

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ ET DE LA COMPATIBILITÉ DE
TRICHOGRAMMA MINUTUM RILEY (HYMENOPTERA : TRICHOMMATIDAE)
ET DU VIRUS DE LA GRANULOSE DU CARPOCAPSE (CPGV) POUR
LEUR UTILISATION CONJOINTE CONTRE *CYDIA POMONELLA* L.
(LEPIDOPTERA : TORTRICIDAE) EN VERGERS DE POMMIERS

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN BIOLOGIE

PAR

OLIVIER MORISSET

SEPTEMBRE 2010

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire 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.»

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier ma directrice de maîtrise, Mme Silvia Todorova, qui s'est toujours montrée disponible malgré son emploi du temps très chargé par son ambitieux projet de compagnie de lutte biologique. Elle fut une source d'inspiration par son ardeur, sa ténacité et sa passion pour l'entomologie. Elle fut aussi une source précieuse d'informations et de conseils tout au long de mon processus d'apprentissage. Je désire aussi remercier mon co-directeur, M. Éric Lucas, qui m'a permis de réaliser mes expériences dans son laboratoire et de côtoyer son équipe dynamique. M. Lucas était une véritable machine lorsque venait le temps de trouver des idées afin de créer de nouvelles expériences et il a beaucoup enrichi nos réunions par ses commentaires pertinents. Il était aussi présent pour me guider lorsque j'avais besoin d'être éclairé.

Je tiens aussi à remercier mon autre co-directeur, M. Gérald Chouinard, qui a toujours lu et corrigé mes écrits dans des délais rapides. Ses corrections m'ont permis d'avancer et de m'améliorer. M. Daniel Cormier a aussi été très présent tout au long de mon parcours. Il s'est impliqué dès le début et a toujours manifesté un vif intérêt envers notre projet de recherche. Sa grande connaissance en entomologie et son expérience de terrain en pomiculture ont été très appréciées. De plus, il était généreux de son temps et s'offrait toujours pour participer aux réunions et pour commenter et corriger mes écrits. Je remercie M. Tim Work et M. Jean-Charles Côté qui ont pris de leur temps pour évaluer et corriger mon mémoire. Je souhaiterais aussi remercier M. Martin Andermatt pour avoir collaborer au développement du projet et pour nous avoir fourni gratuitement le produit Madex®.

Mon passage dans le laboratoire d'Éric Lucas fut très agréable grâce à la bonne ambiance créée par mes collègues dont Jacinthe Tremblay, Nathalie Roullé,

Julie Éléonore-Maisonhaute, Elsa Étilé, Olivier Aubry, Jennifer De Almedia, Arnaud Sentis, Mylène St-Onge, Bruno Fréchette, Geneviève Labrie et tous les autres avec qui j'ai eu la chance d'échanger.

Mes parents m'ont toujours encouragé dans mes études et leur support m'a permis de me rendre là où je suis. Je les remercie de m'avoir guidé tout en me laissant choisir ma voie. Finalement, je tiens à remercier ma femme Lianne pour son amour inconditionnel et son soutien. Ses précieux conseils m'ont aidé à traverser les obstacles et à persévérer. Nous avons aujourd'hui un petit garçon et notre vie prend un nouveau tournant. Je souhaite transmettre mon amour de la nature et ma passion pour les bibittes à mon fils Jérémie.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	vi
LISTE DES TABLEAUX.....	vii
RÉSUMÉ.....	viii
INTRODUCTION.....	1
1. Problématique.....	1
2. Présentation du projet de recherche.....	4
3. État des connaissances.....	5
3.1. Lutte biologique et lutte intégrée.....	5
3.2. <i>Cydia pomonella</i> L.....	6
3.3. Méthodes de lutte contre le carpocapse.....	8
3.4. Virus de la granulose du carpocapse (CpGV).....	9
3.5. Persistance et formulation du CpGV.....	10
3.6. Essais du CpGV en vergers de pommiers.....	12
3.7. Trichogrammes.....	13
3.8. <i>Trichogramma minutum</i> Riley.....	14
3.9. Choix de l'hôte.....	14
3.10. Utilisation des trichogrammes en lutte biologique.....	15
3.11. Utilisation conjointe de plusieurs agents de lutte biologique.....	16
3.12. Interaction des parasitoïdes avec d'autres auxiliaires de lutte.....	18
4. Objectifs de l'étude.....	20

CHAPTER I	
ADDITIVE EFFECT OF <i>TRICHOGRAMMA MINUTUM</i> RILEY AND CODLING MOTH GRANULOVIRUS (CPGV) AGAINST THE CODLING MOTH.....	22
Abstract.....	23
Introduction.....	24
Materials and Methods.....	26
Results.....	34
Discussion.....	43
Conclusion.....	46
CHAPTER II	
COMPARISON OF TWO BIOLOGICAL CONTROL STRATEGIES USING <i>TRICHOGRAMMA MINUTUM</i> AND CODLING MOTH GRANULOVIRUS TO CONTROL <i>CYDIA POMONELLA</i> IN COMMERCIAL APPLE ORCHARDS.....	49
Abstract.....	50
Introduction.....	51
Materials and Methods.....	53
Results.....	60
Discussion.....	66
Conclusion.....	68
CONCLUSION.....	70
RÉFÉRENCES.....	77

LISTE DES FIGURES

- Figure 1.1. Mortality rate of codling moth larvae in the laboratory over time at different concentrations of CpGV formulation applied on eggs 2 days before the emergence of the larvae.....38
- Figure 1.2. a) Parasitism rate of codling moth eggs by *T. minutum* \pm SE in the laboratory, by treatment b) Average number of *T. minutum* offspring emerged per parasitized codling moth egg \pm SE in the laboratory, by treatment (ANOVA, $P < 0.05$).....39
- Figure 1.3. Incidence of parasitism \pm SE by *T. minutum* on codling moth sentinel eggs in the experimental apple orchard in 2006. a) Serie 1: sentinel eggs not exposed to virus prior to parasitism and b) Serie 2: sentinel eggs exposed to virus prior to parasitism (ANOVA, $P < 0.05$).....40
- Figure 1.4. Combined mortality \pm SE of *T. minutum* on eggs and CpGV on larvae in all treatments in the experimental orchard in a) summer 2006 and b) summer 2008 (ANOVA, $P < 0.05$).....41
- Figure 1.5. Combined observed mortality of codling moth \pm SE, including egg and larval mortality in experimental orchard compared to expected theoretical combined mortality according to Benz equation: $M_{1+2} = M_1 + M_2 (1-M_1/100)$ (Student t test, $P < 0.05$).....42
- Figure 2.1. Timing of virus application, estimated emergence of *T. minutum* cohorts, sentinel eggs introduction and withdrawal for the two biocontrol strategies.....57
- Figure 2.2. Number of male adult codling moths caught weekly in Multipher I traps in four apple orchards in Monteregion, in Quebec.....62
- Figure 2.3. Average parasitism rate \pm SE of sentinel codling moth eggs by *Trichogramma* for all the season (June 17th to August 5th). Different letters show a significant difference (Friedman, $P < 0.05$).....63
- Figure 2.4. a) Percentage codling moth damage on apples \pm SE after first generation in control, biological programs and conventional plots. b) Percentage codling moth damage on apples \pm SE after first and second generations in control, biological programs and conventional plots (Friedman, $P < 0.05$).....64

Figure 2.5. Average number of codling moth larvae collected per band trap \pm SE by treatment. Band traps were put in mid-July and were removed and observed in late October (Friedman, $P < 0.05$).....65

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Liste des produits commerciaux disponibles à base de CpGV.....	13
---	----

RÉSUMÉ

Le carpocapse de la pomme, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera : Tortricidae) est un ravageur important dans les vergers de pommiers à travers le monde. Les larves de ce lépidoptère pénètrent dans les fruits quelques heures après l'éclosion et peuvent causer des dommages économiques substantiels en absence d'un contrôle efficace. Les méthodes de lutte actuelles reposent essentiellement sur l'utilisation d'insecticides chimiques à large spectre. Ces substances ont des effets néfastes sur les insectes bénéfiques, l'environnement et la santé humaine. La lutte biologique est une alternative ayant de faibles répercussions sur l'environnement. L'objectif de notre étude était de développer et d'évaluer l'efficacité deux stratégies de lutte biologique utilisant conjointement des lâchers inondatifs de trichogrammes, *Trichogramma minutum* (Hymenoptera : Trichogrammatidae) et des pulvérisations du virus de la granulose du carpocapse, le CpGV.

L'objectif du premier chapitre était d'étudier la nature de l'interaction entre *T. minutum* et le CpGV en laboratoire et en verger expérimental. Les résultats obtenus en laboratoire lors d'essais en tubes de verre ont indiqué une diminution du taux de parasitisme des trichogrammes sur des œufs de carpocapses frais préalablement pulvérisés avec du CpGV, comparativement au témoin, des œufs pulvérisés avec de l'eau distillée. De plus, le taux de parasitisme diminuait davantage avec l'augmentation de la concentration du CpGV dans la suspension pulvérisée. Les résultats des essais en verger expérimental diffèrent de ceux obtenus en laboratoire, car la présence de CpGV sur les œufs de carpocapses n'a pas entraîné la diminution du taux de parasitisme des trichogrammes. D'autre part, les essais en verger indiquent un effet additif du CpGV avec *T. minutum*, c'est-à-dire l'absence de synergie ou d'antagonisme entre les deux agents de lutte biologique.

L'objectif du deuxième chapitre était de comparer l'efficacité de deux stratégies de lutte biologique utilisant conjointement les trichogrammes et le granulovirus du carpocapse entre elles et avec la régie conventionnelle des pomiculteurs, en vergers commerciaux. La stratégie simultanée consistait à pulvériser le CpGV le même jour que le premier pic d'émergence des trichogrammes et la stratégie successive consistait à pulvériser le CpGV trois jours après le premier pic d'émergence. Aucune différence significative n'a été notée entre les deux stratégies, tant pour le taux de parasitisme des œufs de carpocapses, les dommages aux pommes, que pour le nombre de larves diapausantes capturées dans les bandes-pièges. D'autre part, trois à quatre fois moins de larves diapausantes ont été capturées dans les bandes-pièges dans les parcelles de lutte biologique comparativement au témoin, ce qui suggère une diminution significative de la population de carpocapses dans les parcelles traitées avec le CpGV et *T. minutum*.

Notre étude a permis d'établir qu'il y avait additisme lorsque les trichogrammes étaient utilisés avec les formulations de CpGV. Cette nouvelle méthode de lutte biologique a permis une réduction significative du nombre de carpocapses dans les vergers commerciaux, ce qui signifie qu'elle pourrait éventuellement être utilisée en remplacement des pesticides chimiques. Même s'il n'y a pas eu de différence significative au niveau des dommages comparativement au témoin, les niveaux de dommages atteints dans les parcelles de lutte biologiques étaient inférieurs aux niveaux économiquement acceptables. Par contre, d'autres études seront nécessaires avant que les pomiculteurs québécois puissent remplacer leurs insecticides actuels par les trichogrammes et le granulovirus du carpocapse.

Mots-clés: *Cydia pomonella*, *Trichogramma minutum*, CpGV, lutte biologique, vergers, granulovirus, parasitoïdes, interactions.

INTRODUCTION

1. Problématique

La pomiculture est une industrie importante au Québec. En 2006, les producteurs québécois ont produit 87 775 tonnes métriques de pommes, pour une valeur à la ferme de 35 millions de dollars. Cette même année, les 606 producteurs québécois se partageaient 6 500 hectares de vergers. La pomme se situe au deuxième rang des cultures fruitières au Canada et au Québec, après les petits fruits. Avec un si grand nombre de producteurs et autant de volume produit, le Québec est la troisième province productrice de pommes en importance, après l'Ontario et la Colombie-Britannique (Fédération des producteurs de pommes du Québec, 2006).

L'exploitation d'un verger de pommiers est très complexe, car une très grande quantité de maladies et d'insectes peuvent s'attaquer aux pommiers. La maladie du pommier la plus importante est la tavelure, causée par le champignon *Venturia inoequalis* (Cke.) (Vincent et Bostanian, 1992). De plus, les pomiculteurs québécois doivent contrôler les infections causées par la brûlure bactérienne, *Erwinia amylovora* (Burrill), car ce problème peut entraîner des pertes économiques importantes dans leurs vergers (Braun et Craig, 2008).

Les insectes doivent être contrôlés efficacement, car un grand nombre d'espèces se nourrissent de pommes et, sans contrôle efficace, la totalité de la récolte peut être compromise. Au Québec, il existe plus de 40 espèces d'insectes ravageurs des pommiers (Vincent et Bostanian, 1992). Mais toutes les espèces ne sont pas présentes dans tous les vergers. Les espèces varient entre autres en fonction des régions géographiques, des cultures environnantes et de la régie des ravageurs. Selon le niveau de dommage entraîné, les insectes sont classés en trois catégories : les ravageurs majeurs, secondaires et mineurs. Sans traitements appropriés, les ravageurs

majeurs peuvent provoquer plus de 10 % de pertes dans les vergers (Chouinard *et al.*, 2001). Bien que leur abondance relative soit différente d'une région à l'autre et même d'un verger à l'autre, cinq espèces d'insectes et d'acariens ont été classées comme des ravageurs majeurs au Québec. Il s'agit du carpocapse de la pomme, *Cydia pomonella* L., du charançon de la prune, *Conotrachelus nenuphar* (Hbst.), de la mouche de la pomme, *Rhagoletis pomonella* (Walsh), de la punaise terne, *Lygus lineolaris* (P. de B.), et du tétranyque rouge, *Panonychus ulmi* (Koch) (Chouinard *et al.*, 2001).

Classé comme un ravageur secondaire dans les années 1970, le carpocapse de la pomme est devenu de plus en plus problématique dans les vergers québécois depuis le début des années 1990 (Vincent et Bostanian, 1992). Les dommages causés par le carpocapse sont en hausse depuis plusieurs années et les populations sont en croissance dans la plupart des régions pomicoles du Québec (Cormier et Morin, 2008). Certains pomiculteurs doivent maintenant utiliser un traitement insecticide contre la deuxième génération de carpocapses, ce qui n'était pas le cas il y a une dizaine d'années.

Le carpocapse de la pomme est présent dans le monde entier et peut s'attaquer entre autres aux pommes, aux poires ainsi qu'aux noix du noyer (Ballard *et al.*, 2000a). Ce lépidoptère est particulièrement difficile à contrôler puisque la larve passe la plus grande partie de sa vie protégée à l'intérieur du fruit. La courte période entre l'éclosion de la larve et la pénétration de cette dernière dans le fruit est un moment propice pour tenter d'éliminer l'insecte, qui se nourrit très peu avant son entrée dans le fruit (Jaques *et al.*, 1994). La méthode traditionnelle de lutte contre le carpocapse est l'utilisation d'insecticides organophosphorés à large spectre. Les principaux insecticides utilisés à cette fin sont l'azinphos-méthyl, le phosmet, la phosalone et le tébufénozide (Chouinard *et al.*, 2001). Malgré la grande efficacité des insecticides organophosphorés, il est fortement recommandé de réduire leur utilisation parce

qu'ils peuvent être dommageables pour la santé humaine et environnementale. De plus, ces insecticides ne sont pas spécifiques : ils éliminent aussi les prédateurs et les parasitoïdes nécessaires au contrôle naturel des ravageurs, ce qui peut induire à la résurgence d'autres ravageurs (Jaques *et al.*, 1994). Depuis quelques années, de nouveaux produits ayant un impact environnemental moindre, tels que les néonicotinoïdes et les pyréthriinoïdes, ont été homologués au Québec. Ces produits ne sont cependant pas sélectifs et ont un impact sur la faune auxiliaire.

Des études indiquent qu'il existe des cas de résistance de *C. pomonella* à certains insecticides organophosphorés, dont l'azinphos-méthyl, en Israël et aux États-Unis (Reuveny et Cohen, 2004). Les ennemis naturels du carpocapse de la pomme sont aussi affectés par les insecticides chimiques. En Ontario, des résidus de perméthrine, de phosmet, d'azinphos-méthyl et de phosalone ont entraîné une réduction significative du taux de parasitisme du parasitoïde *Trichogramma minutum* Riley sur le carpocapse (Yu *et al.*, 1984). Une étude brésilienne a démontré que l'utilisation du fongicide Kumulus à base de soufre, de l'insecticide trichlorfon et de l'insecticide fenthion provoquait une réduction de 77 à 100 % du parasitisme de *Trichogramma cacoeciae* Marshal sur *Sitotroga cerealella* (Oliv.) (Grützmacher *et al.*, 2004). Les effets négatifs de l'emploi massif d'insecticides chimiques sont donc nombreux, et de plus en plus d'efforts sont déployés pour tenter de trouver des méthodes de lutte alternatives efficaces et plus respectueuses de l'environnement.

La lutte biologique est une voie intéressante pour la répression des insectes ravageurs puisque ses impacts sur la santé humaine et environnementale sont minimes en comparaison avec les effets des insecticides traditionnels (Arthurs et Lacey, 2004). La lutte biologique peut être définie comme étant la gestion des populations de ravageurs – insectes et acariens – à l'aide d'ennemis naturels vivants (Bouchard et Vincent, 1986). Les possibilités de lutte biologique en pomiculture sont

nombreuses, mais le défi est énorme, étant donné le grand nombre de ravageurs et les standards de qualité très élevés de cette industrie (Bouchard et Vincent, 1986).

2. Présentation du projet de recherche

Le projet proposé s'inscrit dans une perspective de lutte intégrée en vergers de pommiers. Il s'agit d'utiliser conjointement deux agents de lutte biologique, un virus et un parasitoïde, pour contrôler les populations du carpocapse de la pomme, *C. pomonella*. Le premier agent est le virus de la granulose du carpocapse, le CpGV. Ce virus spécifique s'attaque aux larves du carpocapse de la pomme et il a déjà démontré qu'il peut réduire significativement les populations de carpocapses ainsi que les dommages superficiels aux pommes (Jaques *et al.*, 1987 ; Cossentine et Jensen, 2004). Arthurs et Lacey (2004) ont démontré que le CpGV pouvait entraîner 94 % de mortalité chez les larves néonates après 24 heures et 71 % après 72 heures sous des conditions sèches et ensoleillées.

Le second agent de lutte est la guêpe parasitoïde *Trichogramma minutum* Riley. Cet hyménoptère fait partie de la famille des Trichogrammatidae, un groupe spécialisé dans le parasitisme des œufs (Borror *et al.*, 1976). Plusieurs études prouvent que des lâchers massifs de guêpes *Trichogramma* permettent une réduction significative des dégâts occasionnés par des lépidoptères dans différentes cultures, dont les pommes, les noisettes, les vignes et le maïs sucré (Mills *et al.*, 2000 ; Stocker *et al.*, 2002 ; Nagarkatti *et al.* 2003 ; Hoffmann *et al.*, 2002).

L'utilisation conjointe de *T. minutum* Riley et du CpGV contre *C. pomonella* L. en vergers de pommiers n'a jamais été étudiée auparavant. Cette approche novatrice pourrait permettre un contrôle efficace du carpocapse en visant à la fois le stade œuf avec les trichogrammes et le stade larvaire avec le virus de la granulose. Le but de cette étude est de tester la compatibilité de ces deux agents de lutte biologique

afin d'établir un programme de lutte efficace contre le carpocapse de la pomme en vergers commerciaux.

3. État des connaissances

3.1. Lutte biologique et lutte intégrée

Il existe une très grande diversité d'organismes pouvant être exploités en lutte biologique. En effet, les microorganismes pathogènes, les bactéries, les virus, les champignons entomophages, les protozoaires, les nématodes, les oiseaux et les insectes peuvent tous agir à titre d'agents de lutte biologique (Cloutier et Cloutier, 1992). Mais quels que soient les organismes utilisés, la lutte biologique comprend trois principales approches : la lutte biologique classique, la lutte augmentative et la lutte conservatrice (Mills et Daane, 2005).

La lutte biologique classique est la méthode la plus ancienne et la mieux connue à ce jour. Cette approche, qui consiste à implanter un entomophage exotique, est souvent utilisée pour contrôler les ravageurs importés de façon accidentelle ou intentionnelle (Cloutier et Cloutier, 1992). La lutte augmentative est utilisée lorsque les ennemis naturels des ravageurs sont présents, mais qu'ils sont incapables de persister assez longtemps ou lorsque les populations sont insuffisantes pour contrôler les insectes ravageurs. Deux types de lutte augmentative sont possibles: la lutte inoculative et la lutte inondative (Mills et Daane, 2005). Dans le premier cas, l'inoculation d'un petit nombre d'ennemis naturels permet d'améliorer la colonisation du milieu, afin de permettre l'établissement de l'agent biologique. La lutte inondative, quant à elle, nécessite des lâchers massifs et périodiques d'auxiliaires pour réduire les populations de ravageurs (Coderre et Vincent, 1992). La dernière approche, la lutte conservatrice, se base sur la manipulation de l'habitat ou l'altération des pratiques

culturelles dans le but de favoriser les populations d'ennemis naturels déjà présentes dans le milieu (Mills et Daane, 2005).

Dans plusieurs cas, l'utilisation exclusive de la lutte biologique n'est pas suffisante pour diminuer les populations d'insectes ravageurs en dessous d'un seuil acceptable pour les producteurs (Vincent et Bostanian, 1992). En pomiculture, par exemple, la grande diversité des ravageurs et l'objectif économique de ne pas dépasser 5 % de fruits endommagés font en sorte qu'il est très difficile de se limiter uniquement à la lutte biologique (Vincent et Bostanian, 1992). Lorsque la lutte biologique à elle seule ne parvient pas à donner des rendements économiques suffisants aux producteurs, ceux-ci peuvent alors se tourner vers la lutte intégrée. La lutte intégrée est un compromis entre la lutte biologique et la lutte chimique conventionnelle. Cette approche préconisée en production fruitière intégrée favorise une méthode décisionnelle qui permet de réduire les populations de ravageurs sous un niveau économiquement acceptable, tout en limitant les impacts sur l'environnement (Chouinard *et al.*, 2001). Il s'agit d'une méthode décisionnelle qui a recours à toutes les techniques nécessaires pour réduire les populations d'organismes nuisibles de façon efficace et économique, tout en respectant l'environnement (MDDEP, 2002). Les stratégies de lutte intégrée sont basées sur l'utilisation modérée de pesticides sélectifs, sur la conservation de l'environnement, des habitats et de la faune auxiliaire et sur la surveillance des niveaux de populations des ravageurs et des ennemis naturels par des techniques de dépistage spécifiques (Bouchard et Vincent, 1987 ; Kuhlmann, 1996).

***Cydia pomonella* L.**

Cydia pomonella est un ravageur important de plusieurs cultures fruitières à travers le monde (Pszczolkowski *et al.*, 2002). Les larves de ce lépidoptère de la famille des Tortricidae sont polyphages et peuvent se nourrir de plusieurs fruits, dont

les pommes, les poires (Howell *et al.*, 1992), les cerises (Moffitt *et al.*, 1992), les nectarines (Curtis *et al.*, 1991), les prunes (Yokoyama et Miller, 1999) et les noisettes (Vail *et al.*, 1993). L'adulte est un papillon de couleur gris-brun qui mesure en moyenne 12 mm de longueur (Chouinard *et al.*, 2001). Les adultes ont un grand potentiel de migration et peuvent voler une distance de 15 kilomètres (Pszczolkowski et Brown, 2005). La durée d'une génération de *C. pomonella* varie de 30 à 40 jours, selon les conditions environnementales (Mills *et al.*, 2000). Au Québec, le carpocapse de la pomme compte une à deux générations par année. Plus de 80 % des oeufs sont pondus sur les feuilles des arbres fruitiers, généralement très près des fruits (Jackson, 1979). Selon une étude, 75 % des œufs sont pondus à moins de 6 cm des pommes, et 90 % à moins de 10 cm, dans des vergers non traités par des insecticides (Blomfield *et al.*, 1997). Les œufs peuvent parfois être pondus directement sur les fruits, et cela est plus fréquent tardivement dans la saison (Lombarkia et Derridj, 2002).

