision plans for management of *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae) on strawberry. *Environ. Entomol.* 18: 829-834.
- Mailloux G., Paradis R.O. et Pilon J.-G. 1979. Développement saisonnier de la punaise terne, *Lygus lineolaris* (P. de B.) (Hemiptera: Miridae) sur fraisiers, framboisiers et pommiers dans le sud-ouest du Québec. *Ann. Soc. Entomol. Qué.* 24: 48-64.
- Mani G.S. et Wood R.J. 1984. Persistence and frequency of application of an insecticide in relation to the rate of evolution of resistance. *Pestic Sci* 15: 325-336.
- Marshall E.J.P. et Moonen A.C. 2002. Field margins in northern Europe: their functions and interaction with agriculture. *Agric. Ecos. Environ.* 89: 5-21.
- Martel P., Boivin G. et Belcourt J. 1986. Efficacy and persistence of different insecticides against the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae), on a season-long host plant, *Coronilla varia*. *J. Econ. Entomol.* 79: 721-725.
- Martinson T., Bernard D., English-Loeb G. et Taft T. Jr. 1998. Impact of *Taedia scrupeus* (Hemiptera: Miridae) feeding on cluster development in Concord grapes. *J. Econ. Entomol.* 91: 507-511.
- Maudsley M., Seeley B. et Lewis O. 2002. Spatial distribution patterns of predatory arthropods within an English hedgerow in early winter in relation to habitat variables. *Agric. Ecos. Environ.* 89: 77-89.
- McGiffen K.C. et Neunzig H.H. 1985. A guide to the identification and biology of insects feeding on muscadine and bunch grapes in North Carolina. North Carolina State University, Raleigh (NC). Bulletin 470: 9-10.
- Menke H.F. 1954. Indications of *Lygus* resistance to DDT in Washington. *J. Econ. Entomol.* 47: 704-705.
- Michaud O.D., Boivin G. et Stewart R.K. 1989. Economic threshold for tarnished plant bug (Hemiptera: Miridae) in apple orchards. *J. Econ. Entomol.* 82: 1722-1728.
- Michaud O.D., Stewart R.K. et Boivin G. 1990. Susceptibility of apples to damage by *Lygocoris communis* and *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *Phytoprotection.* 71: 25-30.
- Miles P.W. 1972. The saliva of Hemiptera. *Adv. Insect Physiol.* 9: 183-255.
- Mueller A.J. et Stern V.M. 1973. *Lygus* flight and dispersal behavior. *Environ. Entomol.* 2: 361-364.
- Mussel F., Stewart S., Bagwell R., Lorenz G., Catchot A., Burris E., Cook D., Robbins J., Greene J., Studebaker G. et Gore J. 2007. Comparison of direct and indirect sampling methods for tarnished plant bug (Hemiptera: Miridae) in flowering cotton. *J. Econ. Entomol.* 100: 1916-1923.
- National Research Council (NRC). 2000. The future role of pesticides in US agriculture. National Academy Press (Washington, DC; USA). 301 p.
- Norris, R.F. et Kogan M. 2000. Interactions between weeds, arthropod pests, and their natural enemies in managed ecosystems. *Weed Sci.* 48: 94-158.

- North Central Region Grape Pest Management Strategic Plan (NCRGPMSP). 2007. Pest management strategic plan for north central region grape industry. Berrien Country Extension Service. Michigan State University (Benton Harbor, MI; USA). 107 p.
- Nuorteva P. 1954. Studies on the salivary enzymes of some bugs injuring wheat kernels. *Suomen Hyönteistieteellinen Aikakauskirja* 20: 102-124.
- Nuorteva P. 1956. Studies on the effect of the salivary secretions of some Heteroptera and Homoptera on plant growth. *Suomen Hyönteistieteellinen Aikakauskirja* 22: 108-117.
- Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (OMAFRA). 2001. Fruit production recommendations: 2001 – 2002. Publication 360, OMAFRA. Toronto, Ontario. 264 p.
- Organisation Internationale de la Vigne et du Vin (OIV). 2008. Extrait du rapport sur la situation de la vitiviniculture mondiale en 2007. Communiqué de presse. 4 p.
- Outward R., Sorenson C.E. et Bradley Jr J.R. 2008. Effects of vegetated field borders on arthropods in cotton fields in eastern North Carolina. *J. Insect Sci.* 8: 09.
- Painter R.H. 1926. Some notes on the oviposition habits of the tarnished plant bug, *Lygus pratensis* Linn., with a list of host plants. *Ann. Rep. Ont. Entomol. Soc.* 57: 44-46.