Même si elles peuvent se nourrir de feuilles de pommiers, les larves néonates cherchent à pénétrer dans les pommes dès leur émergence (Ballard *et al.*, 2000b). Des essais ont démontré qu'après 48 heures, 40 % des larves de premier stade de carpocapse relâchées sur des feuilles de pommier ont réussi à pénétrer dans les fruits (Subinprasert et Svensson, 1988). Lorsqu'elles sont arrivées aux pommes, les larves de premier stade prennent environ 1 à 2,5 heures pour pénétrer à l'intérieur d'un fruit (Geier, 1963). Les chenilles du carpocapse passent leurs cinq stades larvaires à l'intérieur des fruits (Pszczolkowski *et al.*, 2002). Lorsque la larve a terminé son développement après 3 à 4 semaines, elle quitte le fruit et se cherche un endroit adéquat, généralement l'écorce de l'arbre, pour tisser son cocon (Arthurs *et al.*, 2007). S'il s'agit d'une larve de première génération, elle formera une chrysalide et se développera en papillon de deuxième génération. Les larves de la deuxième génération hivernent au 5^e stade dans un cocon de soie et les papillons sortent de leur chrysalide au printemps suivant.

3.3. Méthodes de lutte contre le carpocapse

Il existe plusieurs méthodes pour réduire les populations de *C. pomonella*. La principale méthode consiste à utiliser des insecticides organophosphorés ou des régulateurs de croissance lorsque le seuil d'intervention est atteint (Chouinard *et al.*, 2001). Cette technique demeure la plus efficace, mais son coût environnemental est élevé. De nombreuses études utilisant des méthodes alternatives plus écologiques ont été effectuées avec des résultats variables. Par exemple, des essais avec la bactérie *Bacillus thuringiensis* Berliner ont été efficaces en laboratoire, mais inefficaces sur le terrain (Andermatt *et al.*, 1988). L'application d'huile minérale n'a pas permis de réduire les dommages du carpocapse d'une façon acceptable aux États-Unis (Fernandez *et al.*, 2006). L'utilisation de nématodes n'a pas permis un contrôle efficace des populations de *C. pomonella* L. (Lacey *et al.*, 2005). En revanche, la technique de confusion sexuelle et le lâcher massif de mâles stériles de carpocapses sont deux méthodes qui ont permis de réduire les populations de carpocapses et les dégâts à la récolte de façon significative en Colombie-Britannique (Charmillot, 1995 ; Cossentine et Jensen, 2000). La confusion sexuelle consiste à placer des diffuseurs de phéromone sexuelle du carpocapse afin que les mâles ne soient plus en mesure de localiser les femelles pour s'accoupler (Cormier et Morin, 2008). La méthode de confusion sexuelle est récemment devenue une méthode de contrôle acceptable dans certaines conditions et 45 000 hectares de vergers de pommes ont eu recours à cette méthode en Amérique du Nord en 2002 (Gut et Brunner, 1998).

De nombreuses recherches se poursuivent en vue de développer des alternatives écologiques pour lutter contre le carpocapse, et certains résultats sont très encourageants. L'utilisation du virus de la granulose du carpocapse (CpGV) a permis une réduction significative des populations de *C. pomonella* et des dommages sur les pommes dans plusieurs cas (Jaques *et al.*, 1987 ; Charmillot *et al.*, 1991 ; Arthurs et Lacey, 2004). Des lâchers massifs de trichogrammes peuvent réduire

significativement les populations de carpocapses (Mills *et al.*, 2000 ; Mills et Daane, 2005).

3.4. Virus de la granulose du carpocapse (CpGV)

Le virus de la granulose du carpocapse, *C. pomonella*, a été isolé pour la première fois au Mexique en 1964, à partir de larves mortes de carpocapses de la pomme dans un verger (Tanada, 1964). Depuis sa découverte, le virus a été multiplié sur des larves de carpocapse et plusieurs études ont été effectuées en laboratoire et sur le terrain afin de tester son efficacité comme outil de lutte biologique (Charmillot *et al.*, 1998a, Ballard *et al.*, 2000a, Arthurs *et al.*, 2007). Des essais avec le CpGV ont été effectués dans plusieurs pays aux prises avec des dommages importants reliés à *C. pomonella*, dont les États-Unis, le Canada et la Suisse (Jaques *et al.*, 1987 ; Charmillot *et al.*, 1998b ; Arthurs *et al.*, 2006).

Le CpGV est un virus de la famille des Baculoviridae, du genre *Baculovirus*, des virus spécifiques aux insectes. Les granulovirus ont une forme ellipsoïdale et les particules virales individuelles sont protégées par une capsule protéique appelée corps d'inclusion. La seule voie d'entrée du virus est la voie orale. Après ingestion, la capsule composée de granuline se dissout dans l'intestin moyen de la larve, un milieu alcalin. Ensuite les particules virales passent par la membrane péritrophique de l'hôte, pour infecter tout l'intestin, avant de se répandre dans les autres tissus et provoquer la mort de la larve (Ballard *et al.*, 2000a).

Le virus de la granulose du carpocapse de la pomme est hautement spécifique, puisque seulement six espèces de tordeuses de la sous-famille des *Olethreutinae* sont susceptibles d'être infectées (Charmillot, 1989). En ce qui concerne les ravageurs arboricoles, les espèces sensibles au virus sont le carpocapse de la pomme *C. pomonella*, la tordeuse orientale du pêcher *Grapholita molesta* (Busck.) et le

carpocapse des prunes *Grapholita funebrana* Tr (Charmillot, 1989). Le CpGV est nettement plus virulent contre *C. pomonella* que contre *G. molesta*. Des essais en laboratoire ont permis de démontrer que *G. molesta* était 589 fois moins sensible au CpGV que *C. pomonella* (Lacey *et al.*, 2005). La faune auxiliaire, comprenant les prédateurs, les abeilles et certains parasitoïdes, est insensible au virus de la granulose du carpocapse (Dickler, 1986). De nombreuses études ont aussi démontré l'innocuité des *Baculovirus* chez les mammifères (Döller *et* Huber, 1983). Aucun test n'a cependant été effectué sur les trichogrammes.

3.5. Persistance et formulation du CpGV

Un des principaux problèmes reliés à l'utilisation du CpGV est la faible persistance du virus après l'application sur le terrain. Le principal facteur qui limite la durée de vie du CpGV est la radiation ultraviolette (UV) provenant du soleil (Ballard *et al.*, 2000a). Sans ajout d'adjuvants à la solution virale aqueuse, la demi-vie du virus est de seulement 2 à 3 jours sur le feuillage des pommiers, en région tempérée (Jaques et Laing, 1982). En Suisse, une étude dans des vergers de pommiers a démontré que le Madex®, un produit commercial à base de CpGV, perdait 50 % de son efficacité après 15 jours (Charmillot *et al.*, 1991). Dans d'autres études, le virus est inactivé de 50 % après seulement 2 à 8 jours dans les vergers (Glen et Payne, 1984 ; Jaques *et al.*, 1987 ; Arthurs et Lacey, 2004). Des essais en laboratoire ont démontré qu'une exposition du virus à une irradiation de $9,36 \times 10^6$ J/m² (conditions similaires à celles du terrain) pendant 4 heures diminue l'activité larvicide de 71 à 98 % (Lacey et Arthurs, 2005).

Afin de prolonger la durée de vie du virus après l'application sur le terrain, des substances peuvent être ajoutées à la solution virale. Plusieurs essais ont été effectués afin de trouver une substance efficace pour protéger le virus des UV. Lors d'une étude en vergers, l'ajout d'adjuvants NuFilm-17, Raynox et Trilogy n'a pas

fourni une protection solaire adéquate (Arthurs *et al.*, 2006). La même étude démontre que l'encapsulation des particules virales dans la lignine permet une protection significative contre les rayons UV, mais uniquement à une concentration virale 43 fois supérieure à la dose recommandée pour l'application (Arthurs *et al.*, 2006).

Le lait en poudre semble offrir une protection solaire acceptable aux particules virales, et la compagnie Andermatt Biocontrol suggère d'ajouter 0,25 % (poids/volume) de lait en poudre dans la solution virale Madex® (Charmillot, 1995). Malgré une certaine efficacité du lait en poudre, l'inactivation du CpGV par les rayons UV demeure un problème important qui nuit à l'utilisation à grande échelle d'insecticides biologiques à base du granulovirus.

Un autre défi dans l'utilisation du CpGV réside dans le fait que les larves néonates de carpocapse doivent ingérer une dose létale du virus avant de pénétrer dans les pommes. Une étude a déjà démontré que la quantité de virus ingérée avant l'entrée dans les pommes doit être suffisante pour tuer les larves de carpocapse (Ballard *et al.*, 2000b). La CL₅₀ du Madex est d'environ 0,3 ppm (mg/l) de produit formulé, ce qui est très faible pour un insecticide (Charmillot *et al.*, 1998a). Afin d'augmenter l'ingestion du virus par les larves, 0,5 % (poids/volume) de sucre peut être ajouté à la formulation comme phagostimulant (Charmillot *et al.*, 1998b). Puisque le CpGV prend généralement 5 à 10 jours avant de tuer les larves de carpocapse, il est courant que celles-ci causent des dommages superficiels aux pommes avant de mourir (Arthurs *et Lacey*, 2004). Ces dommages superficiels peuvent être réduits lorsque les pulvérisations de formulation de CpGV sont effectuées dès l'émergence des larves, ce qui peut être évalué à l'aide de modèles prévisionnels disponibles sur le marché.

3.6. Essais du CpGV en vergers de pommiers

Plusieurs expériences ont été effectuées afin de tester l'efficacité du CpGV pour le contrôle de *C. pomonella* en vergers de pommiers. Les résultats des recherches diffèrent beaucoup d'une étude à l'autre, mais généralement, l'application du virus permet une diminution significative de la population de carpocapse de la pomme, ainsi que des dommages à la récolte (Jaques *et al.*, 1977 ; Jaques *et al.*, 1987 ; Kienzle *et al.*, 2003). Une étude allemande a démontré que quatre applications du virus de la granulose pouvaient fournir une protection adéquate contre *C. pomonella*, même durant une saison chaude et ensoleillée (Huber et Dickler, 1977). En Ontario, sept applications du CpGV ont permis une réduction significative des entrées profondes des larves de carpocapse dans les pommes McIntosh (Jaques *et al.*, 1994). Par contre, à cause du temps d'action relativement lent du virus (les larves meurent généralement quatre à six jours après l'ingestion), des morsures et des traces de pénétrations superficielles sont souvent présentes sur les pommes (Jaques *et al.*, 1977 ; Jaques *et al.*, 1994). Il s'agit d'un problème important puisque ces pommes sont déclassées et impropres à la vente pour le marché frais.

Le développement d'insecticides biologiques à base de CpGV a été important depuis quelques décennies, et il existe aujourd'hui plusieurs produits homologués. Le tableau suivant fait état des principaux insecticides à base de CpGV homologués.

Tableau 1 : Produits commerciaux homologués à base du virus de la granulose du carpocapse (CpGV)

Nom du produit	Compagnie	Pays	Année d'homologation
Madex®	Andermatt Biocontrol	Suisse	1988
Granupom®	Hoerst	Allemagne	1991
Carpovirusine®	Calliope	France	1993
Cyd-X®	Certis	États-Unis	1995
Virosoft CP4®	Biotepp	Canada	2001

3.7. *Trichogrammes*

Le second agent de lutte biologique sélectionné dans la présente étude est le trichogramme, plus précisément l'espèce *Trichogramma minutum*. Les insectes appartenant au genre *Trichogramma* sont de minuscules guêpes parasitoïdes (0,2 à 1,5 mm) de la famille des Trichogrammatidae. Les trichogrammes sont des parasitoïdes oophages qui s'attaquent généralement aux lépidoptères, bien que certaines espèces peuvent parasiter des coléoptères, des diptères, des hétéroptères, des hyménoptères et des neuroptères (Pinto et Stouthamer, 1994). Contrairement aux parasitoïdes koïnobiontes qui ne tuent pas immédiatement leur hôte après l'avoir parasité, les trichogrammes sont des parasitoïdes idiobiontes qui tuent leur hôte en le parasitant. Le développement des parasitoïdes idiobiontes se fait dans des hôtes morts qu'ils ont préalablement tués ou paralysés (van Driesche et Bellows, 1996). Dans le cas des femelles trichogrammes, celles-ci tuent leurs hôtes en pondant dans leurs œufs, et leurs larves se développent à l'intérieur de l'œuf en se nourrissant du contenu de l'hôte. Les trichogrammes émergent de l'œuf de l'hôte uniquement au stade adulte. La famille des Trichogrammatidae compte plus de 620 espèces, réparties dans 80 genres (Pinto et Stouthamer, 1994).

3.8. *Trichogramma minutum* Riley

Le parasitoïde *T. minutum* est une espèce indigène au Canada qui s'attaque communément à la tordeuse des bourgeons de l'épinette, *Choristoneura fumiferana* (Clemens), à la tordeuse à bande oblique, *Choristoneura rosaceana* (Harr.) et au carpocapse de la pomme, *C. pomonella* (Yu *et al.*, 1984 ; Smith, 1996). Le temps de développement de l'œuf à l'adulte de l'espèce varie grandement en fonction de la température, soit environ 15 jours à 20 °C, 8 jours à 25 °C et 7 jours à 30 °C (Yu *et al.*, 1984). Lorsque les femelles de *T. minutum* Riley sont nourries d'une solution aqueuse de 50 % de miel, leur fécondité est augmentée de 9 fois et leur longévité de 6 fois en laboratoire (Yu *et al.*, 1984). L'élevage de *T. minutum* Riley en laboratoire est assez simple, ce qui facilite son utilisation dans des programmes de lutte biologique.

3.9. Choix de l'hôte

La survie des parasitoïdes dépend de leur habileté à choisir un hôte adéquat pour leur progéniture (Kaiser *et al.*, 1989). Il existe trois étapes dans le processus de choix : la sélection de l'habitat de l'hôte, la localisation de l'hôte et l'acceptation de l'hôte (Vinson, 1976). L'hôte sur lequel les trichogrammes ont été élevés peut avoir une influence sur la préférence de ponte des femelles (Kaiser *et al.*, 1989). Le choix de l'hôte peut aussi être influencé par sa taille (Schmidt et Smith, 1985a). Avant de pondre dans l'hôte, les femelles trichogrammes examinent sa surface en le touchant avec leurs antennes. Ce comportement permettrait l'évaluation de la taille de l'œuf, ce qui influencerait la décision de ponte de la femelle (Schmidt et Smith, 1985b).

D'autre part, il est reconnu que le nombre d'œufs pondus par les trichogrammes est directement relié au volume de l'hôte (Klomp et Teerink, 1967). Dans les plus gros œufs comme ceux de *C. pomonella*, les trichogrammes peuvent

pondre plus d'un œuf, tandis que les petits œufs permettent la ponte d'un seul trichogramme (Schmidt, 1994). Par exemple, *T. minutum* peut pondre jusqu'à trois œufs dans un œuf de carpocapse de la pomme et seulement un œuf dans chaque œuf de tordeuse à bandes obliques, *Choristoneura rosaceana* Harris (Lepidoptera : Tortricidae) (Aubry, 2008). Dans une étude effectuée en laboratoire, la taille de la progéniture de *T. evanescens* Westwood variait en fonction de la taille des œufs de l'hôte (Salt, 1940). Les individus ayant émergé des œufs de l'alucite des grains, *Sitotroga cerealella* (Olivier), étaient plus petits que ceux qui ont émergé des œufs de la pyrale de la farine, *Ephestia kuehniella* Zeller (Salt, 1940).

La densité des hôtes est un autre facteur qui influence le choix d'oviposition des femelles parasitoïdes (Reznik et Umarova, 1991). L'âge de l'hôte peut aussi affecter le taux de parasitisme des trichogrammes. Une expérience a démontré que les œufs de 1-2 jours de *C. pomonella* étaient préférés aux œufs de 3 à 4 jours par *T. minutum* Riley (Yu *et al.*, 1984).

3.10. Utilisation des trichogrammes en lutte biologique

Les trichogrammes sont les insectes entomophages les plus utilisés en lutte biologique, particulièrement dans des programmes de lâchers inondatifs (Corrigan et Laing, 1994). Ces hyménoptères peuvent être facilement élevés sur des œufs de lépidoptères comme *E. kuehniella* et *S. cerealella* (Bigler *et al.*, 1987). Plusieurs espèces de trichogrammes ont été utilisées à travers le monde dans divers programmes de lutte biologique contre de nombreux lépidoptères ravageurs. Des lâchers massifs de *Trichogramma platneri* Nagarkatti ont permis un contrôle efficace du carpocapse de la pomme en Californie, dans des vergers de poires et de noisettes (Mills *et al.*, 2000). Dans des vergers de pommes de la Californie, l'utilisation de *T. platneri* Nagarkatti a permis une réduction de 60 % des dommages liés à *C. pomonella* (Mills *et al.*, 2000). De plus, une étude réalisée dans des vignobles aux

États-Unis a démontré que des lâchers inondatifs de *Trichogramma minutum* Riley ont permis de diminuer les dommages de la tordeuse de la vigne à moins de 2 % de fruits endommagés, un niveau très acceptable pour cette culture (Nagarkatti *et al.*, 2003). Au Québec, il a été démontré qu'il est possible de contrôler les populations de la pyrale du maïs, *Ostrina nubilalis*, par des lâchers inondatifs de *Trichogramma brassicae* dans les champs de maïs sucré. Le taux de parasitisme en champ de maïs a été évalué à 87,6 %, plus ou moins 4,8 % et des dommages à la récolte de 0,9 %, plus ou moins 0,5 % (MAPAQ, 1996).

3.11. Utilisation conjointe de plusieurs agents de lutte biologique

L'utilisation conjointe de plusieurs auxiliaires de lutte biologique contre une espèce de ravageur peut être une solution lorsque l'emploi d'un seul agent est insuffisant pour maintenir les populations en dessous du seuil économique. La combinaison de plusieurs auxiliaires peut entraîner des effets additifs, synergiques ou antagonistes sur les ravageurs, comparativement à l'effet de chaque auxiliaire employé seul (Stiling et Cornelissen, 2005). La compétition interspécifique et la prédation intragilde sont parmi les interactions possibles qui peuvent influencer le contrôle biologique lors de l'utilisation d'agents de lutte multiples (Van Den Bosch *et al.*, 1971).

Si la réponse totale de plusieurs agents de lutte biologique sur leur cible commune est supérieure aux deux réponses additionnées, il y a présence de synergie. La synergie existe lorsqu'il y a coopération entre les agents et qu'au moins un des deux agents est plus efficace en présence de l'autre. Par exemple, le stress provoqué par l'application d'un insecticide chimique peut favoriser la contraction ou l'activation des maladies infectieuses, ou rendre les insectes plus sensibles aux toxines des microorganismes (Benz, 1971). Une étude a révélé que les larves du carpocapse de la pomme, *C. pomonella*, pouvaient être infectées par les spores du

champignon *Beauveria bassiana* seulement après avoir été traitées avec de faibles doses de DDT (Telenga et Dyadechko, 1957). Des essais en laboratoire pour le contrôle de la tordeuse des bourgeons de l'épinette (*Choristoneura fumiferana* Clemens) avec *B. thuringiensis* et des toxines de *Metarhizium anisopliae* (Metch.) ont démontré une forte synergie entre les deux auxiliaires de lutte (Brousseau *et al.*, 1998). Cette étude suggère qu'il est possible d'utiliser conjointement deux agents biologiques à faible dose et d'obtenir une diminution significative d'un ravageur.

L'antagonisme est l'effet contraire de la synergie et survient lorsque la réponse totale des deux agents utilisés ensemble est inférieure à l'addition des deux réponses individuelles (Benz, 1971). L'antagonisme résulte d'une incompatibilité entre les agents pathogènes, comme par exemple lorsqu'un microorganisme utilisé en lutte biologique est inactivé par un insecticide chimique. Une étude sur le contrôle biologique du lépidoptère *Adoxophyes* sp. (Lepidoptera : Tortricidae) a démontré un effet antagoniste du virus de la granulose ASGV sur l'endoparasitoïde *Ascogaster reticulatus* Watanabe (Nakai et Kunimi, 1997). Plus précisément, le virus a eu un effet négatif sur le développement des larves de parasitoïdes et a entraîné une mortalité élevée des larves après leur émergence de l'hôte (Nakai et Kunimi, 1997). Dans une autre étude, l'application de granulovirus contre *C. pomonella* a réduit le pourcentage de parasitisme des parasitoïdes *Ascogaster quadridentatus* Wesmael et *Lixophaga variabilis* (Coquillett) (Falcon, 1973).

Si le taux de mortalité total observé est égal au taux de mortalité total théorique, il n'y a ni synergie ni antagonisme : il s'agit d'additisme. La formule suivante s'applique alors pour déterminer le taux de mortalité théorique: $M_{1+2} = M_1 + M_2 (1 - M_1/100)$. M_1 est le taux de mortalité associé au premier agent pathogène, M_2 étant celui associé au deuxième agent. Lorsque l'effet est synergique, la formule suivante s'applique : $M_{1+2} > M_1 + M_2$. Lorsque l'effet est antagoniste, celle-ci

s'applique : $M_{1+2} < M_1 + M_2$ (Benz, 1971). Ces équations s'appliquent lorsque les cibles (proies) ne sont pas remplacées dans le système.

3.12. Interaction des parasitoïdes avec d'autres auxiliaires de lutte

Il est primordial d'étudier la complémentarité entre les parasitoïdes et les autres organismes utilisés dans le cadre d'un programme de lutte biologique faisant appel à plusieurs auxiliaires de lutte. L'effet antagoniste d'un agent pathogène sur un parasitoïde peut réduire considérablement l'efficacité totale du programme de lutte. Les interactions entre les parasitoïdes et les nématodes, les prédateurs et d'autres espèces de parasitoïdes peuvent aussi influencer leur efficacité sur le terrain. Lacey *et al.* (2003) ont étudié l'interaction de deux parasitoïdes (Hymenoptera : Ichneumonidae) avec le nématode entomopathogène *Steinernema carpocapsae* (Weiser), dans le cadre d'un programme de lutte conjointe contre *C. pomonella*. Les essais en laboratoire ont révélé un effet antagoniste des nématodes sur les deux espèces de parasitoïdes, *Mastrus ridibundus* (Gravenhorst) et *Liotryphon caudatus* Ratzeburg, en provoquant 70,7 % et 85,2 % de mortalité (Lacey *et al.*, 2003). Par contre, des tests de choix ont démontré que les parasitoïdes avaient la capacité d'éviter les larves infectées par les nématodes, ce qui pourrait augmenter la complémentarité entre les parasitoïdes et les nématodes.

L'utilisation de prédateurs généralistes avec des parasitoïdes spécialistes pourrait augmenter l'efficacité du contrôle de certains insectes ravageurs. Par exemple, une étude a été effectuée sur le contrôle biologique des pucerons avec la coccinelle *Harmonia axyridis* Pallas et le parasitoïde *Aphelinus asychis* (Walker), dans des serres de roses (Snyder *et al.*, 2004). Dans les tests de laboratoire, la prédation intragilde des coccinelles sur les parasitoïdes était très élevée, suggérant un effet antagoniste lors de l'utilisation conjointe des deux agents. Par contre, des lâchers en serres ont permis une réduction importante des populations de pucerons et

une très faible prédation intragilde, ce qui démontre que les deux agents de lutte pourraient être utilisés conjointement afin d'augmenter le contrôle des pucerons (Snyder *et al.*, 2004).

Lorsque deux espèces de parasitoïdes sont utilisées conjointement dans un programme de lutte biologique, la nature des interactions entre les espèces doit être étudiée. La compétition pour la même ressource peut entraîner plusieurs scénarios comme la coexistence des deux espèces, l'avantage d'une espèce sur l'autre ou la suppression d'une espèce (Bader *et al.*, 2006). Bader *et al.* ont étudié la nature des interactions entre les parasitoïdes *Diglyphus isaea* (Walker) et *Dacnusa sibirica* Telenga pour le contrôle de *Liriomyza langei* Frick dans une culture de chrysanthèmes. Les résultats suggèrent un effet additif du niveau de suppression du ravageur, ce qui signifie l'absence d'antagonisme ou de synergisme entre les deux parasitoïdes. Les auteurs n'ont pas détecté la présence d'interactions interspécifiques significatives entre les deux espèces lors de leurs essais en cages.

Les parasitoïdes peuvent aussi être employés conjointement avec des pathogènes comme des virus, des champignons et des bactéries. Lorsque des virus sont utilisés conjointement avec les parasitoïdes, ces derniers peuvent démontrer un comportement d'évitement des hôtes infectés par le virus, pour réduire la compétition ou pour éviter la mortalité liée au virus (Versoi et Yendol, 1982). Le parasitoïde *Ametadoria misella* (Diptera: Tachinidae) évite de pondre dans le lépidoptère *Harrisina brillians* Barnes & McDunnough, lorsqu'il est infecté par le granulovirus HbGV (Stark *et al.*, 1999). Ce comportement d'oviposition sélective qui vise à favoriser les hôtes non infectés est adaptatif, puisqu'un hôte infecté au HbGV ne survit pas assez longtemps pour le développement complet du parasitoïde (Stark *et al.*, 1999). Les virus peuvent provoquer la mortalité ou des problèmes de développement des parasitoïdes. Une étude japonaise a démontré que l'infection des larves de la petite tordeuse du thé (*Adoxophyes* sp.) par le granulovirus AsGV

ralentissait le développement de l'endoparasitoïde *Ascogaster reticulatus* (Nakai et Kunimi, 1997). Généralement, dans les cas où des agents pathogènes affectent négativement la ponte ou le développement des parasitoïdes, un effet antagoniste sera remarqué lors d'une utilisation conjointe des deux agents de lutte.

Dans certains cas, les parasitoïdes ne sont pas en mesure de discriminer les hôtes contaminés. Par exemple, les parasitoïdes *Chelonus insularis* Cresson et *Campoletis sonorensis* (Cameron) pondent autant dans les larves de *Spodoptera frugiperda* infectées par un virus NPV que dans les larves saines, même si le virus affecte négativement ces parasitoïdes (Escribano *et al.*, 2000). Dans une autre étude, les parasitoïdes *Diadegma semiclausum* et *Cotesia plutellae* n'arrivent pas à discriminer les larves de lépidoptères infectées par le champignon entomopathogène *Zoophthora radicans*, même si celui-ci peut les tuer (Furlong et Pell, 2000). Les interactions entre les parasitoïdes et les pathogènes sont complexes et varient d'un système à l'autre, d'où l'importance d'étudier les interactions entre les espèces avant d'utiliser plusieurs agents simultanément. Il existe un grand nombre d'exemples d'interactions entre les parasitoïdes et d'autres agents de lutte biologique, en plus de ceux déjà cités. Il s'agit d'un sujet d'étude en plein essor depuis quelques décennies.

4. Objectifs de l'étude

L'objectif principal de cette étude est de mettre au point et d'évaluer deux programmes de lutte biologique contre le carpocapse de la pomme en utilisant conjointement des lâchers massifs de trichogrammes de l'espèce *T. minutum* et des pulvérisations du virus de la granulose du carpocapse. Afin de répondre à l'objectif principal, nous avons effectué des essais dans quatre vergers commerciaux et un verger expérimental en Montérégie en plus d'effectuer des expériences de laboratoire. L'étude a été effectuée sur une période de trois années, du printemps 2006 à l'automne 2008.

L'étude est divisée en deux volets, présentés en deux chapitres. Dans le premier chapitre, nous avons étudié la compatibilité entre les trichogrammes de l'espèce *T. minutum* et le CpGV. L'objectif était d'établir la nature des interactions entre les deux agents afin de déterminer s'ils avaient ensemble un effet additif, antagoniste ou synergique. Puisque c'était la première fois que les trichogrammes étaient utilisés en combinaison avec le virus de la granulose du carpocapse, il était pertinent de se pencher sur les effets possibles des formulations de CpGV sur *T. minutum*. Des essais en verger expérimental et des expériences en laboratoire ont permis de répondre à notre premier objectif.

Dans le second chapitre, deux stratégies combinant des lâchers massifs de trichogrammes et des pulvérisations du virus de la granulose du carpocapse ont été établies et comparées sur le terrain. Les deux stratégies différaient par la chronologie entre les lâchers de trichogrammes et les pulvérisations de CpGV. Dans un cas, les lâchers et les pulvérisations étaient simultanés, alors que dans l'autre, les deux opérations se faisaient de façon successive. Dans la stratégie simultanée, l'interaction possible entre les trichogrammes et la formulation de CpGV aurait pu avoir un effet sur la réponse totale, tandis que dans la stratégie successive, l'interaction est réduite afin d'éliminer un possible effet de celle-ci sur l'efficacité totale des deux agents. Nous avons comparé ces deux stratégies afin de connaître la méthode d'intervention la plus efficace pour contrôler les carpocapses. Nous voulions également savoir si le CpGV avait un effet négatif sur le taux de parasitisme des trichogrammes, comme cela s'était produit dans nos expériences de laboratoire en tubes de verre. L'objectif principal était d'évaluer l'efficacité des deux stratégies pour contrôler les populations de carpocapses tout en limitant les dommages aux pommes. Nous avons comparé ces deux stratégies à la régie conventionnelle du producteur en évaluant les dégâts aux pommes à la mi-saison et à la récolte, et en plaçant des bandes-pièges à la base des arbres pour évaluer le nombre de larves diapausantes en fin de saison.

CHAPTER I

ADDITIVE EFFECT OF *TRICHOGRAMMA MINUTUM* RILEY AND CODLING MOTH GRANULOVIRUS (CPGV) AGAINST THE CODLING MOTH

MORISSET, Olivier¹, TODOROVA, Silvia², LUCAS, Éric¹, CHOUINARD, Gérald³, and
CORMIER, Daniel³

¹ Département des sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888,
Succursale Centre-ville, Montréal (Québec) H3C 3P8

² Anatis Bioprotection inc., 278, rang Saint-André, Saint-Jacques-le-Mineur (Québec)
J0J 1Z0

³ Institut de recherche et de développement en agroenvironnement, 3300, rue Sicotte,
C.P. 480, Saint-Hyacinthe (Québec) J2S 7B8

ABSTRACT

The codling moth, *Cydia pomonella*, is a major pest of apples and can cause substantial economic losses to apple growers throughout the world. Chemical insecticides and mating disruption are currently used to control this pest. According to earlier studies, the two most efficient biocontrol agents against codling moths are the codling moth granulovirus (CpGV) and egg parasitoids in the genus *Trichogramma*. The objective of this study was to develop an effective biocontrol program combining the use of *Trichogramma minutum* and CpGV to reduce damage on apples. We also studied the interaction between the two biocontrol agents to determine if their combined effect was synergistic, antagonistic or additive. Experiments were carried out in the laboratory and in an experimental apple orchard over three years to study how *T. minutum* performed both in the presence and in the absence of CpGV formulation. Parasitism on codling moth decreased in glass tube experiments when CpGV viral formulation was applied on eggs prior to parasitism. Fewer *T. minutum* progeny emerged from codling moth eggs covered with CpGV viral formulation than untreated eggs. In contrast, the presence of CpGV formulation on codling moth eggs did not affect *T. minutum* parasitism in the orchard. No significant difference in parasitism rates was found for sentinel eggs sprayed with CpGV prior to parasitism versus untreated sentinel eggs. Our results showed that the combined effect of CpGV and *T. minutum* on the mortality of the codling moth is additive. In 2006, CpGV killed more codling moth than trichograms did, with $\approx 55\%$ larval mortality versus $\approx 22\%$ egg mortality. In 2008, CpGV and trichograms caused similar mortalities, with $\approx 39\%$ larval mortality and $\approx 37\%$ egg mortality. According to our results, the combined use of CpGV and *T. minutum* is a promising alternative for the control of *C. pomonella* in apple orchards.

Keywords: *Cydia pomonella*, *Trichogramma minutum*, CpGV, apple orchards, interactions, parasitoids, biological control, integrated pest management, parasitism, antagonism, synergy.

INTRODUCTION

The codling moth, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae), is a major pest in apple orchards around the world. In the province of Quebec, Canada, codling moth populations can be substantial. In the last decade, damages have been increasing in the Monteregian area of Quebec (Cormier and Morin, 2008). Chemical insecticides such as azinphos-methyl usually succeed in reducing populations and keeping damages below economic level, but occurrences of codling moth resistance have been documented around the world (Dunley and Welter, 2000; Boivin *et al.*, 2003; Reuveny and Cohen, 2004; Eberle *et al.*, 2008). Adverse effects of chemical insecticides on non-target fauna and concerns about their impact on ecosystems and human health have necessitated alternative control methods for *C. pomonella*.

Egg parasitoids of the genus *Trichogramma* have been used to control codling moths with encouraging results (Zhang and Cossentine, 1995; Cossentine and Jensen, 2000; Aubry, 2008). *Trichogramma platneri* Nagarkatti releases in Californian apple orchards decreased codling moth damage by 60% (Mills *et al.*, 2000). Other studies proved that *Trichogramma* could significantly reduce codling moth populations (McDougall, 1995; Mills *et al.*, 2000; Lacey and Unruh, 2005).

Codling moth granulovirus (CpGV) is indigenous in North America and is highly lethal to codling moth larvae (Arthurs and Lacey, 2004). Arthurs *et al.* (2005) found that CpGV could reduce the proportion of deep entries of codling moth larvae on apples by 77-98 %. But CpGV is not always as effective because U.V.s deteriorate the viral bodies within days (Lacey *et al.*, 2004; Ballard *et al.*, 2000a). It also has a short opportunity to infect codling moths as first instar larvae enter fruits quickly after they hatch and are then out of reach (Jacques *et al.*, 1994). Thus, larvae must ingest a lethal dose of CpGV between the moment they hatch and the moment they enter a fruit. Considering the potential of *Trichogramma* and CpGV, a simple hypothesis that

the two agents together would increase the efficiency of biocontrol by targeting both codling moth eggs and larvae could be posed. However, using two biocontrol agents together can be difficult if antagonistic interactions occur (Snyder and Ives, 2003). Predators can interact with parasitoids or other predators and reduce biocontrol efficiency. In trials using ladybird *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae) and the parasitoid *Aphelinus asychis* Walker (Hymenoptera: Aphelinidae) against aphids in greenhouse roses, antagonism was noted as ladybirds also fed on parasitoid mummies, which reduced the time they spent hunting aphids (Snyder *et al.*, 2004). Antagonism can also occur when intraguild predators such as aphidophagous mirids and syrphids prey upon each other (Lucas, 2005; Fréchette *et al.*, 2007). When introducing many parasitoid species in a system, interspecific competition for the same host may decrease the efficiency of one or many species by diminishing the quantity of the resource or by interference, in which one species limits the access to the host for other species (Mills, 2006).

In a review of over 170 projects involving the introduction of multiple biocontrol agents, Denoth *et al.* (2002) concluded that negative interactions between agents may play a significant role in biocontrol efficiency. For example, Furlong and Pell (2000) found an incompatibility between the fungal entomopathogen *Zoophthora radicans* (Brefeld) (Zygomycetes: Entomophthorales) and two larval parasitoids of the diamondback moth because immature parasitoids died in fungi-infested hosts. The interactions between two species of introduced parasitoids can also be antagonistic when they compete for a common resource or a niche (Pederson and Mills, 2004). Intraguild interactions in parasitoids are mostly detrimental and to our knowledge, no studies revealed synergy between parasitoids and other biocontrol agents (Brodeur and Rosenheim, 2000; Meyhöfer and Klug, 2002).

On the other hand, synergy between agents can increase their total efficacy and improve pest control (Ansari *et al.*, 2008). Studies reveal synergistic interactions between entomopathogenic nematodes and fungi, and between nematodes and bacteria (Thurston *et al.*, 1994; Koppenhöfer *et al.*, 2002; Glare, 1994). Koppenhöfer *et al.* (2002) described synergistic interactions between the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Nematoda: Heterorhabditidae) with the insecticides imidacloprid and clothianidin in laboratory, greenhouse and field trials.

We studied the effectiveness of one species of the Trichogrammatidae family: *Trichogramma minutum* and CpGV against codling moth. We selected *T. minutum* because this indigenous species showed great potential to parasitize codling moth eggs in apple orchards in Quebec (Aubry, 2008). In the laboratory, we evaluated the toxicity of CpGV formulations on neonate larvae and we studied the effect of CpGV at different concentrations on *T. minutum*'s parasitism and emergence when sprayed on codling moth eggs. In orchard trials, we evaluated the mortality induced by each biocontrol agent to determine if their combined effect on codling moth mortality was additive, synergistic or antagonistic. Our working hypothesis was that the combined use of the two biocontrol agents would be additive because CpGV has a high specificity for *C. pomonella* and therefore would not affect parasitoids such as *T. minutum*.

MATERIALS AND METHODS

Field study site

Field experiments were completed at the IRDA (Institut de recherche et de développement en agroenvironnement) experimental orchard in Saint-Bruno-de-Montarville, Quebec, Canada (45°31'38''N, 73°20'31''W). Plots within this high-density apple orchard (cvs. Cortland, Empire, McIntosh, Honeycrisp) were placed in

a latin square disposition. We used 4 plots for each of the 4 cultivars, for a total of 16 plots. The distance between trees is 1.25 m and the distance between rows is 3.65 m. In 2006, our experimental plots consisted of one row of 10 consecutive 2-year old apple trees. In 2008, we extended our sampling experimental plots to include two adjacent rows of 15 consecutive 4-year old trees from 7 to 8 feet tall. No insecticides or fungicides were applied in our experimental plots for the duration of the study.

Organisms

Trichogramma minutum Riley

The *Trichogramma* wasps used for our mass releases were raised in rearing facilities at IRDA (Institut de recherche et développement en agroenvironnement) in Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada. The strain used was recovered from oblique-banded leafroller, *Choristoneura rosaceana* (Harr.) eggs in 2002, in an apple orchard in Quebec. *T. minutum* were fed a mix of distilled water and honey (50:50) and were raised in environmental chambers at 23°C, 60% RH and 16L:8D. Parasitoids were raised on Mediterranean flour moth eggs, *Ephesia kuehniella* Zeller, and parasitized eggs were glued on Para-bio® trichocards (Saint-Augustin-de-Desmaures, Quebec, Canada) with non-toxic glue for field releases. Each trichocard contained approximately 8000 *E. kuehniella* eggs, of which some 60% were parasitized by *T. minutum*. Counts of parasitized eggs were carried out weekly under the microscope to assess the parasitism rate of *T. minutum* on *E. kuehniella* eggs. The parasitoids were reared so that they hatched in two cohorts. The first cohort was synchronized to emerge one day after the trichocards were placed in the orchard and the second cohort, three days later.

Cydia pomonella L.

Codling moth adults were obtained from Okanagan-Kootenay Sterile Insect Release Program (OKSIR) rearing facilities in Osoyoos, British Columbia, Canada. Adults were sent by plane in petri dishes to our laboratory, where they were placed in incubators in the same conditions as the *Trichogramma* (see previous section). They were kept in plastic bags filled with air in groups of approximately 50 individuals and were fed a mix of distilled water and honey (50:50). Eggs (< 24-h old) were collected off the plastic bags cut into pieces (2 cm by 2 cm). In field studies, plastic pieces with sentinel eggs were stapled on the upper surface of apple tree leaves to allow sentinel eggs to monitor parasitism by *T. minutum*. Sentinel eggs were placed in a refrigerator at 3 °C for a maximum of four days until they were used on the field.

Cydia pomonella granulovirus (CpGV)

In summer 2006, Madex® (Andermatt Biocontrol®, Grossdietwil, Switzerland), a commercial formulation of CpGV, was used in our field experiments. The recommended rate (1X) is 100 ml/ha at a concentration of 3×10^{13} viral granules/L. Sugar was added in the formulation as a phagostimulant at a concentration of 0.5% m/v and powdered milk was added as a U.V. protector at a concentration of 0.35% m/v. In field studies, the viral suspension was applied on all foliage until runoff, using a small rolling engine-powered sprayer.

In 2008, as we were unable to obtain a federal permit to use Madex® due to registration issues, we used the commercially available formulation Virosoft CP4® (Biotepp inc., Mont Saint-Hilaire, Quebec). The recommended rate (1X) is 250 ml per hectare at a concentration of 4×10^{13} viral granules/L. In field studies, the suspension was applied with a backpack sprayer. No additives were added to the

formulation as recommended by the manufacturer. Both Madex® and Virosoft CP4® were applied after 6:00 p.m. to minimise deterioration of virus particles by U.V. radiations. Madex® and Virosoft CP4® contain the same strain of CpGV, but formulation adjuvants could vary between the products. For this reason, we did not compare both products together in statistical analyses.

Effect of CpGV formulations on larval survival

Laboratory experiments (2006)

Madex® was applied on 5 days-old codling moth eggs with a hand sprayer at 5 different concentrations: 1X (3×10^{13} viral bodies/ml), 10X, 100X, 0.01X and 0.10X. The control consisted in distilled water. The eggs were sprayed with a hand sprayer until all eggs were covered with liquid. The number of sprays required for full coverage varied from 5 to 6. Eggs were then allowed to dry in the laboratory on the plastic bag pieces where they were originally laid by codling moth females. When dry, the eggs were placed in petri dishes and incubated at 23°C, 60% RH and 16L:8D for two more days. After 7 days, the emerging larvae were transferred individually to 2-cm long glass bioassay tubes with an artificial diet, and survival was monitored daily for 14 days. Twelve neonate larvae were used per treatment for each replicate and three replicates were performed, for a total of 36 larvae per treatment.

Orchard trials (summer 2008)

Sentinel egg sets were stapled on the upper surface of leaves in the experimental orchard. A total of 40 egg sets were used in each treatment, with 25 to 50 individual eggs on each set. Virosoft CP4® was sprayed at recommended rate the day after egg sets were placed in the orchard. Sentinel eggs were removed three days later and placed in an environmental chamber at 23°C, 60% RH and 16L:8D. Neonate larvae emerging from sentinel eggs were individually placed in a 2-cm long glass

bioassay tube with fresh uncontaminated artificial diet, and then returned to the environmental chamber. Mortality was evaluated after 10 days and confirmed by gently hitting the larvae with a soft paintbrush. Dead larvae infected by CpGV liquified when touched by the paintbrush. For each treatment, 36 larvae were used.

Effect of CpGV formulations on parasitism by *T. minutum*

Laboratory experiments (2006)

Pieces of plastic bags with 10 freshly laid codling moth eggs were cut with scissors and glued on 8-cm long pieces of paper. The CpGV formulation was applied on the eggs with a hand sprayer at 5 different concentrations: 1X (3×10^{13} viral granules/L), 10X, 100X, 0.01X and 0.10X. The control consisted in distilled water. Eggs were then allowed to dry in the laboratory and each piece of paper with 10 eggs was placed in a 10-cm long bioassay tube. Mated *T. minutum* females ($n = 3$, < 24-h old) were then introduced in each tube and left for 48 hours in an environmental chamber at 23°C, 60% RH and 16L:8D. The females were then removed and the bioassay tubes were returned to the environmental chamber for 5 days after which parasitism was evaluated. Parasitized eggs turned black after 3 to 4 days. For each treatment, 15 replicates were performed.

Orchard trials (summer 2006)

Two sets of sentinel eggs were stapled on the upper surface of apple tree leaves at a three-day interval. Sentinel egg sets consisted in 10 to 15 codling moth eggs laid on a piece of plastic bag. One set of sentinel eggs was placed on each of the 10 trees in the experimental units at a height of approximately 1.50 m. One trichocard was placed in the middle of the row at a height of 1.50 m in each experimental unit.

The two *T. minutum* cohorts emerged with peaks of emergence occurring while the sentinel eggs were present in the trees. Madex® was sprayed at the recommended rate so that the first set of sentinel eggs was not exposed to the virus prior to parasitism by *T. minutum* and the second set was covered with virus prior to parasitism. The sentinel eggs were removed three days after they were stapled on leaves and then placed in 10-ml plastic cups for incubation in the laboratory at 23°C, 60% RH and 16L:8D. Five days after incubation, the sentinel eggs were examined under the microscope to assess the incidence of parasitism, calculated as the number of parasitized sentinel egg sets containing at least one parasitized egg on the total number of sentinel egg sets. Parasitized eggs were then kept in the incubator until the emergence of adults to evaluate the percentage of adult emergence from sentinel eggs. Emergence of adults from sentinel eggs was also monitored. The whole experience was repeated twice, first on the week of August 8th and then on the week of August 22th.

Orchard trials (summer 2008)

In 2008, sentinel egg sets consisted in 25 to 50 eggs. We used more eggs to compensate for observed losses presumably caused by rain and wind in 2006. One set of sentinel eggs was placed at a height of approximately 1.50 m every three trees in two rows of 15 trees, for a total of 10 trees with sentinel eggs in each experimental unit. Two trichocards were placed at a height of 1.50 m in each experimental unit, one on the 5th tree of the first row and one on the 11th tree of the second row. Virosoft CP4® was sprayed at the recommended rate such as all sentinel eggs were covered by the virus prior to parasitism by *T. minutum*. Sentinel eggs were stapled on leaves at a height of 1.50 m and removed three days later. Sentinel eggs were placed in 10-ml plastic cups and in an environmental chamber at 23°C, 60% RH and 16L:8D. The incidence of parasitism was assessed as described above. The whole experience was repeated twice, first on the week of July 10th and then on the week of July 24th.

Combined mortality of C. pomonella by T. minutum and CpGV in the orchard

Four treatments were compared in the experimental apple orchard in 2006 and in 2008:

- 1) The “virus treatment” consisted in one treatment of CpGV (Madex® in 2006 and Virosoft CP4® in 2008) at the recommended rate.
- 2) The “trichos treatment” consisted in one mass release of *T. minutum* at a rate of 1.6 million/ha.
- 3) The “trichos + virus” treatment was the combination of the virus treatment and the trichos treatment, at the same concentrations as above.
- 4) A control was included, without any chemical insecticides nor biocontrol agent applied.

There were two release points of *T. minutum* per experimental unit. Releases were performed using trichocards placed on two rows, one in the upper-middle part of the row and the other on the lower-middle part of the row. Two cohorts of *T. minutum* emerged from trichocards, with 50% of adults emerging in the first cohort and 50% in the second. First cohort adults emerged one day after they were placed on trees and the second, three days later. Four replicates of each treatment were executed in a completely randomized block design. The experiment was repeated twice in 2006 (weeks of August 7th and August 21st) and twice in 2008 (weeks of July 10th and July 24th). In all experimental plots, the incidence of parasitism was assessed by using sentinel eggs, and larval mortality was monitored as described previously. Egg mortality due to parasitism was added to larval mortality to express the combined mortality of both biocontrol agents.