- Paradis R.O. 1955. Essais de traitements insecticides dans la lutte contre la tordeuse à bandes rouges, *Argyrotaenia velutinana* (Wlk.) (Lépidoptères: Tortricidae), dans le sud-ouest du Québec. *Ann. Soc. Entomol. Que.* 1: 66-76.
- Paradis R.O. 1979. Essais insecticides contre l'anthonome du fraisier, *Anthonomus signatus* Say, présent conjointement avec la punaise terne, *Lygus lineolaris* (P. de B.) dans les fraisières. *Phytoprotection* 60: 31-40.
- Phillips J.H.H. 1957. The tarnished plant bug, *Liocoris lineolaris* (Beauv.) (Hemiptera: Miridae), as a pest of peach in Ontario: a progress report. *Proc. Entomol. Soc. Ont.* 87: 44-48.
- Phillips J.H.H. et De Ronde J.H. 1966. Relationship between the seasonal development of the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Beauv.) (Hemiptera: Miridae) and its injury to peach fruit. *Proc. Entomol. Soc. Ont.* 96: 103-107.
- Pickering G., Ker K. et Soleas G.J. 2007. Determination of the critical stages of processing and tolerance limits for *Harmonia axyridis* for “ladybug taint” in wine. *Vitis* 46: 85-90.
- Pickering G., Lin J., Riesen R., Reynolds A., Brindle I. et Soleas G.J. 2004. Influence of *Harmonia axyridis* on the sensory properties of white and red wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 55: 153-159.
- Pickering G., Lin Y., Reynolds A., Soleas G.J., Riesen R. et Brindle I. 2005. The influence of *Harmonia axyridis* on wine composition and aging. *J. Food Sci.* 70: 128-135.
- Porter B.A. 1926. The tarnished plant bug as a peach fruit pest. *J. Econ. Entomol.* 19: 43-48.
- Pree D.J. 1985. Control of the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) on peaches. *Can. Entomol.* 117: 327-331.
- Pree D.J., Whitty K.J., Van Driel L. et Walker G.M. Resistance to insecticides in oriental fruit moth populations (*Grapholita molesta*) from the Niagara Peninsula of Ontario. *Can. Entomol.* 130: 476-485.
- Prokopy R.J. et Owens E.D. 1978. Visual generalist – visual specialist phytophagous insects: host selection behavior and application to management. *Entomol. Exp. Applic.* 24: 609-620.
- Prokopy R.J., Adams R.G. et Hauschild K.I. 1979. Visual responses of tarnished plant bug adults on apple. *Environ. Entomol.* 8: 202-205.

- Rancourt B., Vincent C. et De Olivera D. 2000. Circadian activity of *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae) and effectiveness of sampling techniques in strawberry fields. *J. Econ. Entomol.* 93: 1160-1166.
- Reynier A. 1997. Manuel de viticulture: Guide technique du viticulteur. 7^{ème} Édition. Lavoisier, Technique & Documentation, Paris (France). 499 p.
- Rhainds M. et English-Loeb G. 2003. Testing the resource concentration hypothesis with tarnished plant bug on strawberry: density of hosts and patch size influence the interaction between abundance of nymphs and incidence of damage. *Ecol. Entomol.* 28: 348-358.
- Rhainds M., Taft T., English-Loeb G., Dunst R. et Weigle T. 2002. Ecology and economic impact of two plant bugs (Hemiptera: Miridae) in commercial vineyards. *J. Econ. Entomol.* 95: 354-359.
- Ridgway R.L. et Gyrisco G.G. 1960a. Studies of the biology of the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*. *J. Econ. Entomol.* 53: 1063-1065.
- Ridgway R.L. et Gyrisco G.G. 1960b. Effect of temperature on the rate of development of *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *J. Econ. Entomol.* 53: 691-694.
- Rivard I. 1975. Essais de traitements insecticides contre la punaise terne dans les pommeraies du sud-ouest du Québec. *Ann Soc Entomol Que* 20: 155-160.
- Robertson J.L. et Preisler H.K. 1992. Pesticide bioassays with arthropods. CRC Press, Boca Raton, FL. 127 p.
- SAS (Statistical Analysis System). 2000. Release 8.02. SAS Institute Inc., Cary NC.
- SAS (Statistical Analysis System). 2004. JMP IN Version 5.1. SAS Institute Inc., Cary NC.
- Schaefer C.W. et Panizzi A.R. 2000. Heteroptera of economic importance. CRC Press, Boca Raton, FLA (USA). 828 p.
- Schaefers G.A. 1980. Yield effects of tarnished plant bug feeding on June-bearing strawberry varieties in New York State. *J. Econ. Entomol.* 73: 721-725.
- Schreier P., Drawert F. et Junker A. 1976. Identification of volatile constituents from grapes. *J. Agric. Food Chem.* 24: 331-336.