We used Benz (1971) equations to determine the nature of interactions between *T. minutum* and CpGV. If the two biocontrol agents did not act in synergy or antagonism, their combined mortality would be described as: $M_{1+2} = M_1 + M_2$ (1-

$M_1/100$), M being the mortality in percentage and 1 and 2 biocontrol agents. The combined effect of the two agents would be additive. If synergy was present, the two components would produce a stronger effect than the sum of the single effects: $M_{1+2} > M_1 + M_2$ and if antagonism was present, it would be the opposite: $M_{1+2} < M_1 + M_2$. We used the first equation to calculate the theoretical expected combined mortality and to compare it with the observed mortality.

Statistical analyses

ANOVAs followed by Tukey-Kramer tests were used for most analyses after the data was transformed with angular transformation to meet normality conditions. To compare the observed combined mortality of CpGV and *T. minutum* with the expected combined mortality, a Student t test was used. When a normal distribution of data sets could not be obtained by transformations, non-parametric Kruskal-Wallis test was used. All analyses were conducted using JMP 7 software (SAS Institute, 2002).

RESULTS

Effect of CpGV on larval survival

Laboratory experiments

The presence of CpGV on codling moth eggs greatly affected the mortality rate of the emerging larvae (Fig. 1.1). While mortality reached 25% in the control after 15 days, 100% mortality was recorded at 100X and 97.2% at 10X. At the recommended rate, 88.9% of all larvae died after 15 days, 72% at 0.10X and 63.9% at 0.01X (Fig. 1.1). For all treatments, over 90% of the mortality occurred between day 0 and day 7, mostly between days 3 and 4 for most concentrations. After day 9, the mortality had reached its maximum in all treatments and remained constant until the 14th day.

Orchard trials (summer 2008)

Larval mortality was three times higher in the virus treatment and in the trichos + virus treatment than in the control and the trichos treatment (Kruskal-Wallis; $X^2 = 124.12$, $P < 0.0001$). After 10 days of development on the artificial diet, $10.7 \pm 4.1\%$ of the first instar larvae in the control died, $12.3 \pm 3.7\%$ in the trichos treatment, $34.0 \pm 5.2\%$ in the virus treatment and $38.9 \pm 5.7\%$ in the trichos + virus treatment.

Effect of CpGV on parasitism by T. minutum

Laboratory experiments

The presence of CpGV on the surface of codling moth eggs reduced the parasitism rate by *T. minutum* females in the laboratory (Fig. 1.2a). The parasitism rate decreased with the increase of the viral formulation concentration: 63.3% for control, 36.2% for CpGV 0.01X, 24.6% for CpGV 1X, and 17.5% for CpGV 100X (Fig. 1.2a). The parasitism rate was 3.7 times higher in the control than at CpGV 100X. There was a significant difference between the control and all the CpGV treatments (ANOVA, $F = 12,20$, $P < 0.0001$). Milk and sugar did not affect the parasitism rate compared to the control. The number of *T. minutum* offspring per parasitized codling moth egg was significantly higher in the control (2.41 ± 0.25 individuals/egg) than at 1X (1.40 ± 0.36 individuals/egg) or at 100X (1.33 ± 0.36 individuals/egg) (Fig. 1.2b). The viral formulation did not decrease the number of emerging adults when applied at 0.01X. All *T. minutum* females were alive after 48 hours in the bioassay tubes. There were no significant differences in sex ratios between treatments.

Orchard trials (summer 2006)

There was a significant difference in the incidence of parasitism between the control and the trichos + virus treatment for the sentinel eggs not exposed to virus before parasitism (ANOVA, $F = 5.29$, $P = 0.006$) and for the eggs exposed to virus before parasitism (ANOVA, $F = 5.52$, $P = 0.044$) (Fig. 1.3a, Fig. 1.3b). Parasitism was 3 to 3.5 times higher in the trichos + virus treatment than in the control. No

significant difference in the incidence of parasitism was observed between the control and the trichos treatment. There was no significant difference for *T. minutum* emergence from parasitized codling moth eggs exposed to CpGV or not exposed to CpGV prior to parasitism. The percentage of emergence was high in all cases, ranging between 91 and 94%.

Summer field trials 2008

The incidence of parasitism of codling moth eggs was relatively low in all treatments. The highest parasitism rate observed in the trichos + virus treatment ($19.8 \pm 3.5\%$) was significantly higher than the lowest parasitism rate observed in the virus treatment ($9.2 \pm 2.4\%$) (Kruskal-Wallis: $X^2 = 46.52$, $P = 0.0423$). The incidence of parasitism was similar between the control and the trichos treatment ($12.4 \pm 3.0\%$ compared to $13.2 \pm 2.6\%$ respectively).

*Combined mortality of *C. pomonella* by *T. minutum* and CpGV in the orchard*

The combined mortality of *C. pomonella* eggs and larvae was calculated for each treatment in summer 2006 and 2008. In 2006, the combined mortality in trichos + virus treatment ($79.1 \pm 12.3\%$) was 1.85 times higher and statistically different from the control ($42.7 \pm 8.3\%$) (ANOVA, $F = 4.05$, $P = 0.0201$) (Fig. 1.4a). The combined mortality in the virus treatment was not equal to the one in the trichos treatment (66.8 and 54.8% respectively) (Fig. 1.4a). In 2008, the mortality in the control ($33.2 \pm 7.2\%$) was significantly different from the mortality in the trichos + virus treatment ($80.2 \pm 11.2\%$) (ANOVA, $F = 5.21$, $P = 0.003$) (Fig. 1.4b). There was no significant difference for the mortality between the trichos treatment, the virus treatment and the trichos + virus treatment. (Fig. 1.4b).

In 2006, the expected theoretical combined mortality ($85.31 \pm 8.36\%$) was higher than the observed combined mortality ($79.12 \pm 12.32\%$), but the difference was not considered statistically significant (Student t test, $F = 0.5815$, $P = 0.4882$) (Fig. 1.5). In 2008, the expected theoretical combined mortality was lower than the observed combined mortality ($75.05 \pm 9.01\%$ and $80.15 \pm 11.21\%$ respectively) and the difference was not considered statistically significant (Student t test, $F = 0.3810$, $P = 0.5575$) (Fig. 1.5).

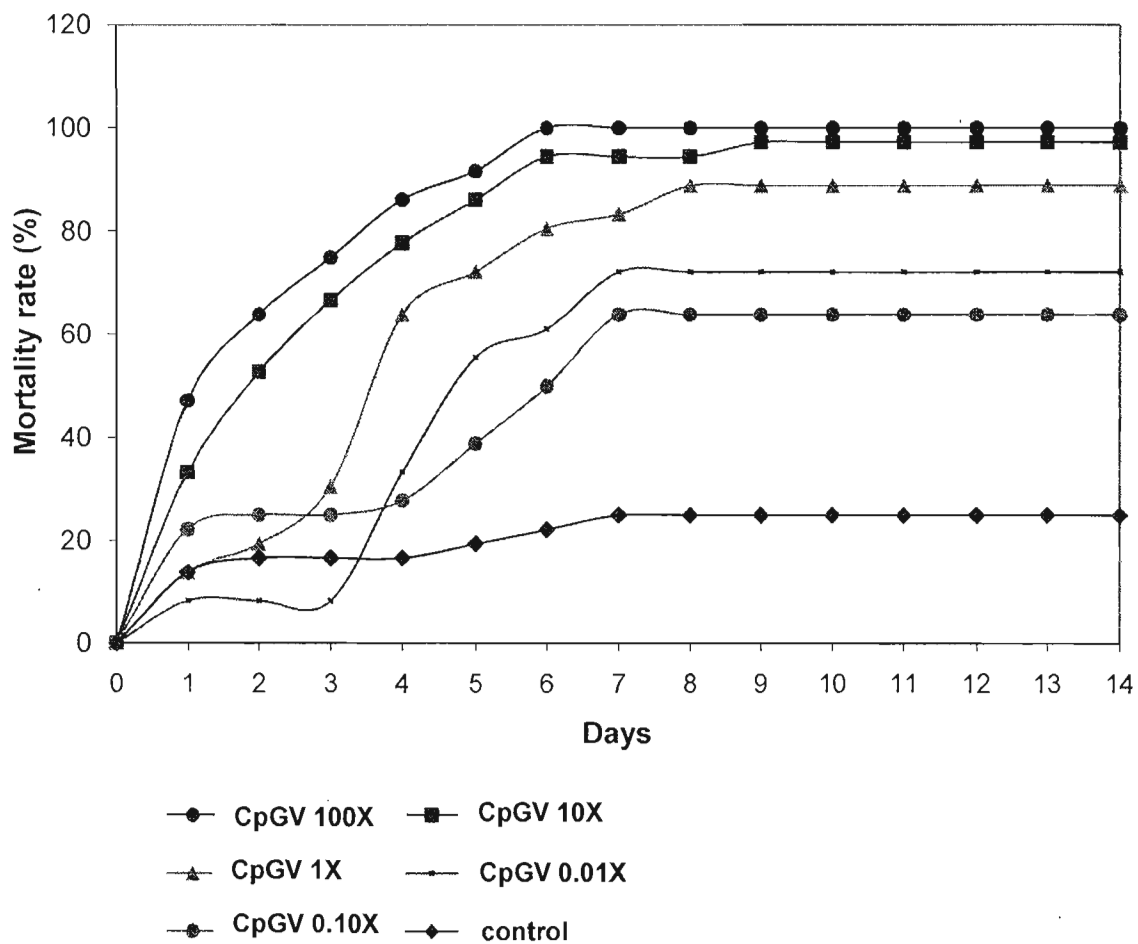
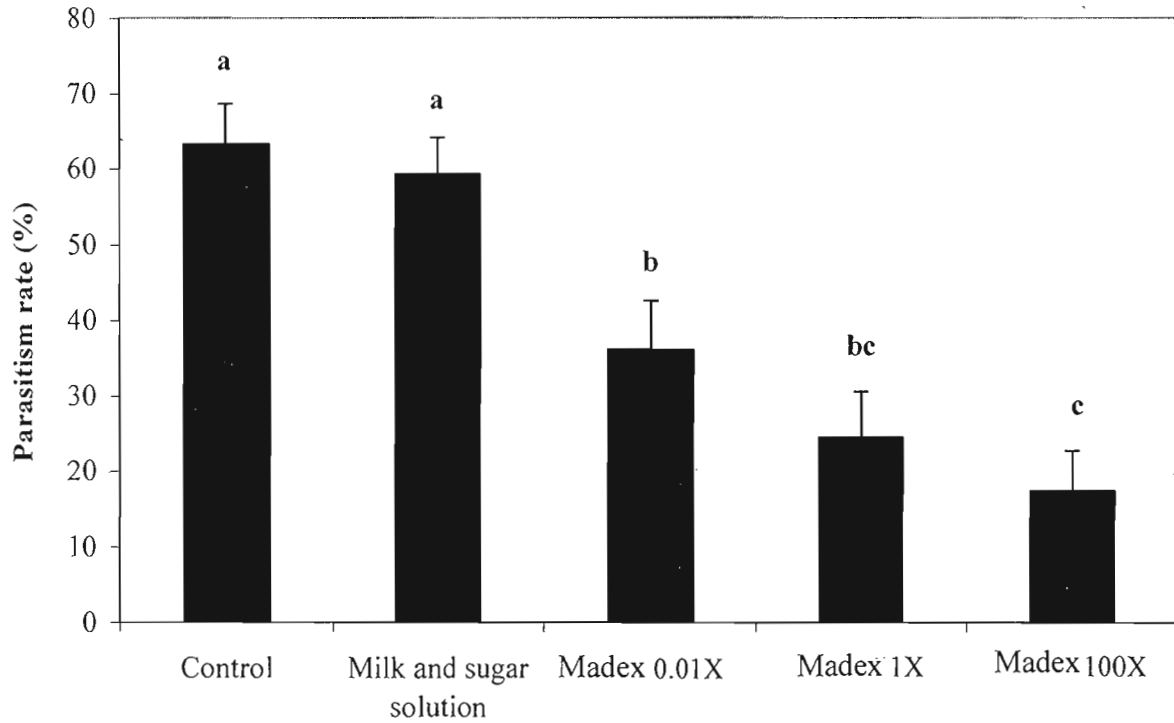


Figure 1.1. Mortality rate of codling moth larvae in the laboratory over time at different concentrations of CpGV formulation applied on eggs 2 days before larval emergence. CpGV 1X is the recommended rate, 0.01X is 1% of the recommended rate and 100X is 100 times more concentrated.

A.

39



B.

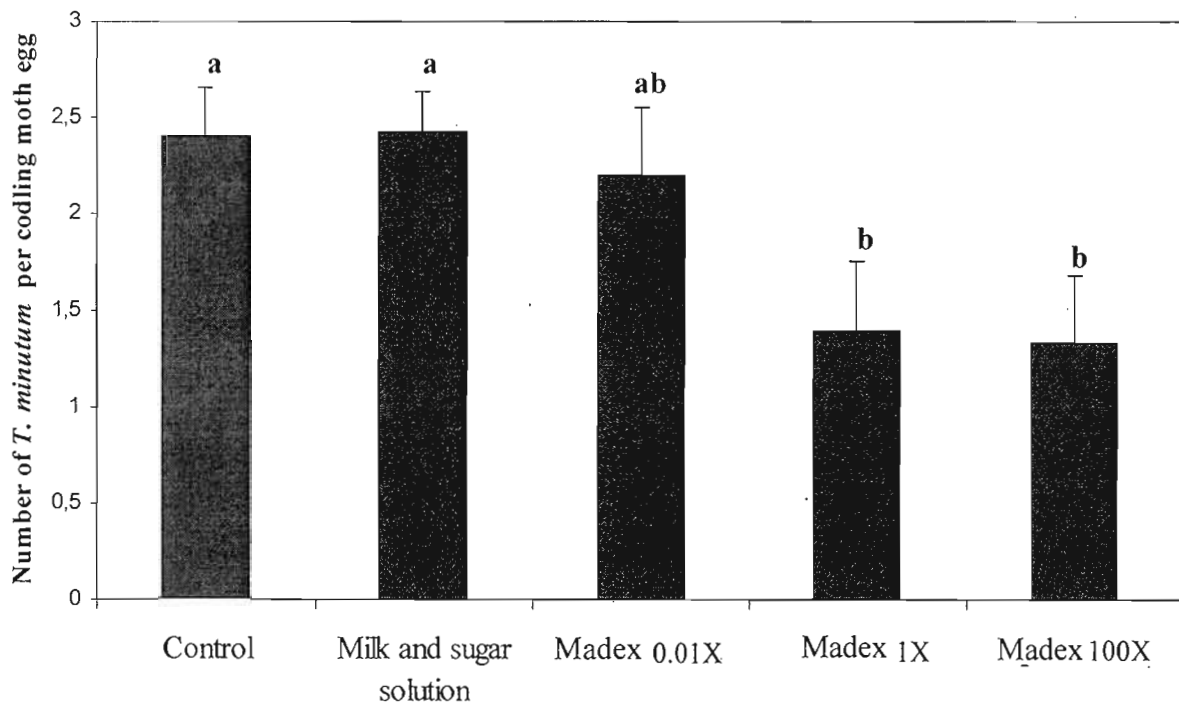


Figure 1.2. a) Parasitism rate of codling moth eggs by *T. minutum* \pm SE in the laboratory, by treatment b) Average number of *T. minutum* offspring emerged per parasitized codling moth egg \pm SE in the laboratory, by treatment (ANOVA, $P < 0.05$. CpGV 1X is the recommended rate, 0.01X is 1% of the recommended rate and 100X is 100 times more concentrated.

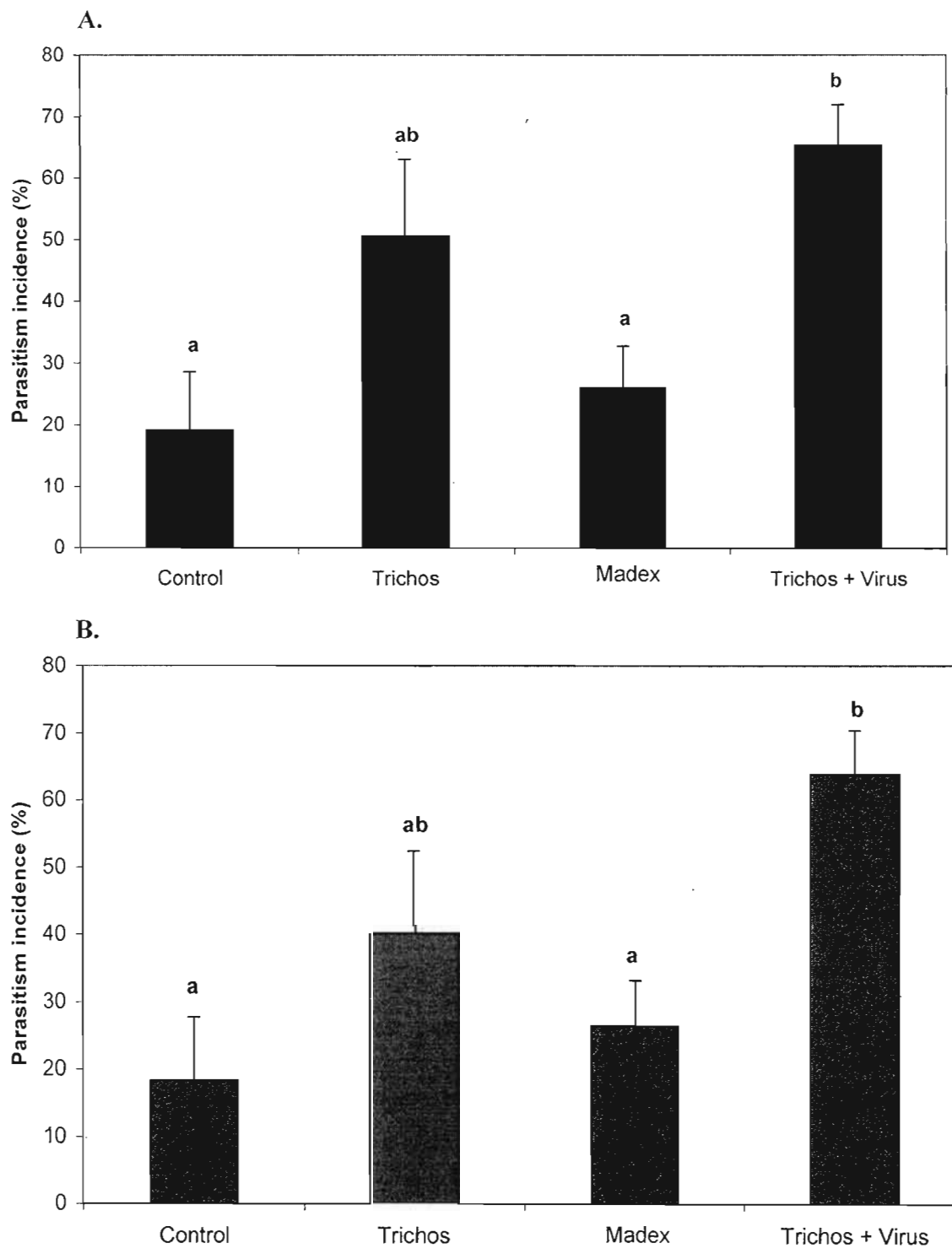


Figure 1.3. Incidence of parasitism \pm SE by *T. minutum* on codling moth sentinel eggs in the experimental apple orchard in 2006. a) Serie 1: sentinel eggs not exposed to virus prior to parasitism and b) Serie 2: sentinel eggs exposed to virus prior to parasitism (ANOVA, $P < 0.05$).

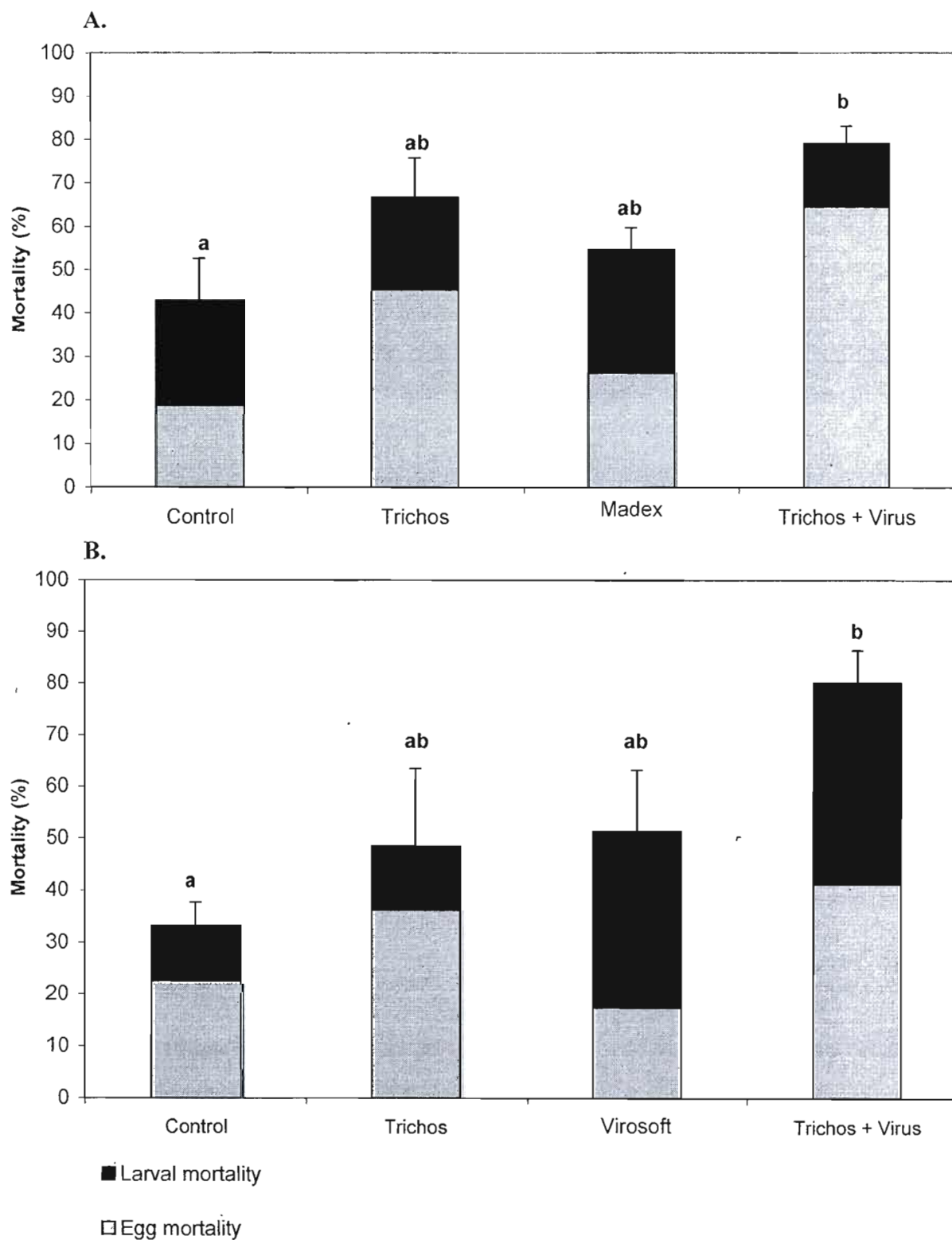


Figure 1.4. Combined mortality \pm SE of *T. minutum* on eggs and CpGV on larvae in all treatments in the experimental orchard in a) summer 2006 and b) summer 2008 (ANOVA, $P < 0.05$).

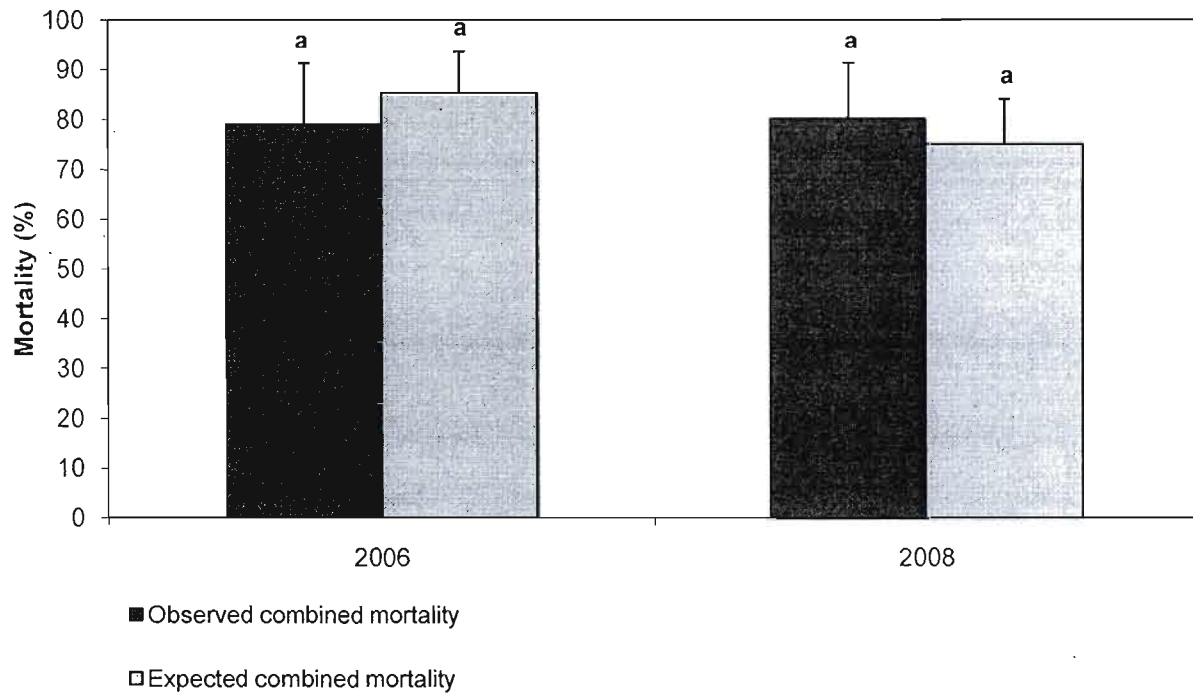


Figure 1.5. Combined observed mortality of codling moth \pm SE, including egg and larval mortality in experimental orchard compared to expected theoretical combined mortality according to Benz equation: $M_{1+2} = M_1 + M_2 (1-M_1/100)$ (Student t test, $P < 0.05$). Statistical analyses were executed separately for 2006 and 2008.

DISCUSSION

Our hypothesis was that the combined use of the two biocontrol agents would be additive, and our results confirm our hypothesis. As our statistical analyses revealed no difference between the expected combined mortality and the observed combined mortality, we can assume that no antagonistic or synergistic interaction changed the combined efficiency of the two biocontrol agents. Orchard trials in both 2006 and 2008 indicate that the incidence of parasitism on the sentinel eggs was high in the trichos + virus treatment even if the eggs were sprayed with CpGV prior to parasitism by *T. minutum* females.

The presence of the virus on the surface of the eggs did not reduce the parasitism of *T. minutum* in the orchard, while in the laboratory, the presence of CpGV formulation decreased the parasitism rate of females. Different environmental conditions and UV inactivation of CpGV by the sun could explain the difference between laboratory experiments and orchard trials. In average, *T. minutum* females were probably in contact with less viral bodies host eggs on apple leaves than on those in glass tubes, especially after two days, as it is known that half lives on foliage varies between 2 and 3 days (Jaques *et al.*, 1987).

The incidence of parasitism were high in the control and in the virus treatment where no *T. minutum* releases were performed, especially if we presume that codling moth sentinel eggs were parasitized by the indigenous population of *Trichogramma*. Since chemical insecticides and fungicides were used in most parts of the experimental orchard (excluding our study area), the indigenous population of *Trichogramma* was probably low as the literature reveals detrimental effects of pesticides on the Trichogrammatidae family, such as mortality, lower parasitism,

lower survival time and less progeny (Grützmacher *et al.*, 2004; Vieira *et al.*, 2001; Brunner *et al.*, 2001). We assume that most sentinel eggs were parasitized by *T. minutum* females emerging from the trichocards in treated plots. Considering the high levels of parasitism in untreated plots in our study, we hypothesize that *T. minutum* could have a larger dispersal range than expected. In orchard trials in Quebec, Aubry (2008) evaluated that a distance of 50 meters between *T. minutum* release plots and untreated plots was enough to avoid high contamination of parasitoids in untreated plots. Another study on the dispersal of *Trichogramma* indicated a dispersal range of 20 to 70 meters (McDougall and Mills, 1997). In our study, the distance between treated and untreated plots was 50 m and our results suggest that *Trichogramma* were able to cross such a distance, but this hypothesis requires confirmation by further studies.

In the orchard, high mortality rates in the emerging larvae from sentinel eggs suggest that a lethal dose of CpGV was still present on eggs when they were removed from the leaves three days after they were placed there. Mortality rates varied greatly between 2006 and 2008. In 2008, the percentage of larval mortality in the trichos + virus treatment was 2.7 times higher than in 2006. Many factors could explain high variations in mortality caused by CpGV. First, rain could have washed out some of the virus formulation on the codling moth sentinel eggs. In 2006, a moderate rainfall occurred during our field trials and could have washed out some of the CpGV. Another factor known to reduce the efficiency of the virus are U.V. solar radiations. CpGV is highly sensitive to U.V.s and many attempts have been made to reduce its degradation under sunny conditions by adding U.V. protectants and other adjuvants (Jacques *et al.*, 1987; Lacey and Arthurs, 2005). Codling moth control with CpGV formulations can greatly vary from year to year, but it can also be the case with conventional insecticides as they are water-soluble and wash out easily with rain.

In the laboratory, we tested the lethal effect of CpGV on codling moth larvae at different concentrations and we evaluated the effect of the virus on *T. minutum* parasitism and on the emergence of its progeny from parasitized eggs. The laboratory experiments clearly showed that CpGV was very detrimental to *C. pomonella*, killing most first instar codling moth larvae even at low concentrations. Even at lower concentrations, CpGV killed most larvae after 7 days. Those results are consistent with the literature, since CpGV's high virulence has been proved decades ago (Sheppard and Stairs, 1976; Tanada and Leutenegger, 1968). But one fact still remained unclear in the literature: can emerging codling moth larvae die from ingesting CpGV from the egg chorion only? Ballard *et al.* (2000b) proved that larvae could ingest enough virus particles on either treated foliage or fruit surfaces, but did not mention the egg chorion. Glen and Clark (1985) concluded that larvae could not acquire a lethal dose of virus from sprayed eggs. Based on our bioassay results, we can state that the presence of CpGV on codling moth eggs was enough to induce a high mortality rate in emerging larvae under laboratory conditions.

In further laboratory experiments, we studied the effect of CpGV on *T. minutum* parasitism and offspring emergence. Considered as a granulovirus with a high specificity for a few species of Tortricidae, CpGV was not known to have a negative impact on parasitoids (Charmillot, 1995). But since our study was the first in which *T. minutum* was used simultaneously with CpGV, no other work examined interactions between these two biocontrol agents. Our results showed that the parasitism rate of *T. minutum* females decreased when CpGV was sprayed on sentinel eggs prior to parasitism. The parasitism rate was 2.6 times lower at the recommended rate (1X) compared to the control.

Based on our lab results, we believe that *T. minutum* females detected the presence of virus or adjuvants found in formulations on the host eggs and that they considered these eggs as low quality hosts. *Trichogramma* are known to be able to evaluate the quality of host eggs, the size, the age, the color and the host species (Monje *et al.*, 1999; Lobdel *et al.*, 2005), but further testing using untreated and CpGV-treated codling moth eggs could be conducted to investigate this idea. Our laboratory results could have led to the conclusion that CpGV and *T. minutum* should not be used together, but our results in orchard trials showed, on the opposite, no adverse effect of the virus on the parasitism rates.

After the codling moths were parasitized by *T. minutum*, eggs were incubated to evaluate the number of offspring emerging from each parasitized egg. In 2008, Aubry revealed that *T. minutum* were able to lay 1 to 3 eggs in codling moth eggs in laboratory experiments. In our bioassay, an average of 2.41 adults emerged per parasitized egg in the control and 1.40 adults per parasitized egg when codling moths had been previously sprayed with CpGV. This significant difference could be due to the behavior of *T. minutum* females in the presence of CpGV, but as we did not directly observe the parasitism behavior, further studies are needed to examine this issue. Another alternative explanation could be that *T. minutum* females deposited eggs inside host eggs but larvae failed to develop due to CpGV formulation. Real time microscope observations would be needed to address that question.

CONCLUSION

The results obtained in our laboratory experiments were different from the ones obtained in the experimental apple orchard. In the laboratory experiments, we observed a negative effect of CpGV on *T. minutum* parasitism and a reduction of

offspring emerging from CpGV-treated host eggs. But in the orchard trials, there was no significant difference for the parasitism incidence between the sentinel eggs previously sprayed with CpGV and the unsprayed eggs. Parasitoids behavior might be different in glass tubes in a controlled environment than in an experimental orchard, thus prudence is required in interpreting laboratory results. Our results in the field suggest an additive effect of *T. minutum* and CpGV on the combined mortality of *C. pomonella*. High levels of mortality in the orchard trials confirm that using CpGV and *T. minutum* together has enough potential to become economically acceptable to apple growers in Quebec and the rest of the world. The costs of biocontrol products are still higher than conventional pesticides, but mass production of biocontrol agents in the future could make biocontrol become more affordable.

According to our results, *T. minutum* are able to parasitize high levels of codling moth eggs, even in the presence of CpGV in the apple trees. Since CpGV and *T. minutum* are additive, it is interesting to use both at the same time because if one biocontrol agent fails, the other can compensate and increase the chances of success throughout the growing season. Our study was the first to examine interactions between *T. minutum* and CpGV, and even if more research is required to fully understand this system, these agents used in combination hold considerable potential and could be applied to good advantage in both biological management and integrated pest management.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Conseil pour le développement de l'agriculture du Québec (CDAQ) and Nova Scotia's ACAAF Council for funding. We thank Franz Vanoosthuyze and Francine Pelletier for help on the field and for assistance in result

analyses. We are grateful to Anik P. Leboeuf, Nicolas Marie, IRDA's research team and UQAM students who participated in the project for their help on the field. We finally thank Jocelyn Tardif at the IRDA experimental orchard for great advice and collaboration during the experiments. We also thank M. Martin Andermatt for his support in the project and for supplying the Madex® formulation.

CHAPTER II

COMPARISON OF TWO BIOLOGICAL CONTROL STRATEGIES USING *TRICHOGRAMMA MINUTUM* AND CODLING MOTH GRANULOVIRUS TO CONTROL *CYDIA POMONELLA* IN COMMERCIAL APPLE ORCHARDS

MORISSET, Olivier¹, TODOROVA, Silvia², LUCAS, Éric¹, CHOUINARD, Gérald³, and CORMIER, Daniel³

¹ Département des sciences biologiques, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888, Succursale Centre-ville, Montréal (Québec) H3C 3P8

² Anatis Bioprotection inc., 278, rang Saint-André, Saint-Jacques-le-Mineur (Québec) J0J 1Z0

³ Institut de recherche et de développement en agroenvironnement, 3300, rue Sicotte, C.P. 480, Saint-Hyacinthe (Québec) J2S 7B8

ABSTRACT

The codling moth, *Cydia pomonella* L., is a major pest of apple orchards throughout the world. Broad spectrum chemical insecticides are generally used to control populations. To limit the impact of pesticides on the environment, human health and auxiliary fauna, biocontrol using multiple agents can be used as an alternative method against codling moth. The objective of our study was to develop and evaluate the efficiency of two new biological control strategies using two biocontrol agents in combination against *C. pomonella*. We combined the use of CpGV, a specific granulovirus affecting codling moth larvae and mass releases of *Trichogramma minutum*, an indigenous egg parasitoid of the codling moth. We compared two timing strategies: the simultaneous strategy, in which the first peak of emergence of the parasitoids occurred the day the virus was sprayed, and the successive strategy, in which the first peak of emergence of the parasitoids occurred three days after the virus application. We compared these two timing strategies because interactions occurring between *T. minutum* and CpGV could affect the overall efficiency of the two biocontrol strategies. *Trichogramma* were released at a density of 1.6 millions per hectare and CpGV was used at recommended dose (1×10^{13} viral particles per hectare). There was no significant difference between any treatments for mid-season and harvest damage on apples. The parasitism rate of codling moth eggs was not significantly different between the two strategies. There was significantly less diapausing larvae at the end of the summer in plots under biocontrol strategies compared to the control and the conventional management. The experiment was conducted in four commercial orchards in the Monteregian region in Quebec in 2008.

Keywords: *Cydia pomonella*, CpGV, *Trichogramma minutum*, biological control, apple orchards, virus, parasitoids.

INTRODUCTION

The codling moth, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae), is a major tree fruit pest attacking apples, as well as peaches, pears and nuts in many countries (Barnes *et al.*, 1992; Lacey *et al.*, 2006). Larvae of this Tortricidae penetrate the fruit within hours following hatching and remains inside the fruit until the last instar (Lacey *et al.*, 2006). The fifth instar larvae leave the fallen fruit on the ground to pupate and emerge as second generation adults or to spin their cocoon under tree bark to overwinter (Arthurs *et al.*, 2005). Currently, chemical insecticides are the most commonly used method to control codling moths. In conventional apple production, organophosphate insecticides, neonicotinoids, and more recently, insect growth regulators such as novaluron (Rimon®), methoxyfenozide (Intrepid®) and chlorantraniliprole (Altacor®) are used to control codling moth infestations (Makee, 2005; Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs of Ontario, 2009). Organophosphates and neonicotinoids are effective in controlling codling moths, but these broad-spectrum pesticides have negative impacts on pollinators, natural enemies and the environment (Jaques *et al.*, 1994).

Many attempts were made to develop biological control strategies to control codling moths, but most obtained unsatisfying results (Krupke *et al.*, 2002; Aubry, 2008). In the U.S.A., mineral oil applications did not reduce codling moth damage to an acceptable level (Fernandez *et al.*, 2006). Sprayings of *Bacillus thuringiensis* Berliner against codling moths was successful in the laboratory, but not efficient on the field (Andermatt *et al.*, 1988). Releases of *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) combined with pheromone disruption and mass releases of sterile codling moths was able to reduce the internal damages by codling moths on apples, but not to reduce superficial damages (Charmillot, 1995; Cossentine et Jensen, 2000 ; Thomson *et al.*, 2001).

Until now, parasitoids of the genus *Trichogramma* (Diptera: Trichogrammatidae) and codling moth granulosis virus (CpGV) are the two biological agents that have shown the most promising potential for the control of codling moths. Wasps of the genus *Trichogramma* are the most commonly used parasitoids in biological control (Stinner, 1997). They are generalist oophagous parasitoids, but have a preference for Lepidopteran eggs (Pinto et Stouthamer, 1994). Mass releases of *Trichogramma* wasps led to 50 % parasitized codling moth eggs and reduced codling moth damage by 60% in Californian apple orchards (Mills *et al.*, 2000; Mills et Daane, 2005).

Commonly used in the U.S.A. and in Europe in biological apple production, CpGV was first isolated in Mexico 45 years ago and has been extensively studied since then (Tanada, 1964). In laboratory studies, CpGV was very specific as only six species of Tortricidae, sub-family Olethreutinae, were infected by the virus (Charmillot, 1989). Larvae have to ingest viral particles to become infected. CpGV applications on the field target first instar larvae, since all other instars are unreachable because they live inside the fruit. In many studies, CpGV significantly reduced *C. pomonella* population and damage levels on apples in the U.S.A. (Jaques *et al.*, 1987; Arthurs et Lacey, 2004). CpGV is also considered safe for human health and auxiliary fauna (Arthurs *et al.*, 2007).

But even if CpGV and *Trichogramma* releases showed a great potential for biocontrol of codling moth, results vary with environmental conditions as CpGV quickly degrades under sun radiation (Arthurs *et al.*, 2006) and *Trichogramma* are less active under cold temperatures (Pak et Van Heiningen, 1985) and under rainy conditions (Fournier et Boivin, 2000). To increase the efficiency of biocontrol against the codling moth, we used *Trichogramma* releases and CpGV applications in the present study to target both eggs and larvae of this apple pest.

When using many biocontrol agents, application timing of each agent has to be taken into consideration to optimize the overall efficiency. The analysis of 31 papers about augmentative biocontrol (mass releases) revealed that the timing and the method of applications were significant factors impacting the effectiveness of biological control, even more than the release rate (Crowder, 2007). In the first chapter, we found that *T. minutum* and CpGV had an additive effect on the mortality of the codling moth when they were used together.

The objective of this study was to develop and compare the efficiency of two biocontrol strategies using both *T. minutum* and CpGV in conventional apple production. In the first strategy (simultaneous strategy), the first peak of emergence of *Trichogramma* females occurred the same day the virus was sprayed. In the second strategy (successive strategy), the first peak of emergence of *Trichogramma* females occurred three days after the virus was sprayed.

Our first hypothesis is that the successive strategy will be more successful than the simultaneous strategy for the control of codling moths since the possibility of a negative interaction between CpGV and *T. minutum* is reduced in the successive strategy. Our second hypothesis is that biological control using both *T. minutum* and CpGV can decrease codling moth damage to a level similar to conventional management.

MATERIALS AND METHODS

Study sites

This study was conducted in four commercial apple orchards in Québec, Canada. Two orchards were located in Franklin, Quebec, Canada (45° 02' N, 73° 55' W) and two in Rougemont, Quebec, Canada (45° 26' N, 73° 03' W). Experiments

were carried out in high density (420 - 1020 trees/ha) plots consisting of semi-dwarf McIntosh trees.

Biological material

Cydia pomonella L.

Codling moths (*C. pomonella*) were air shipped from Okanagan Sterile Insect Release Facility (OKSIR) facilities in Osoyoos in the Okanagan Valley, British Columbia, Canada. Upon reception, they were placed in plastic bags in groups of approximately 50 individuals. They were fed with honey diluted with water (50:50) and placed in a growth chamber at 23°C, 60% RH and 16L:8D. Adults were transferred in new plastic bags every day and eggs laid were kept in a refrigerator at 4°C for use in the field within the next 5 days. Codling moths eggs were laid directly on plastic bags and pieces with 20 to 40 eggs were cut with scissors to use as sentinel eggs in the orchards.

Trichogramma minutum Riley

Trichogramma minutum wasps used for the two first mass releases in the apple orchards were obtained from rearings at the Institut de recherche et développement en agroenvironnement (IRDA) in Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada. The strain used originates from an apple orchard in the Monteregian region (43° 23' 24.4''N, 73° 6' 4.6'' W) and was selected among others for its high parasitism capacity (IRDA, unpublished). *Trichogramma* were reared on sterilized *Ephestia kuehniella* Zeller eggs at 23°C, 60% RH and 16L:8D. Parasitized eggs were glued with non toxic glue on trichocards made of waterproof cardboard. Trichocards were made of a cardboard piece folded in two (3 inches by 3 inches once folded) and stapled at both sides, with openings at each side of the staples to allow wasps to get

out when they hatch. Each trichocard contained approximately 8100 *E. kuehniella* eggs parasitized by *T. minutum*. They were attached to apple tree branches with paper clips. *Trichogramma* were reared in a way that two cohorts were present on each trichocard. The first cohort emerged one day after trichocards were placed in trees and the second cohort emerged three days after trichocards were placed on trees. 50% of the eggs were intended to emerge as the first cohort and 50%, as the second cohort. Trichocards were placed every five to ten trees to make sure that *Trichogramma* disseminated within the treated plots. As it had not been possible to rear enough *T. minutum* for the third trichogramma release because of unexpected low parasitism rates in the rearings, we obtained *T. minutum* from a commercial rearing facility (Beneficial Insectary, Guelph, Ontario) for the last release. We received them as fresh parasitized *E. kuehniella* eggs.

Cydia pomonella granulovirus (CpGV).

The formulated CpGV (Virosoft CP4® from Biotepp Inc., Mont-Saint-Hilaire, Canada) was kept in the refrigerator at 4°C until its first use and between each uses. It was applied at the recommended rate of 100 ml/ha (1×10^{13} virions/ha) with a conventional fruit tree sprayer after 6:00 pm to avoid UV degradation. It was not applied on rainy days.

Experimental treatments

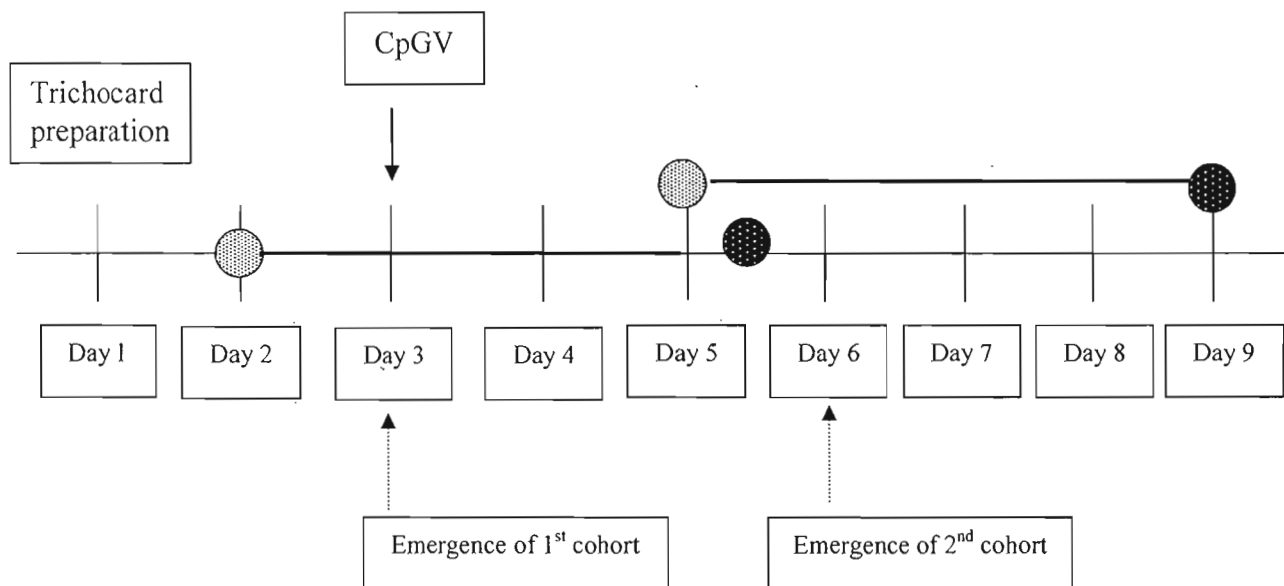
There were four treatments in each orchard: 1) the control, in which no specific insecticide treatment were executed against *C. pomonella*, 2) the conventional management, with specific insecticide treatments (Guthion®, Zolone® or Calypso®) against *C. pomonella* when more than 50 codling moth males were caught in the Multiplier I pheromone trap (the economic threshold), 3) the simultaneous strategy, in which the first cohort of *T. minutum* emerged the same day

as the CpGV application and the second cohort emerged three days later, and 4) the successive strategy, in which the first cohort of *T. minutum* emerged three days after the CpGV application and the second cohort emerged three days later.