- Scriber J.M. et Slansky F. Jr. 1981. The nutritional ecology of immature insects. *Annu. Rev. Entomol.* 26: 183-211.
- Shackel K.A., Celorio-Mancera M.P., Ahmadi H., Greve L.C., Teuber L.R., Backus E.A. et Labavitch J.M.. 2005. Micro-injection of *Lygus* salivary gland proteins to simulate feeding damage in alfalfa and cotton flowers. *Arch. Ins. Biochem. Physiol.* 58: 69-83.
- Shelton A.M. et Badenes-Perez. 2006. Concepts and applications of trap cropping in pest management. *Annu. Rev. Entomol.* 51: 285-308.
- Smeesters É., Chouinard G. et Gagnon S. 2001. Méthodes alternatives à la lutte chimique en pommiculture: principales techniques applicables au Québec. Publié conjointement par Saint-Laurent Vision 2000, Nature Action Québec et Stratégie Phytosanitaire, Qc. 40 p.
- Smith J.G. 1976. Influence of crop background on aphids and other phytophagous insects on brussel sprouts. *Ann. Appl. Biol.* 83: 1-13.
- Snodgrass G.L., Scott W.P. et Smith J.W. 1984. Host plants and seasonal distribution of the tarnished plant bug (Hemiptera: Miridae) in the delta of Arkansas, Louisiana, and Mississippi. *Environ. Entomol.* 13: 110-116.
- Snodgrass G.L. 1996a. Glass-vial bioassay to estimate insecticide resistance in adult tarnished plant bugs (Heteroptera: Miridae). *J. Econ. Entomol.* 89: 1053-1059.

- Snodgrass G.L. 1996b. Insecticide resistance in field populations of the tarnished plant bug (Heteroptera: Miridae) in cotton in the Mississippi Delta. *J. Econ. Entomol.* 89: 783-790.
- Snodgrass G.L. et Scott W.P. 2000. Seasonal changes in pyrethroid resistance in tarnished plant bug (Heteroptera: Miridae) populations during a three-year period in the delta area of Arkansas, Louisiana, and Mississippi. *J. Econ. Entomol.* 93: 441-446.
- Snodgrass G.L., Scott W.P., Hardee D.D. et Robbins J.T. 2000. Results from two years of an experiment on tarnished plant bug control in cotton through reduction in number of early-season wild host plants. Pp. 1229-1233. In *Proceedings: Beltwide cotton production research conference*, Memphis TN. National cotton council of America, Memphis TN.
- Snodgrass G.L., Scott W.P., Abel C.A., Robbins J.T., Gore J. et Hardee D.D. 2006. Tarnished plant bug (Heteroptera: Miridae) populations near fields after early season herbicide treatment. *Environ. Entomol.* 34: 705-711.
- St Pierre M.J., Hendrix S.D. et Lewis C.K. 2005. Dispersal ability and host plant characteristics influence spatial population structure of monophagous beetles. *Ecol. Entomol.* 30: 105-115.
- Statistics Canada. 2004. Canadian agriculture at a glance. Catalogue # 96-325-XPB, Ottawa, Canada. 328 p.
- Statistique Canada. 2007. Du Concord au Chardonay: la transformation du raisin au Canada. Catalogue no. 98-322-XIB. Pp. 79-86.
- Stevenson A.B. et Roberts M.-D. 1973. Tarnished plant bugs reared on lettuces. *J. Econ. Entomol.* 66: 1354-1355.
- Stewart R.K. et Khoury H. 1976. The biology of *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera: Miridae) in Quebec. *Ann. Entomol. Soc. Qué.* 21: 52-63.
- Stewart S.D. et Gaylor M.J. 1991. Age, sex, and reproductive status of the tarnished plant bug (Heteroptera: Miridae) colonizing mustard. *Environ. Entomol.* 20: 1387-1392.
- Stewart S.D. et Gaylor M.J. 1994. Effects of age, sex, and reproductive status on flight by the tarnished plant bug (Heteroptera: Miridae). *Environ. Entomol.* 23: 80-84.
- Strong F.E. 1968. The selective advantage accruing to *Lygus* bugs that cause blasting of floral parts. *J. Econ. Entomol.* 61: 315-316.
- Taksdal G. 1963. Ecology of plant resistance to the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 56: 69-74.
- Taylor E.P. 1908. Dimples in apples from oviposition of *Lygus pratensis* L. *J. Econ. Entomol.* 1: 370-375.
- Thériault L. et Lamontagne L. 2004. Mémento de l'agronome du Québec. Module 1: le contexte agricole et agroalimentaire québécois. Ordre des Agronomes du Québec (OAQ). Bibliothèque Nationale du Canada et du Québec. 32 p.