In both the simultaneous strategy and the successive strategy, the same quantity of CpGV was applied and the same number of *Trichogramma* were released in the orchard. The only difference between the two biological control strategies was the timing of the release of *Trichogramma* (Fig. 2.1). The conventional management slightly varied between orchards because treatments against codling moths were made according to producers' decisions. In Quebec, apple growers generally use insecticides after 50 codling moth males (cumulative catches) are caught in one Multipher-I® pheromone trap over time (Chouinard, 2001). Organophosphates such as phosmet (Imidan®), azinphos-methyl (Guthion®) and phosalone (Zolone®) were mostly used, but the neonicotinoid thiacloprid (Calypso®) was also used to a lesser extend. No chemical insecticides were applied in the study plots during the experiment, except for the conventional production plots. Fungicides and acaricides were not applied in the experimental plots when there was an emergence of *T. minutum*

Each plot was approximately 0.7 hectare, except for the control plot that was 0.5 hectare to avoid excessive apple lost for growers in case of an infestation of codling moths. All plots were separated from each other by 50 meters. In the two biocontrol strategies, three sprayings of CpGV and three mass releases of *Trichogramma* were done. The two first releases of *T. minutum* and virus sprayings targeted the first generation of eggs and larvae of codling moths on the weeks of June the 16th and June the 30th. The third spraying and release aimed the second generation of codling moths on the week of July the 28th.

Simultaneous strategy



Successive strategy

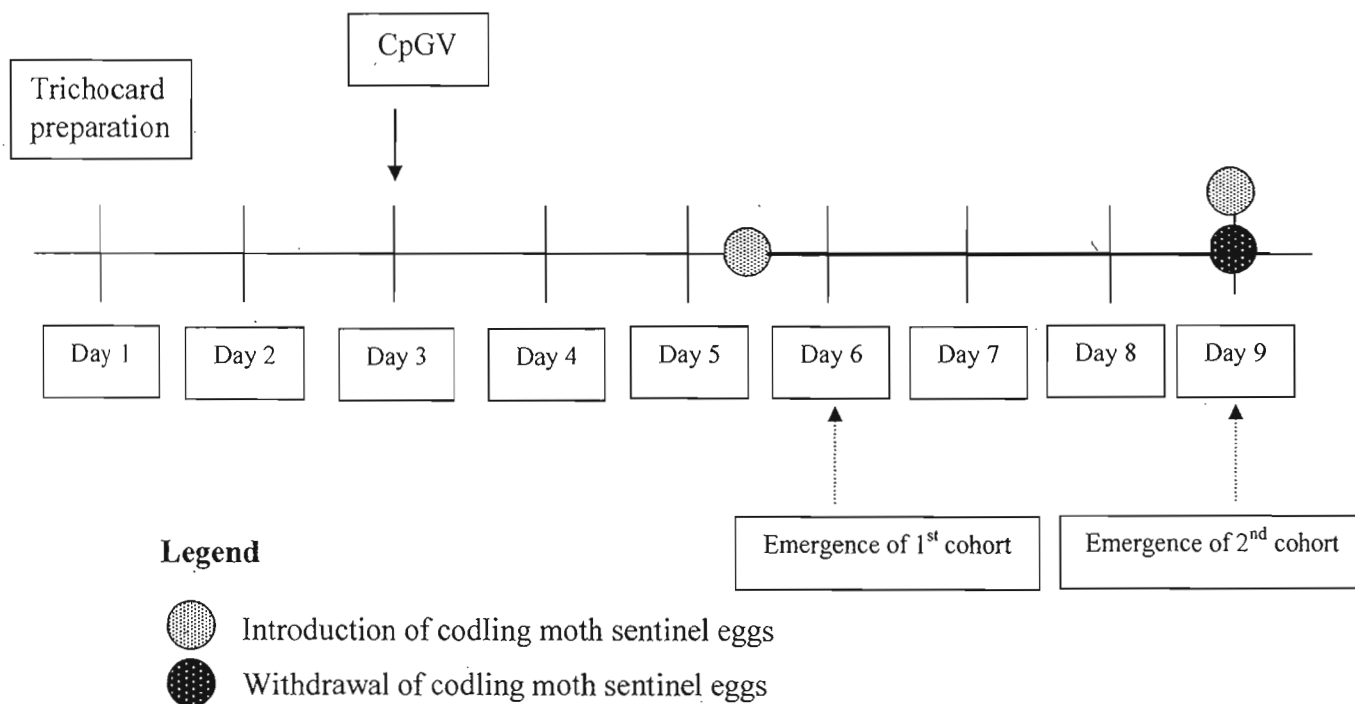


Figure 2.1. Timing of virus application, estimated emergence of *T. minutum* cohorts, sentinel eggs introduction and withdrawal for the two biocontrol strategies.

Data collected

One Multipher-I® trap coupled with pheromone lures (Bio Contrôle, Montréal, Quebec, Canada) was placed in the center of control plots and male moths captures were monitored weekly throughout the season (from May 25th to September 2nd 2008). We used codling moth monitoring to obtain the biofix (day on which the first adult male is caught in a trap) and to follow population levels of the two generations of codling moths during the season. Temperature (°C) was recorded hourly in each orchard using a Hobo® data logger (Onset Computer, Pocasset, MA, USA) for the entire duration of the experiment. Temperatures were useful to determine the timing of the first biological control treatments, using the software CIPRA® (Agriculture and Agri-Food Canada) which uses models to predict the date of the first eggs laid by codling moths females.

Field performance of *T. minutum* was evaluated using sentinel codling moths eggs laid in plastic bags in an environmental chamber. Plastic pieces with 20 to 40 codling moth eggs were stapled on the upper face of leaves at five feet high. We used many eggs because some of them could fall on the ground because of rainfall and wind. In each plot, 15 sentinel egg sets were placed twice a week (Fig. 2.1). Three days later, plastic pieces with sentinel eggs were taken back to the laboratory where they were incubated for 3 to 5 days at 23°C, 60% RH and 16L:8D. Parasitism was evaluated by counting black parasitized eggs and yellowish unparasitized eggs on each sentinel eggs mass. Monitoring of parasitism in conventional plots was not done because of the very high sensibility of *Trichogramma* wasps to chemical insecticides.

The efficiency of the biocontrol strategies and the conventional management was estimated by assessing fruit damage and by counting the number of larvae in band traps placed on trunks. Two evaluations of codling moth damage on apples were performed (July 23rd -August 3rd and September 2nd - 5th), the first to estimate the

damage done by the first generation, and the second to estimate the damage done by the second generation mostly and by the first generation to a lesser extent. In each plot, evaluations were made on 50 randomly chosen trees on which 10 apples per tree were visually inspected for codling moth damage. Apples were cut open to see if larvae or typical tunnels made by codling moth larvae were present. Tunnels buried by codling moth larvae go deep to the core of apples and dry excrements are usually present at the entry point.

Forty corrugated cardboard bands per plot were placed on the lower part of apple trunks (10 cm over the ground) in mid-July to trap fifth instar larvae (Unruh & Lacey, 2001). Twenty bands were placed on each of two rows of trees in the center of the plots. Vinyl duct tape was used to attach bands around trees. Band traps were taken off in the last week of October and brought to the laboratory to count the number of hibernating codling moth larvae.

Statistical analysis

Since data did not follow normal distributions after transformation, we used Friedman non-parametric tests to compare the percentage of damage, the parasitism rate and the average number of larvae in traps, between the four treatments. When they were significant, Friedman tests were followed by multiple comparison tests (X^2) to determine between which treatments significant differences occurred (Daniel, 1990). Multiple comparative tests were done with JMP 5.1 (SAS Institute, 2009).

RESULTS

Codling moth activity

There were no codling moths caught on the first week of monitoring (May 22nd 2008). First sustained catches occurred on May 27th in Franklin A orchard and on June 6th in the three other orchards. The first generation was much larger than the second one in all orchards (Fig. 2.2) Peak captures were reached on June 17th with 30 codling moth males caught in one trap in Franklin A orchard, and on July 7th with 18 codling moth males per trap in the Rougemont B orchard (Fig. 2.2). In average, catches decreased by the end of July with less than 2 moths per trap in all treatments on July 29th. For the second generation, catches were much lower with less than 5 males per trap in all orchards, starting from the 24th of July.

Parasitism monitoring

Mean parasitism rate of sentinel codling moth eggs by *T. minutum* in all orchards for the duration of the experiment was $10.3 \pm 1.1\%$ for control, $19.5 \pm 1.4\%$ for the simultaneous strategy, and $17.0 \pm 1.4\%$ for the successive strategy (Fig. 2.3). There was a highly significant effect of the treatments for the percentage of parasitism on sentinel eggs (Friedman: $X^2 = 31.20$, $P < 0.0001$). The average parasitism rate for the simultaneous strategy and the successive strategy were not significantly different from each other, but they were both significantly different from the control ($X^2 = 32.61$, $P < 0.0001$ for the simultaneous strategy and control ($X^2 = 16.94$, $P < 0.0001$ for the successive strategy and control). Lowest rates of parasitism were obtained on the first week of the experiment, with rates of 1.0% for control, 0.1% for the simultaneous strategy plots and 0.1% for the successive strategy plots. Highest rates occurred in the last week of June with 24.6% for control, 32.3% for the simultaneous strategy plots and 32.7% for virus-trichos plots. Throughout the season,

parasitism rates were higher in orchards of Franklin than in orchards of Rougemont. In the simultaneous strategy plots, parasitism rate was 26.3% in Franklin A and 20.5 % in Franklin B, compared to 8.4% in Rougemont A and 12.2 % in Rougemont B.

Fruit damage

There were no statistical differences between any treatments either for codling moth first generation damage (Friedman: $X^2 = 5.62$, $P = 0.1319$) nor for damage at harvest (Friedman: $X^2 = 4.54$, $P = 0.2089$) (Fig. 2.4a). For the first generation damage evaluation, percentage of damage was $6.9 \pm 2.3\%$ for the control, $1.9 \pm 0.4\%$ for the simultaneous strategy, $3.30 \pm 1.5\%$ for the successive strategy and $2.3 \pm 1.5\%$ for the conventional management. For the first and second generations damage evaluation (at harvest), damage was $4.8 \pm 2.0\%$ for the control, $2.3 \pm 0.5\%$ for the simultaneous strategy, $2.00 \pm 0.8\%$ for the successive strategy and $1.2 \pm 0.5\%$ for the conventional management (Fig. 2.4b).

Overwintering larvae

There was a significant difference between treatments for the average number of codling moth larvae per band trap (Friedman: $X^2 = 69.04$, $P < 0.0001$). The average number of larvae per trap was 2.10 ± 0.21 for the control, 0.38 ± 0.06 for the simultaneous strategy, 0.54 ± 0.07 for the successive strategy and 0.56 ± 0.08 for conventional program (Fig. 2.5). In average, control plots had three to four times more larvae in its band traps than in the two biocontrol strategies and the conventional management. There was no significant difference for the average number of larvae per band trap between the successive strategy and the simultaneous strategy and between the conventional management and the two strategies.

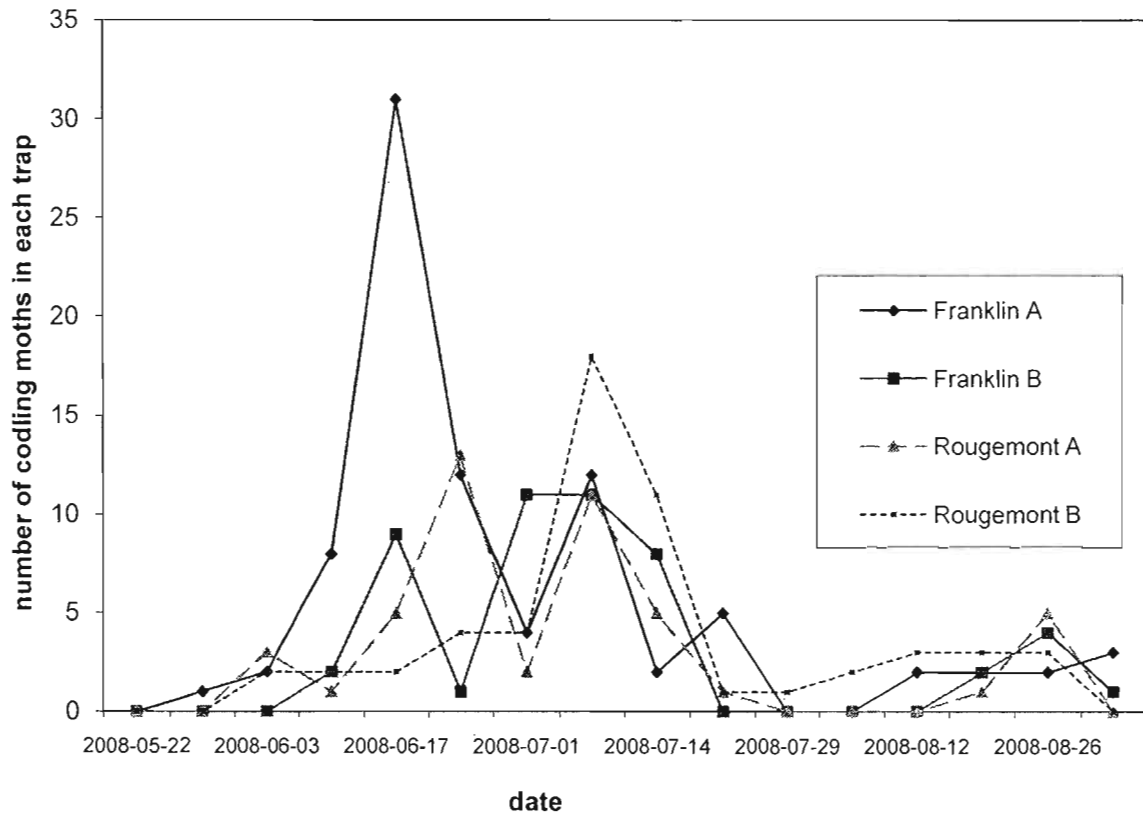


Figure 2.2. Number of male adult codling moths caught weekly in Multipher I traps in the control plots of four apple orchards in Monteregion region, Quebec.

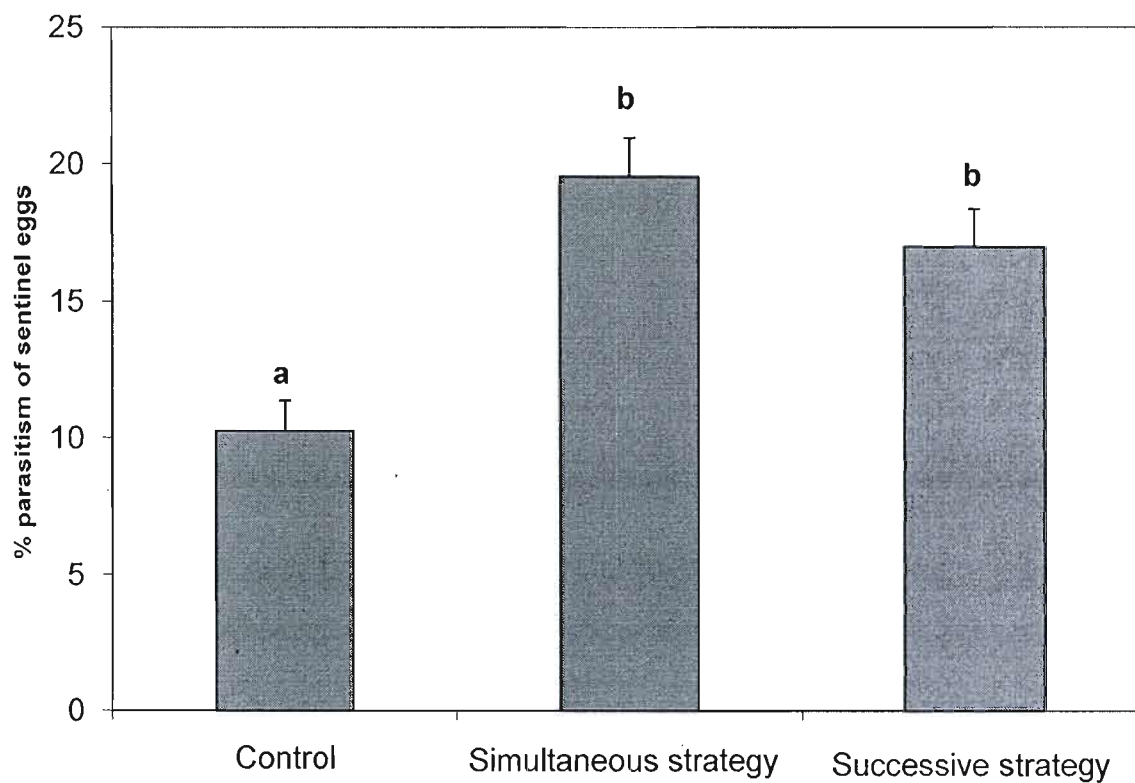


Figure 2.3. Average parasitism rate \pm SE of sentinel codling moth eggs by *Trichogramma* for all the season (June 17th to August 5th). Different letters show a significant difference (Friedman, $P < 0.05$).

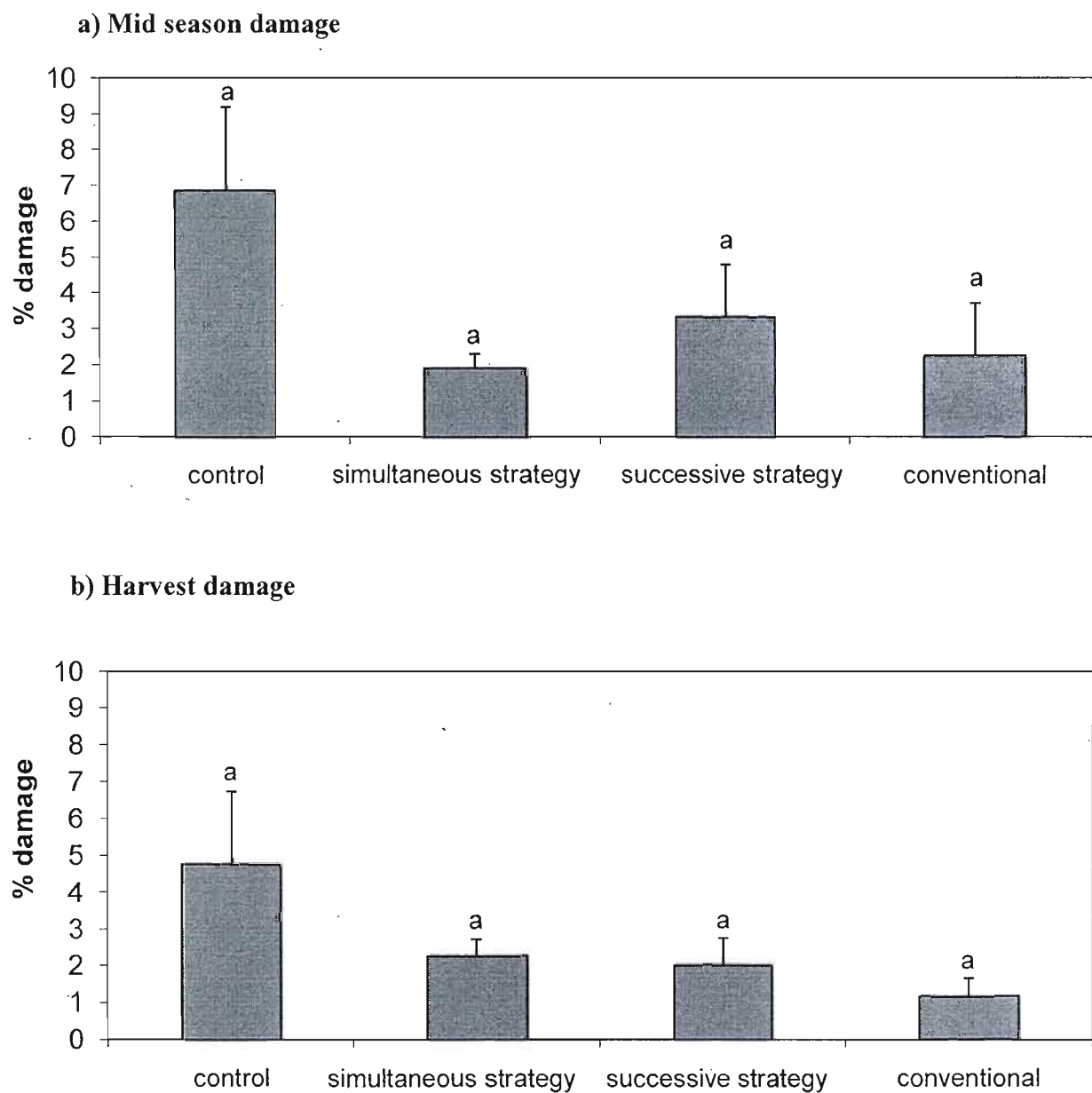


Figure 2.4. a) Percentage codling moth damage on apples \pm SE after first generation in control, biological programs and conventional plots. b) Percentage codling moth damage on apples \pm SE after first and second generations in control, biological programs and conventional plots (Friedman, $P < 0.05$).

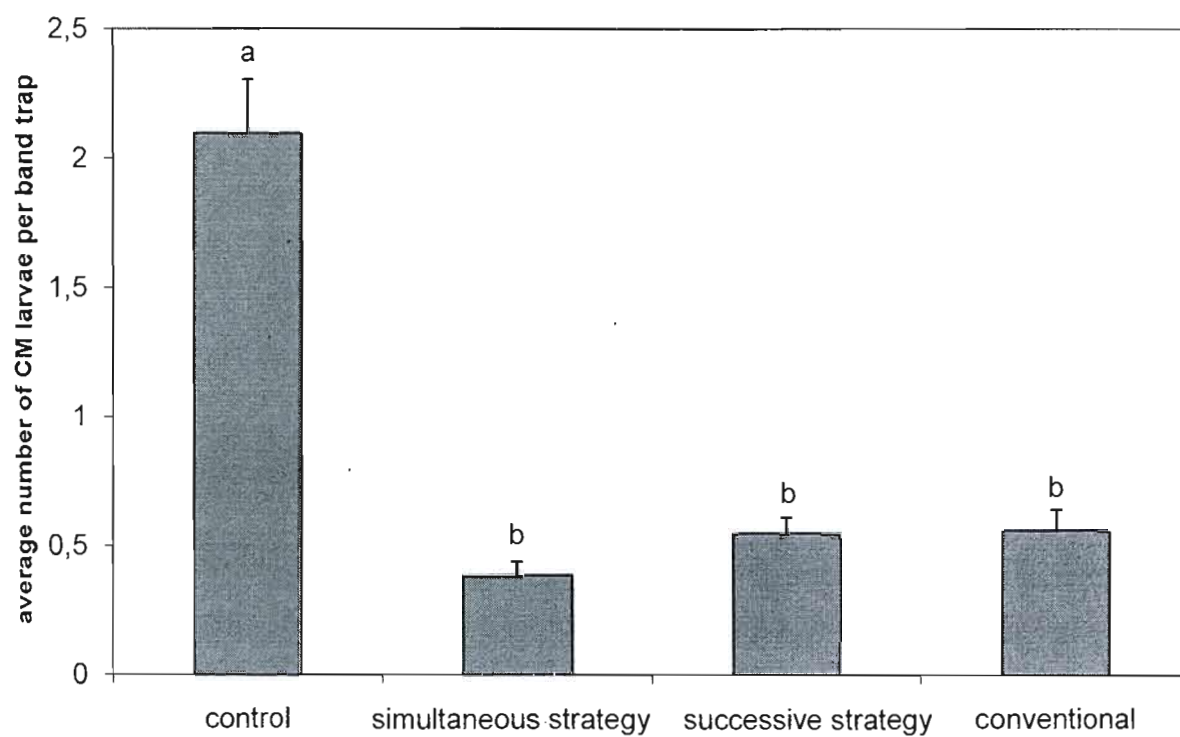


Figure 2.5. Average number of codling moth larvae collected per band trap \pm SE by treatment. Band traps were put in mid-July and were removed and observed in late October (Friedman, $P < 0.05$).

DISCUSSION

As expected, the parasitism rate was significantly higher in both biological strategies compared to the control. As other studies suggested that viruses and fungi can adversely affect parasitoids (Nakai and Kunimi, 1997; Furlong and Pell, 2000), we needed to evaluate the effect of CpGV on *T. minutum*'s parasitism. No significant difference was noted for the parasitism rate between the successive strategy and the simultaneous strategy, suggesting that eggs covered with CpGV formulation were as susceptible to parasitism than eggs not covered with CpGV formulation during the parasitism activity of *T. minutum*. According to this result, there would be no adverse effect of the presence of the virus on the parasitism rate of *Trichogramma* in the field.

Other factors such as environmental conditions influence *Trichogramma* parasitism. According to Bouchier and Smith (1996), there is a positive relationship between both the sum of the maximum temperatures and the number of degree-days above a 15° C threshold accumulated in the three days following the release and the parasitism rate. In other studies, higher humidity rates reduced parasitism and rainfall affected activity of *Trichogramma* resulting in lower parasitism (Keller *et al.*, 1985; Gross, 1988). In our experiment, we observed the lowest average parasitism ($0.4 \pm 0.3\%$) from June 17th to June 20th and it occurred under high humidity (average of 88.4%) and heavy rainfall (total of 17.6 mm over 3 days). Parasitism rates were higher between July 4th to July 7th under sunny weather conditions (66.2% humidity and 0 mm of rain) with an average parasitism rate of $28.5 \pm 1.9\%$. According to our results, we would recommend not to execute mass releases under rainy forecast and high humidity rates.

Previous studies concluded that *Trichogramma* tend to stay around the dispersion point (trichocard) and that they disperse on short distances of less than 20 meters in apple orchards (Yu *et al.*; 1984; Keller *et al.*, 1985). More recently,

Fournier and Boivin (2000) found that female *Trichogramma* stayed in a distance of 4.6 to 8.3 m according to wind direction. In 2004 and 2005, *T. minutum* dispersion was tested in apple orchards of Rougemont and Franklin using yellow sticky cards and there was a rare presence of *Trichogramma* in control plots (50 m from release points) with less than 50 parasitoids per card, against up to 900 parasitoids per card in release plots (Aubry, 2008). In our study, even if no trichocards were installed in control plots, approximately 10% of the codling moth eggs have been parasitized, and we make the hypothesis that *T. minutum* released more than 50m away could fly such a distance, but it should be tested in the future. Furthermore, parasitism rates were higher in the two Franklin orchards than in the two Rougemont orchards in control plots (Franklin A: $21.7 \pm 2.9\%$, Franklin B: $13.3 \pm 2.2\%$, Rougemont A: $1.4 \pm 0.9\%$, Rougemont B: $4.2 \pm 2.4\%$). Such a difference could have been caused by different planting densities in orchards: 1020 in Franklin A, 420 trees/ha in Franklin B, 505 trees/ha in Rougemont A and 580 trees/hectare in Rougemont B. Smaller distances between trees might facilitate dispersion of *T. minutum* and it is known that the wind has an effect on *Trichogramma* dispersal (Yu *et al.*, 1984; Fournier and Boivin, 2000; Kuske *et al.*, 2003).

Damage was lower in all treated plots compared to the control at mid-season evaluation (first codling moth generation) and at harvest evaluation (first and second codling moth generation), but there were no significant differences between any treatments. The absence of a significant difference for the damage on apples between the simultaneous strategy and the successive strategy suggests that timing of application of the CpGV and release of *Trichogramma* does not affect the overall efficiency of the two biocontrol agents in orchards. At harvest, damage was $2.25 \pm 0.4\%$ in the simultaneous plots and $2 \pm 0.6\%$ in the successive plots, compared to $1.15 \pm 0.5\%$ in the conventional management. In comparison, Jacques *et al.* (1994) used CpGV against codling moth in Ontario, Canada, and observed 6.5% deep entries in apples in virus treated plots against 45% in control plots. In British Columbia,

Canada, the use of *Trichogramma platneri* under sterile codling moth release program reduced significantly the codling moth damage from 15.8% in the control plots to 6.9 % in the *Trichogramma* release plots (Cossentine and Jensen, 2000).

The number of larvae per band was significantly reduced in the simultaneous strategy plots, the successive strategy plots and in the conventional plots by about four-fold compared to the control. The number of hibernating larvae in tree band traps can be an indicator of the impact of each treatment on codling moth populations (Aubry, 2008) and it could be a way to predict the level of the first generation the year after, as adults emerge from the pupae in the orchard in the spring, but it remains to be proven. The reduction of the number of hibernating larvae in the two biological strategies is an encouraging result and future experiments will be needed to evaluate if it has an effect on the adult population in the tested orchards.

CONCLUSION

Our experiments showed that *T. minutum* used in combination with CpGV has potential to control codling moths in commercial apple orchards. The lower number of larvae in band traps in both biological control strategies compared to the control indicate that they had a significant effect on larvae populations. There was no statistical difference between the simultaneous and the successive strategies, so releasing *Trichogramma* before or after CpGV application did not seem to affect the control of codling moths in our study. This suggest, in contrary to what we expected, that parasitism of codling moth eggs by *Trichogramma* was not affected by the presence of the CpGV formulation in the orchard. Three releases of *T. minutum* and three applications of CpGV kept damages at approximately 2% in both biological programs, compared to approximately 5% in the control and 1% in the conventional management. The combined use of *T. minutum* and CpGV could be an interesting

alternative for biological and IPM apple growers in Quebec, but more research is needed to confirm the efficiency of this new biocontrol method over many years. Costs of these biological treatments are still a lot higher than conventional insecticides, but they might eventually be overcome by long term benefits such as value added fruits, less impact on beneficial insects, low environmental impact and no human toxicity. Our experiments were conducted over one year and the encouraging results should lead to the continuation of this project in the following years.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Conseil pour le développement de l'agriculture du Québec (CDAQ) and Nova Scotia's ACAAF Council for funding. We thank Anik P. Leboeuf, Nicolas Marie, IRDA staff and UQAM students for their help on the field. We also thank the apple growers who were very cooperative and let us do our research in their orchards.

CONCLUSION

L'objectif général de cette étude était d'établir un programme de lutte biologique efficace contre le carpocapse de la pomme en utilisant conjointement les trichogrammes de l'espèce *T. minutum* et le granulovirus du carpocapse (CpGV). Cet objectif découle des problèmes reliés à l'utilisation d'insecticides chimiques, tels que les risques pour la santé humaine et l'environnement, la réduction des insectes bénéfiques et le développement de résistances du carpocapse contre les insecticides de synthèse (Varela *et al.*, 1993 ; Charmillot *et al.*, 2005 ; Stara *et al.*, 2006).

Dans le premier chapitre, nous avons étudié la compatibilité biologique entre les deux agents de lutte biologique utilisés, *T. minutum* et le CpGV. L'objectif principal était de déterminer la nature des interactions entre les deux agents de lutte biologique. Nous avons émis l'hypothèse que la présence de CpGV sur les œufs de carpocapse n'aurait aucun effet sur le parasitisme des trichogrammes. Contrairement à notre hypothèse, la présence de Madex® sur les œufs de carpocapse a entraîné la diminution du taux de parasitisme de *T. minutum* sur ces derniers, en laboratoire. Pourtant, il est connu que le CpGV est hautement spécifique et qu'il n'affecte que quelques espèces de Tortricidae (Charmillot *et al.*, 1989).

Il nous est présentement impossible d'identifier la cause exacte de la diminution du parasitisme des œufs couverts de formulation virale, mais une de nos hypothèses est que les trichogrammes auraient pu détecter des composés sur les œufs couverts de formulation virale et les considérer comme étant de mauvaise qualité pour leur progéniture. En effet, les parasitoïdes de la famille des Trichogrammatidae ont la faculté de distinguer la qualité de l'hôte grâce à des

récepteurs chimiques présents sur leurs antennes (Pak, 1986). Ils peuvent aussi préférer pondre dans des œufs d'une espèce plutôt qu'une autre ou favoriser des œufs fraîchement pondus plutôt que des œufs plus âgés (Schmidt, 1994).

Une autre hypothèse est qu'un ingrédient dans la formulation du Madex® pourrait avoir eu un effet répulsif sur les trichogrammes. En effet, ce n'est peut-être pas le virus lui-même qui a réduit le taux de parasitisme, mais peut-être un autre composant de la formulation. Pour vérifier cette hypothèse, d'autres essais seraient nécessaires afin de tester l'effet de chaque ingrédient de la formulation sur le taux de parasitisme des trichogrammes. Malgré le fait que le Madex® ait entraîné une diminution du taux de parasitisme des trichogrammes sur les œufs de carpocapses, le Madex® et le Virosoft CP4® n'ont pas provoqué de mortalité chez les femelles trichogrammes adultes et n'ont pas affecté le taux d'émergence des œufs parasités lors de nos essais en laboratoire.

Les résultats obtenus lors des essais en vergers de pommiers ont différé de ceux obtenus en laboratoire. En effet, lors des essais de terrain de 2006 et 2008 en vergers commerciaux et en verger expérimental, aucune diminution significative du taux de parasitisme de *T. minutum* n'a été notée lorsque le Madex® ou le Virosoft CP4® ont été utilisés. Ce résultat est rassurant dans une perspective d'utilisation conjointe des deux agents de lutte, car une diminution du taux de parasitisme des trichogrammes impliquerait une diminution de leur efficacité à contrôler les carpocapses. Bien que les résultats obtenus en laboratoire étaient valables, les résultats des essais sur le terrain reflètent les conditions réelles en verger. Nos résultats indiquent, comme il est souvent le cas dans plusieurs études, que les résultats obtenus en laboratoire dans des conditions artificielles ne peuvent pas toujours être transférés à une situation réelle sur le terrain.

Dans le premier chapitre, nous voulions déterminer si la combinaison des deux agents de lutte biologique avait un effet synergique, antagoniste ou additif sur la mortalité totale des carpocapses en vergers de pommiers. Pour ce faire, nous avons comparé le taux de mortalité total obtenu en verger avec le taux de mortalité théorique calculé avec la formule décrite par Benz (1971). Nos résultats indiquent que l'effet conjoint du CpGV et de *T. minutum* sur la mortalité de *C. pomonella* est additif. D'après ce résultat, l'utilisation conjointe de ces deux agents dans un programme de lutte biologique ou de lutte intégrée est envisageable, puisque les pulvérisations de CpGV (Madex® et Virosoft CP4®) n'ont pas affecté la capacité des trichogrammes à parasiter les œufs de carpocapses.

Dans le deuxième chapitre, nous avons élaboré et évalué deux stratégies de lutte biologique utilisant conjointement *T. minutum* et le CpGV. L'objectif était de comparer l'efficacité des deux stratégies de lutte biologique entre elles et avec la régie conventionnelle des pomiculteurs. La régie conventionnelle des producteurs consistait en une ou plusieurs pulvérisations d'insecticides organophosphorés ou de régulateurs de croissance contre le carpocapse de la pomme, lorsque le seuil d'intervention de 50 adultes par piège à phéromone était atteint (Réseau d'avertissements phytosanitaires, 2007). Les stratégies de lutte biologique différaient par le synchronisme entre les lâchers de trichogrammes et les pulvérisations du granulovirus. Dans la stratégie simultanée, le pic d'émergence des trichogrammes coïncidait avec le jour de la pulvérisation du CpGV. Dans la stratégie successive, le pic d'émergence des trichogrammes se produisait trois jours après la pulvérisation du CpGV. Les trichogrammes étaient donc moins en contact avec le CpGV au moment de parasiter les œufs de carpocapses dans cette stratégie.

Selon nos résultats, il n'y a pas eu de différence significative entre les deux stratégies de lutte, autant pour le taux de parasitisme que pour les dommages de mi-saison, les dommages à la récolte et le nombre de larves diapausantes capturées dans les bandes-pièges. La présence du CpGV dans les pommiers lors du pic d'émergence de la stratégie simultanée n'a pas affecté négativement l'efficacité des trichogrammes. D'après nos essais en vergers, les deux stratégies sont aussi efficaces et il nous est impossible d'en recommander une plus qu'une autre aux producteurs qui voudraient utiliser la lutte biologique avec *T. minutum* et le CpGV.

Les dommages attribués aux carpocapses ont été supérieurs dans les parcelles témoins que dans les parcelles de lutte biologique, mais la différence était non significative. D'autre part, il n'y a pas eu de différence significative non plus entre les parcelles de régie conventionnelle et les parcelles témoins. En fait, les dommages sont restés relativement faibles dans l'ensemble des vergers à l'étude. Une plus grande pression de carpocapses dans les vergers aurait peut-être permis de prouver l'efficacité des deux stratégies de lutte biologique pour réduire les dégâts aux pommes.

Néanmoins, le nombre de larves diapausantes capturées dans les bandes-pièges dans les parcelles de lutte biologique était approximativement quatre fois moins élevé que celui observé dans les parcelles témoins, ce indique que les stratégies de lutte biologique ont permis de réduire significativement la population de carpocapses. D'autre part, il n'y avait pas davantage de larves diapausantes dans les parcelles de lutte biologique que dans les parcelles de régie conventionnelle. Ce résultat pourrait servir d'argument pour convaincre les pomiculteurs à tester l'utilisation de *T. minutum* et du CpGV dans leur verger.

D'après les résultats obtenus sur le terrain, les guêpes de l'espèce *T. minutum* ont été en mesure de parasiter jusqu'à 65 % des sites d'œufs sentinelles de carpocapses, et ce avec ou sans la présence de CpGV sur les œufs. L'utilisation conjointe des deux agents de lutte biologique est donc possible. Quant au CpGV, il s'est démontré très efficace pour tuer les larves néonates sur le terrain et en laboratoire. De plus, son utilisation est simple puisqu'il est appliqué avec un pulvérisateur conventionnel, à la même manière qu'un insecticide chimique.

La lutte biologique utilisant les trichogrammes et le CpGV possède des avantages non négligeables par rapport aux insecticides chimiques tels que l'innocuité pour les humains, la conservation de la faune auxiliaire, l'absence de pollution environnementale, la réduction des risques de résistance (les œufs de carpocapses ne peuvent pas devenir résistants aux trichogrammes) et le développement de fruits à valeur ajoutée (produits biologiques). De plus, cette méthode est compatible avec d'autres programmes de lutte, en autant que les pulvérisations d'insecticides chimiques ne coïncident pas avec la période de parasitisme des trichogrammes.

Par contre, l'application de telles pratiques en pomiculture est complexe. Actuellement, il serait environ quatre fois plus cher d'utiliser la lutte biologique que les insecticides chimiques au Québec, sans compter le temps de main-d'œuvre requis pour poser des trichocartes dans les pommiers. Le prix d'une application d'insecticide chimique, par exemple le Guthion®, coûte environ 75 dollars par hectare, comparativement à presque 200 dollars par hectare pour la lutte biologique. Les trichogrammes étant des organismes vivants, plusieurs précautions doivent également être prises afin d'assurer leur efficacité (transport rapide dans des conditions très

spécifiques, température clémente lors des lâchers, manipulations manuelles délicates, risques de prédation des trichocartes, etc.).

Est-il envisageable d'utiliser des programmes de lutte biologique utilisant les trichogrammes et le granulovirus ? Selon nos résultats, il est réaliste de penser que cette solution est applicable dans les vergers du Québec. Les programmes ont permis de réduire les populations de carpocapses et ont limité les dégâts en dessous du seuil économique. Même si les coûts sont actuellement élevés, ils seraient appelés à diminuer avec une augmentation de la production de trichogrammes. Les trichogrammes (*Trichogramma brassicae*) sont actuellement utilisés par 10 % des producteurs de maïs sucré au Québec et ils sont devenus une option rentable dans cette culture. Avec les années, cette réalité pourrait s'appliquer à la pomiculture.

La volonté de plusieurs pomiculteurs de réduire leur utilisation de pesticides pourrait aussi favoriser l'utilisation des stratégies de lutte biologique proposées dans cette étude. Les connaissances sur les effets bénéfiques de plusieurs espèces d'insectes se sont développées au cours des dernières décennies et la vision de la gestion d'un verger a beaucoup changé. Les pomiculteurs savent maintenant que les insectes font partie d'un système écologique complexe et qu'ils doivent maintenir l'équilibre entre les espèces bénéfiques et les ravageurs pour éviter les épidémies.

Il s'agissait de la première étude sur l'utilisation conjointe des trichogrammes et du virus de la granulose du carpocapse. Après trois années de recherche sur le développement de stratégies de lutte biologique contre le carpocapse de la pomme, nous savons maintenant qu'il est possible de les utiliser ensemble pour réduire les populations de carpocapses. Plusieurs pistes n'ont pas encore été explorées, mais notre étude a permis de développer cette méthode de contrôle plus respectueuse de

l'environnement. L'utilisation commerciale de *T. minutum* et du CpGV est possible et elle permettra de réduire l'utilisation des pesticides dans l'avenir.

RÉFÉRENCES

- Andermatt, M. Mani, E., Wildbolz & T. Lüthy, P. 1988. Susceptibility of *Cydia pomonella* to *Bacillus thuringiensis* under laboratory and field conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 49 : 291-295.
- Ansari, M. A., Shah, F. A. & Butt, T. M. 2008. Combined use of entomopathogenic nematodes and *Metarhizium anisopliae* as a new approach for black vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus*, control. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 129 (3), 340-347.
- Arthurs, S. P. & Lacey, L. A. 2004. Field evaluation of commercial formulations of the codling moth granulovirus : persistence of activity and success of seasonal applications against natural infestations of codling moth in Pacific Northwest apple orchards. *Biological Control*, 31 : 388-397.
- Arthurs, S. P., Lacey, L. A. & Behle, R. W. 2006. Evaluation of spray-dried lignin-based formulations and adjuvants as solar protectants for the granulovirus of the codling moth *Cydia pomonella* L. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93 : 88-95.
- Arthurs, S. P., Lacey, L. A. & Fritts, Jr. R. 2005. Optimizing use of codling moth granulovirus: Effects of application rate and spraying frequency on control of codling moth larvae in Pacific Northwest apple orchards. *Journal of Economic Entomology*, 98 (5): 1459 - 1468.
- Arthurs, S. P., Lacey, L. A. & Miliczky, E. R. 2007. Evaluation of the codling moth granulovirus and spinosad for codling moth control and impact on non-target species in pear orchards. *Biological Control*, 41 (1) : 99-109.
- Aubry, O. 2008. Lutte attracticide et lâchers inondatifs de trichogrammes contre le carpocapse de la pomme, *Cydia pomonella* (Lepidoptera : Tortricidae). Université du Québec à Montréal, Montréal, 103 pages.
- Bader, A. E., Heinz, K. M., Wharton, R. A. & Bogran, C. E. 2006. Assessment of interspecific interactions among parasitoids on the outcome of inoculative biological control of leafminers attacking chrysanthemum. *Biological Control*, 39 : 441-452.
- Ballard, J., Ellis, D. J. & Payne, C. C. 2000a. The role of formulation additives in increasing the potency of *Cydia pomonella* granulovirus for codling moth larvae, in laboratory and field experiments. *Biocontrol Science and Technology*, 10 : 627-640.

- Ballard, J., Ellis, D.J. & Payne, C.C. 2000b. Uptake of granulovirus from the surface of apples and leaves by first instar larvae of the codling moth *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera : Olethreutidae). *Biocontrol Science and Technology*, 10 (5) : 617-625.
- Barnes, M. M., Millar, J. G., Kirsch, P. A. & Hawks, D. C. 1992. Codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) control by dissemination of synthetic female sex pheromone. *Journal of Economic Entomology*, 85 (4): 1274-1277.
- Benz, G. 1971. « Synergism of micro-organisms and chemical insecticides ». Dans *Microbial control of insects and mites*, sous la direction de H. D. Burgers et N. W. Hussey, p. 327-535. New York : Academic Press.
- Bigler, F., A. Meyer & S. Bosshart, 1987. Quality assesment in *Trichogramma maidis* reared from eggs of the factitious host *Ephestia kuehniella* Zell. and *Sitotroga cerealella* (Oliver). *Journal of Applied Entomology*, 104: 340-353.
- Blomfield, T. L., Pringle, K. L. & Sadie, A. 1997. Field observation on oviposition of codling moth, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera : Tortricidae), in an unsprayed apple orchard in South Africa. *African Entomology*, 5 : 319-336.
- Boivin, T. Bouvier, J.-C., Beslay, D. & Sauphanor, B. 2003. Phenological segregation of insecticide resistance alleles in the codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae): a case study of ecological divergences associated with adaptive changes in populations. *Genetical Research*, 81 (3): 169-177.
- Borror, D. J., DeLong, D. M. & Triplehorn, C. A. 1976. *An Introduction to the Study of Insects*, 4th Edition. Holt, Reinhart, and Winston, New York. 852 pp
- Bouchard, D. & Vincent, C. 1986. « La lutte biologique en vergers de pommiers ». Dans *Points de vue sur la protection des vergers au Québec*, sous la direction de C. Vincent et B. Rancourt, Saint-Jean-sur-Richelieu : Agriculture Canada, p. 3-6.
- Bouchard, D. & Vincent, C. 1987. « Le dépistage en vergers de pommiers ». Dans *Points de vue sur la protection des vergers au Québec*, sous la direction de C. Vincent et B. Rancourt, p. 75-77. Saint-Jean-sur-Richelieu : Agriculture Canada.
- Bourchier, R. S. & Smith, S. M. 1996. Influence of environmental conditions and parasitoid quality on field performance of *Trichogramma minutum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 80 (3): 461-468.

- Braun, P.G. & Craig, B. 2008. Guide de production biologique de la pomme au Canada atlantique. AAFC Atlantic Food and Horticulture Research Centre, Kentville, NS, 35 p.
- Brodeur J. & Rosenheim J. A. 2000. Intraguild interactions in aphid parasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 97: 93-108.
- Brousseau, C., Charpentier, G. & Belloncik, S. 1998. Effects of *Bacillus thuringiensis* and destruxins (*Metarhizium anisopliae* mycotoxins) combinations on spruce budworm (Lepidoptera : Tortricidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 72 : 262-268.
- Brunner, J.F., Dunley, J.E., Doerr, M.D. & Beers, E.H. 2001. Effect of pesticides on *Colpoclypeus florus* (Hymenoptera; Eulophidae) and *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), parasitoids of leafrollers in Washington. *Journal of Economic Entomology*, 94: 1075-1084.
- Charmillot, P.-J. 1989. Lutte contre le carpocapse *Cydia pomonella* L. au moyen du virus de la granulose. *Revue suisse Viticulture Horticulture*, 21 (1) : 43-47.
- Charmillot, P.-J. 1995. Possibilités et limites de la lutte contre le carpocapse au moyen de la technique de confusion et du virus de la granulose : recommandations pratiques. *Revue suisse Viticulture Horticulture*, 27 (2) : 76-77.
- Charmillot P.-J., Pasquier D. & Briand F., 2005. Résistance du carpocapse *Cydia pomonella* aux insecticides: Tests par application topique sur des larves diapausantes collectées en automne 2003 dans les vergers suisses. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, 37 (2) : 123-127.
- Charmillot, P.-J., Pasquier, D. & Scalco, A. 1998a. Le virus de la granulose du carpocapse *Cydia pomonella* : Recherche de la CL₅₀ en laboratoire. *Revue suisse Viticulture Horticulture*, 30 (1) : 7-9.
- Charmillot, P.-J., Pasquier, D. & Scalco, A. 1998b. Le virus de la granulose du carpocapse *Cydia pomonella* : Efficacité en microparcelles, rémanence et rôle des adjuvants. *Revue suisse Viticulture Horticulture*, 30 (1) : 61-64.
- Charmillot, P.-J., Pasquier, D. & Schneider, D. 1991. Efficacité et rémanence du virus de la granulose, de la phosalone et du chlorpyrifos-méthyl dans la lutte contre le carpocapse *Cydia pomonella* L. *Revue suisse Viticulture Horticulture*, 23 (2) : 131-134.