- Tillman P.G., Hammes G.G., Sacher M., Connair M., Brady E.A. et Wing K.D. 2001. Toxicity of a formulation of the insecticide indoxacarb to the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae), and the big-eyed bug, *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae). *Pest Manag. Sci.* 58: 92-100.
- Tillman G., Schomberg H., Phatak S., Mullinix B., Lachnicht S., Timper P. et Olson D. 2004. Influence of cover crops on insect pests and predators in conservation tillage cotton. *J. Econ. Entomol.* 97: 1217-1232.
- Timlick B.H., Turnock W.J. and Wise I. 1993. Distribution and abundance of *Lygus* spp. (Heteroptera: Miridae) on alfalfa and canola in Manitoba. *Can. Entomol.* 125: 1033-1041.

- Tingey W.M. et Pillemer E.A. 1977. *Lygus* bugs: crop resistance and physiological nature of feeding injury. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 23: 277-287.
- Trumble J.T., Kolodny-Hirsch D.M. et Ting I.P. 1993. Plant compensation for arthropod herbivory. *Annu. Rev. Entomol.* 38: 93-119.
- Underhill G.W. 1934. The green stinkbug. Virginia Polytechnic Institute: Virginia Agricultural Experiment Station (Blacksburg). Bulletin 294. 26 p.
- Victorin Frère M. 1964. Flore Laurentienne. 2^{ème} Édition. Les Presses de l'Université de Montréal, Canada. 925 p.
- Vincent C. et Chagnon R. 2000. Vacuuming tarnished plant bug on strawberry: a bench study of operational parameters versus insect behavior. *Entomol. Exp. Applic.* 96: 1-8.
- Wheeler A.G. Jr. 2001. Biology of plant bugs (Hemiptera: Miridae): pests, predators, opportunist. Cornell University Press, Sage House, Ithaca (NY, E.-U.). 506 p.
- Williams L. et Tugwell N.P. 2000. Histological description of tarnished plant bug (Heteroptera: Miridae) feeding on small cotton floral buds. *J. Entomol. Sci.* 35: 187-195.
- Wilson R.L. et Olson D.L. 1990. Tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera: Miridae) oviposition site preference on three growth stages of grain amaranth, *Amaranthus cruentus* L. *J. Kansas Entomol. Soc.* 63: 88-91.
- Wise I.L. 1996. *Lygus* control strategies – Chemical control. Édité par J. Soroka dans “Proceedings of the *Lygus* working group meeting”. Agriculture Canada, Winnipeg (MB). Pp. 15-17.
- Wise I.L. et Lamb R.J. 1996. Economic injury level on *Lygus* spp (Heteroptera: Miridae) on canola. Édité par Soroka J. dans “Proceedings of the *Lygus* working group meeting”. Agriculture Canada, Winnipeg (MB). Pp. 18 - 19.
- Wise I.L., Elliott B.G. et Mostafa A.M. 2005. Seasonal occurrence and within-field distribution of *Lygus lineolaris* on buckwheat in Manitoba. *Can Entomol.* 137: 598-601.
- Wold S.J. et Hutchison W.D. 2003. Comparison of economic and plant phenology-based thresholds for management of *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae) in Minnesota strawberries. *J. Econ. Entomol.* 96: 1500-1509.
- Wold S.J. et Hutchison W.D. 2003. Phenology of *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae) in Minnesota June-bearing strawberries: comparison of sampling methods and habitats. *J. Econ. Entomol.* 96: 1814-1820.
- Womack C.L. et Schuster M.F. 1987. Host plants of the tarnished plant bug (Heteroptera: Miridae) in the northern blackland prairies of Texas. *Environ. Entomol.* 16: 1266-1272.
- Yee J. Yee S. et Zhang J. 2002. Niagara agricultural weather network. Brock University, St-Catharines, Ontario, Canada. 11 p.
- Young O.P. 1986. Host plants of the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79: 747-762.
- Zhang Q.-H., Chauhan K.R., Zhang A. Snodgrass G.L., Dickens J.C. et Aldrich J.R. 2007. Antennal and behavioural responses of *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Heteroptera: Miridae) to methathoracic scent gland compounds. *J. Entomol. Sci.* 42: 92-104.
- Zhu Y.C. et Snodgrass G.L. 2003. Cytochrome P450 CYP6X1 cDNAs and mRNA expression levels in three strains of the tarnished plant bug *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae) having different susceptibilities to pyrethroid insecticide. *Insect Mol. Biol.* 12: 39-49.

Zhu Y.C., Snodgrass G.L. et Chen M.S. 2007. Comparative study on glutathione S-Transferase, CDNA, and gene expression between malathion susceptible and resistant strains of tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*. *Pest. Biochem. Physiol.* 87: 62-72.