- Chouinard, G.(coord.). 2001. Guide de gestion intégrée des ennemis du pommier. Centre de référence en agriculture et agro-alimentaire du Québec, Québec. 226 p.
- Cloutier, C. & Cloutier, C. 1992. « Les solutions biologiques de lutte pour la répression des insectes et acariens ravageurs des cultures.» Dans : *La lutte biologique*, sous la direction de C. Vincent et D. Coderre. Gaëtan Morin éditeur, Boucherville, p. 19-88.
- Coderre, D. & Vincent, C. 1992. « La lutte biologique : toile de fond de la situation.» Dans : *La lutte biologique*, sous la direction de C. Vincent et D. Coderre. Gaëtan Morin éditeur, Boucherville, p. 3-16.
- Cormier, D. & Morin, Y. 2008. Les nouveaux produits pour lutter contre le carpocapse. Bulletin d'information du Réseau d'informations phytoparasitaires, 3 : 1-3.
- Corrigan, J. E. & Laing, J. E. 1994. Effects of the rearing host species attacked on performance by *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera : Trichogrammatidae). *Environmental Entomology*, 23 (3) : 755-760.
- Cossentine, J. E. & Jensen, B. M. 2000. Releases of *Trichogramma platneri* (Hymenoptera : Trichogrammatidae) in apple orchards under sterile codling moth release program. *Biological Control*, 18 : 179-186.
- Cossentine, J.É. & Jensen, B.M. 2004. Persistence of a commercial codling moth granulovirus product on apple fruit and foliage. *Journal of Entomology of the Society of British Columbia*, 101 : 87-92.
- Crowder, D. W. 2007. Impact of release rates on the effectiveness of augmentative biological control agents. *Journal of Insect Science*, 7 (15), 1-11.
- Curtis, C. E., Clark, J. D. & Tebbets, J. S. 1991. Incidence of codling moth (Lepidoptera : Tortricidae) in packed nectarines. *Journal of Economic Entomology*, 84 : 1686-1690.
- Daniel, W. W. 1990. Applied nonparametric statistics. Second edition. PWS-KENT Publishing Company, 656 p.
- Denoth, M., Frid, L. & Myers, J. H. 2002. Multiple agents in biological control: improving the odds? *Biological Control*, 24 : 20-30.

Dickler, E., 1986. Stand der Entwicklung und Einführung mikrobiologischer Insektizide zur Wicklerbekämpfung im Apfelanbau. IOBC WPRS Bull.: 98-107.

Döller, G. & Huber, J. 1983. Sicherheitsstudie zur Prüfung einer Vermehrung des Granulosevirus aus *Laspeyresia pomonella* in Säugern. Z. angew. Ent. 95 (1): 64-69.

Dunley, J. E. & Welter, S. C. 2000. Correlated insecticide cross-resistance in azinphosmethyl resistant codling moth. (Lepidoptera: Tortricidae). Journal Economic Entomology, 93: 955-962.

Eberle, K. E., Asser-Kaiser, S., Sayed, S. M. & Nguyen, H. T. 2008. Overcoming the resistance of codling moth against conventional *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV-M) by a new isolate CpGV-I12. Journal of invertebrate pathology, 98 (3): 293-298.

Escribano, A., Williams, T., Goulson, D., Cave, R. D. & Caballero, P. 2000. Parasitoid-pathogen-pest interactions of *Chelonus insularis*, *Camponotus sonorensis*, and a nucleopolyhedrovirus in *Spodoptera frugiperda* larvae. Biological Control, 19 : 265-273.

Falcon, L. A. 1973. Biological factors that affect the success of microbial insecticides: development of integrated control. Dans *Regulation of insect populations by microorganisms*, sous la direction de L. A. Bulla, The New York Academy of Sciences, New York, p. 173-186.

Fédération des producteurs de pommes du Québec. 2006. La pomme du Québec-Statistiques- Portrait de la production. En ligne. <http://www.lapommequebec.ca/pages/POQ/portraitproduction.aspx>. Page consultée le 15 février 2006.

Fernandez, D. E., Beers, E. H., Brunner, J. F., Doerr, M. D. & Dunley, J. E. 2006. Horticultural mineral oil applications for apple powdery mildew and codling moth *Cydia pomonella* L. Crop Protection, 25 : 585-591.

Fournier, F. & Boivin, G. 2000. Comparative dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to environmental conditions. Environmental Entomology, 29 (1) : 55-63.

Fréchette, B., Rojo S., Alomar O. & Lucas E. 2007. Intraguild predation among mirids and syrphids. Who is the prey and who is the predator? Biocontrol, 52: 175-191.

Furlong, M., Pell & J. K. 2000. Conflicts between a fungal entomopathogen, *Zoophthora radicans*, and two larval parasitoids of the diamondback moth. *Journal of Invertebrate Pathology* 76, 85-94.

Geier, P. 1963. The life history of codling moth *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) in the Australian Capital Territory. *Australian Journal of Zoology*, 11: 323-367.

Glare, T. R. 1994. Stage-dependent synergism using *Metarhizium anisopliae* and *Serratia entomophila* against *Costelytra zealandica*. *Biocontrol Science and Technology*, 4 (3): 321-329.

Glen, D. M. & Payne, C. C. 1984. Production and field evaluation of codling moth granulosis virus for control of *Cydia pomonella* in the United Kingdom. *Annals of Applied Biology*, 104 : 87-98.

Glen, M. & Clark, J. 1985. Death of *Cydia pomonella* larvae and damage to apple fruit, after field application of codling moth granulosis virus. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 38 (1) : 93-96.

Gross, H. R. 1988. Effect of temperature, relative humidity, and free water on the number and normalcy of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) emerging from eggs of *Heliothis zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, 17.(3) 470-475.

Grützmacher, A. D., Zimmermann, O., Yousef, A. & Hassan, S. A. 2004. The side-effects of pesticides used in integrated production of peaches in Brazil on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae). *Journal of Applied Entomology*, 128 (6) : 377-383.

Gut, L.J. & Brunner J.F. 1998. Pheromone-based management of the codling moth (Lepidoptera:Tortricidae) in Washington apple orchards. *Journal of Agricultural Entomology*, 15: 387 – 405.

Hoffmann, M. P., Wright, M. G., Chenus, S. A. & Gardner, J. 2002. Inoculative releases of *Trichogramma ostriniae* for suppression of *Ostrinia nubilalis* (European corn borer) in sweet corn. *Field biology and population dynamics. Biological Control*, 25: 249-258.

- Howell, J. F., Knight, A. L., Unruh, T.R. , Brown, D. F., Krysan, J. L., Sell, C. R. & Kirsch, P. A. 1992. Control of codling moth in apple and pear with sex pheromone-mediated mating disruption. *Journal of Economic Entomology*, 85 : 918-925.
- Huber, J. & Dickler, E. 1977. Codling moth granulovirus : its efficiency in the field in comparison with organophosphorus insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 70 (5) : 557-561.
- Jackson, D.M. 1979. Codling moth egg distribution on unmanaged apple trees. *Annals of the Entomological Society of America*, 72 (3) : 361-368.
- Jaques, R. P., Hardman, J. M., Laing, J. E., Smith, R. F. & Bent, E. 1994. Orchard trials in Canada on control of *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera : Tortricidae) by granulosis virus. *Entomophaga*, 39 : 281-292.
- Jaques, R. P. & Laing, J. E. 1982. Efficacy of the granulosis virus of the codling moth. In *Invertebrate Pathology and Microbial Control*. Third International Colloquium on Invertebrate Pathology, 6-10 September, Brighton, UK, p. 183.
- Jaques, R. P., Laing, J. E., Laing, D. R. & Yu, D. S. K. 1987. Effectiveness and persistence of the granulovirus of the codling moth *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera : Olethreutidae) on apple. *Canadian Entomologist*, 119 : 1063-1067.
- Jaques, R. P., MacLellan, C.R., Sanford, H., Proverbs, M. D., Hagley, E. A. C. 1977. Preliminary orchard tests on control of codling moth larvae by a granulosis virus. *Canadian Entomologist* 109 : 1079-1081.
- Judd., G. J. R., Gardineri., M. G. T. & Thomson, D. R. 1997. Control of codling moth in organically-managed apple orchards by combining pheromone-mediated mating disruption, post-harvest fruit removal and tree banding. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 83: 137-146.
- Kaiser, L., Pham-Delegue, M. H. & Masson, C. 1989. Behavioural study of plasticity in host preferences of *Trichogramma maidis* (Hym. : Trichogrammatidae). *Physiological Entomology*, 14 : 53-60.
- Keller, M. A., Lewis, W. J. & Stinner, R. E. 1985. Biological and practical significance of movement by *Trichogramma* species a review. suppl. *Southwest Entomology*, 8 : 138 - 155.
- Kienzle, J., Schulz, C., Zebitz, C. P. W. & Huber, J. 2003. Codling moth granulovirus as a tool for resistance management and area-wide population control. *IOBC wprs Bulletin*, 26 (11) : 69-74.

Klomp H. & Teerink B. J. 1967. The significance of oviposition rates in the egg parasite, *Trichogramma embryophagum*. Archives Neerlandaises de Zoologie, 17 : 350 - 375.

Koppenhöfer, A. M., Cowles, R. S., Cowles, E. A., Fuzy, E. M. & Baumgartner, L. 2002. Comparison of neonicotinoid insecticides as synergists for entomopathogenic nematodes. Biological Control, 24 (1): 90-97.

Kuhlmann, U. 1996. Biology and ecology of *Herpestomus brunnicornis* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a potential biological control agent of the apple ermine moth (Lepidoptera: Yponomeutidae). International Journal of Pest Management, 72 : 131-138.

Krupke, C., Roitberg, B. & Judd G. J. 2002. Field and laboratory responses of codling moth to a pheromone-based attract-and-kill strategy. Journal of Environmental Entomology, 31: 189-197.

Kuske, S., Widmer, F., Edwards, P. J., Turlings, T. J., Babendreier, D. & Biglera F. 2003. Dispersal and persistence of mass released *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in non-target habitats. Biological Control, 27 : 181-193.

Lacey, L. A. & Arthurs, S. P. 2005. New method for testing solar sensitivity of commercial formulations of the granulovirus of codling moth (*Cydia pomonella*, Tortricidae, Lepidoptera). Journal of Invertebrate Pathology, 90 : 85-90.

Lacey, L. A., Arthurs, S. P. & Headrick, H. 2005. Comparative activity of the codling moth granulovirus against *Grapholita molesta* and *Cydia pomonella* (Lepidoptera : Tortricidae). Journal of Entomology of the Society of British Columbia, 102 : 79-80.

Lacey, L. A., Arthurs, S., Knight, A., Becker, K. & Headrick, H. 2004. Efficacy of codling moth granulovirus: Effect of adjuvants on persistence of activity and comparison with other larvicides in a pacific northwest apple orchard. Journal of Entomological Science, 39 (4): 500-513.

Lacey, L. A., Arthurs, S. P., Unruh, T., Headrick, H. & Fritts, R. 2006. Entomopathogenic nematodes for control of codling moth (Lepidoptera : Tortricidae) in apple and pear orchards : Effect of nematode species and seasonal temperatures, adjuvants, application equipment, and post-application irrigation. Biological Control, 37 : 214-223.

- Lacey, L. A. & Unruh, T. R. 2005. Biological control of codling moth (*Cydia pomonella*, Tortricidae: Lepidoptera) and its role in integrated pest management, with emphasis on entomopathogens. *Vedalia*, 12: 33-60.
- Lacey, L. A., Unruh, T. R. & Headrick, H. L. 2003. Interactions of two idiobiont parasitoids (Hymenoptera: Ichneumonidae) of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) with the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 83 : 230-239.
- Lacey, L.A., Vail, P.V. & Hoffmann, D.F. 2002. Comparative activity of baculovirus against the codling moth *Cydia pomonella* and three other tortricid pests of tree fruit. *Journal of Invertebrate Pathology*, 80 (1) : 64-68.
- Lobdell, C. E., Yong, T. H. & Hoffmann, M. P. 2005. Host color preferences and short-range searching behavior of the egg parasitoid *Trichogramma ostriniae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 116 (2): 127-134.
- Lombarkia, N., Derridj, S. 2002. Incidence of apple fruit and leaf surface metabolites on *Cydia pomonella* oviposition. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 104 : 79-87.
- Lucas, E. 2005. Intraguild predation among aphidophagous predators. *European Journal of Entomology*, 102: 351-364.
- Makee, H. 2005. Factors influencing the parasitism of codling moth eggs by *Trichogramma cacoeciae* March. and *T. principium* Sug. et Sor. (Hymen. Trichogrammatidae). *Journal of Pest Science*, 78 (1) : 31-39.
- McDougall, S. J. 1995. The potential of inundative releases of *Trichogramma platneri* Nagarkatti and orchard sanitation for the control of codling moth, *Cydia pomonella* (L.) in apples in California. University of California, Berkeley, 155 pages.
- McDougall, S. J. & Mills, N. J. 1997. Dispersal of *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hym., Trichogrammatidae) from point-source releases in an apple orchard in California. *Journal of Applied Entomology*, 121: 205-209.
- Meyhöfer, R. & Klug, T. 2002. Intraguild predation on the aphid parasitoid *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) (Hymenoptera: Aphidiidae): mortality risks and

behavioral decisions made under the threats of predation. *Biological Control*, 25 (3): 239-248.

Mills, N. J. & Daane, K. M. 2005. Biological and cultural controls : nonpesticide alternatives can suppress crop pests. *California Agriculture*, 59 (1) : 23-28.

Mills, N., Pickel, C., Mansfield, S., McDougall, S., Buchner, R., Caprile, J., Edstrom, J., Elkins, R., Hasey, J., Kelley, K., Krueger, B., Olson, B. & Stocker, R. 2000. Mass release of *Trichogramma* wasps can reduce damage from codling moth. *California Agriculture*, 54 (6) : 22-26.

Mills, N. J. 2006. Interspecific competition among natural enemies and single versus multiple introductions in biological control. In: *Trophic and Guild Interactions in Biological Control*. Brodeur, J. and Boivin, G. (Eds.). Springer, 191-220.

Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation du Québec. 1996. Contrôle biologique des oeufs de la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*) par des lâchers inondatifs de trichogrammes. *Agriculture et agro-alimentaire Canada*, 16 p.

Ministère du développement durable, de l'environnement et des parcs. 2002. La présence de pesticides dans l'eau en milieu agricole au Québec. http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/eco_aqua/pesticides/causes.htm
Page consultée le 22 juin 2010.

Ministry of agriculture food and rural affairs of Ontario. 2009. Effects of new insecticides on adult codling moth. En ligne. <http://www.omafra.gov.on.ca/english/crops/hort/news/orchnews/2009/on0209a8.htm>.
Page consultée le 13 novembre 2009.

Moffit, H. R., Drake, S. R., Toba, H. H. & Hartshell, P. L. 1992. Comparative efficacy of methyl bromide against codling moth (Lepidoptera : Tortricidae) larvae in Bing and Rainier cherries and confirmation of efficacy of a quarantine treatment for Rainier cherries. *Journal of Economic Entomology*, 85 : 1855-1858.

Monje J. C., Zebitz, C. P. W. & Ohnesorge B. 1999. Host and host age preference of *Trichogramma galloi* and *T. pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared on different hosts, *Journal of Economic Entomology*, 92 (1): 97-103.

Nagarkatiti, S., Tobin, P. C., Saunders, M. C. & Muza, A. J. 2003. Release of native *Trichogramma minutum* to control grape berry moth. *The Canadian Entomologist*, 135 : 589-598.

- Nakai, M. & Kunimi, Y. 1997. Granulosis virus infection of the smaller tea tortrix (Lepidoptera : Tortricidae) : effect on the development of the endoparasitoid, *Ascogaster reticulatus* (Hymenoptera : Braconidae). *Biological Control*, 8 : 74-80.
- Pak, G.A. 1986. Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: a review of the literature on host-age selection. *Journal of Applied Entomology*, 101: 55-64.
- Pak, G. A., & Van Heiningen, T. G. 1985. Behavioural variations among strains of *Trichogramma* spp.: adaptability to field-temperature conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 38 : 3-13.
- Pederson, B. S. & Mills, N. J. 2004. Single vs. multiple introduction in biological control: the roles of parasitoid efficiency, antagonism and niche overlap. *Journal of Applied Ecology*, 41 (5) : 973-984.
- Pinto, J.D. & Stouthamer, R. 1994. Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on *Trichogramma*. E. Wajnberg et S.A. Hassan (éds.), *Biological control with egg parasitoids*. CAB International, Wallingford : 1-28.
- Pszczolkowski, M. A. & Brown, J. J. 2005. Single experience learning of host fruit selection by lepidoptera larvae. *Physiology and Behavior*, 86 : 168-175.
- Pszczolkowski, M. A., Matos, L. F., Brown & R. Brown, J. J. 2002. Feeding and development of *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera : Tortricidae) larvae on apple leaves. *Annals of the Entomological Society of America*, 95 (5) : 603-607.
- Reuveny, H. & Cohen, E. 2004. Resistance of the codling moth *Cydia pomonella* L. (Lep., Tortricidae) to pesticides in Israel. *Journal of Economic Entomology*, 128 : 645-651.
- Reznik, S. Y. & Umarova, T. Y. 1991. Host population density influence on host acceptance in *Trichogramma*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 58 : 49-54.
- Salt, G. 1940. Experimental studies in insect parasitism : the effects of different hosts on the parasite *Trichogramma evanescens* Westw. (Hym. Chalcidoidea). *Proceedings of the Royal Entomological Society of London*, 15 : 81-94.
- SAS Institute, 2002. SAS 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Schmidt, J.M. 1994. Host recognition and acceptance by *Trichogramma*. In Wajnberg, E. et S.A. Hassan (éds.). *Biological control with egg parasitoids*. CAB International, Wallingford: 165-200.

- Schmidt, J. M. & Smith, J. J. B. 1985a. Host volume measurement by the parasitoid wasp *Trichogramma minutum* : The roles of curvature and surface area. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 39 : 213-221.
- Schmidt, J. M. & Smith, J. J. B. 1985b. The mechanism by which the parasitoid wasp *Trichogramma minutum* responds to host clusters. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 39 : 287-294.
- Sheppard, R. E. & Stairs, G. R. 1976. Effects of dissemination of low dosage levels of a granulosis virus in populations of the codling moth. *Journal of Economic Entomology*, 69: 583-586.
- Smith, S. M. 1996. Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. *Annual Review of Entomology*, 41: 375-406.
- Snyder, W. E., Ballard, S. T., Yang, S., Clevenger, G. M., Miller, T. D., Ahn, J. J., Hatten, T. D. & Berryman, A. A. 2004. Complementary biocontrol of aphids by the ladybird beetle *Harmonia axyris* and the parasitoid *Aphelinus asychis* on greenhouse roses. *Biological Control*, 30 : 229-235.
- Snyder, W. & Ives, A. R. 2003. Interactions between specialist and generalist natural enemies : parasitoids, predators, and pea aphid biocontrol. *Ecology*, 84 (1) : 91-107.
- Stara, J., Nadova, K., Kokourek, F. 2006. Insect resistance in the codling moth (*Cydia pomonella*). *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 14 (3): 99-106.
- Stark, D. M., Mills, N. J. & Purcell, A. H. 1999. Interactions between the parasitoid *Ametadorai misella* (Diptera : Tachinidae) and the granulovirus of *Harrisina brillians* (Lepidoptera : Zygaenidae). *Biological Control*, 14 : 146-151.
- Stinner, R. E. 1977. Efficacy of inundative releases. *Annual Review of Entomology*, 22: 515-531.
- Subinprasert, S. & Svensson, B.W. 1988. Effects of predation on clutch size and egg dispersion in the codling moth *Laspeyresia pomonella*. *Ecological Entomology*, 13 : 87-94.
- Stiling, P. & Cornelissen, T. 2005. What makes a successful biocontrol agent? A meta-analysis of biological control agent performance. *Biological Control*, 34 : 236-246.

- Stocker, R., Pickel, C., Mills, N. & Ramos, D. 2002. Aerial release of *Trichogramma* to control codling moth. Pest Management Grants Final Report, California Department of Pesticide Regulation, 16 p.
- Tanada, Y., 1964. A granulosis virus of the codling moth, *Carpocapsa pomonella* (Linnaeus) (Olethreutidae, Lepidoptera). *Journal of Insect Pathology*, 6 : 378-380.
- Tanada, Y. & Leutenegger, R. 1968. Y. Histopathology of a granulosis virus disease of the codling moth, *Carpocapsa pomonella*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 10: 39-47.
- Telenga, N. A. & Dyadechko, N. P. 1957. Manuscript Coll. C.I.L.B. on the population dynamics and biological control of the potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). Hamburg. 126 p.
- Thomson, D. R.; Brunner, J. F.; Gut, L. J.; Judd, G. J. R. & Knight, A. L. 2001. Ten years implementing codling moth mating disruption in orchards of Washington and British Columbia: managing for success. *IOBC/WPRS Bull.* 24, 23 - 30.
- Thurston, G. S., Kaya, H. K. & Gaugler, R. 1994. Characterizing the enhanced susceptibility of milky disease-infected scarabaeid grubs to entomopathogenic nematodes. *Biological Control*, 4: 67-73.
- Unruh, T. R. & Lacey, L. A. 2001. Control of codling moth, *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae), with *Steinernema carpocapsae*: effects of supplemental wetting and pupation site on infection rate. *Biological control*, 20 (1): 48-56.
- Vail, P. U., Tebbets, J. S., Curtis, C. E. & Jenner, K. E. 1993. Infestation rates and biological observations after harvest of codling moth (Lepidoptera : Tortricidae) in stored inshell walnuts. *Journal of Economic Entomology*, 86 : 1761-1765.
- Van Den Bosch, R., Leigh, L. A., Falcon, L. A., Stern, V. M., Gonzales, D. & Hagen, K. S. 1971. « The developing program of integrated control of cotton pests in California. » Dans : *Biological Control*, C. B. Huffaker, ed., New York, p. 377-394.
- Van Driessh, R.G.V. & Bellows, T. S. 1996. Biology and arthropod parasitoids and predators. In *Biological Control*. Chapman and Hall, International Thompson Publishing, NY, p. 309 - 335.
- Varela, L., Welter, S. C., Jones, V. P., Brunner, J. F. & Riedl, H. 1993. Monitoring and characterization of insecticide resistance in codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in four western states. *Journal of Economic Entomology*, 86: 1-10.

- Versoi, P.L. & Yendol, W.G. 1982. Discrimination by the parasite, *Apanteles melanoscelus*, between healthy and virus-infected gypsy moth larvae. *Environmental Entomology*, 11 (1) : 42-45.
- Vieira, A., Oliveira, L. & Garcia, P. 2001. Effects of conventional pesticides on the preimaginal developmental stages and on adults of *Trichogramma cordubensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biocontrol Science and Technology*, 11: 527-534.
- Vincent, C. & Bostanian, N. J. 1992. « La protection des vergers de pommiers au Québec : état de la question ». Dans *Points de vue sur la protection des vergers au Québec*, sous la direction de C. Vincent et B. Rancourt. Saint-Jean-sur-Richelieu : Agriculture Canada. p. 129-146.
- Vinson, S B., 1976. Host selection by insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 21: 109-134.
- Yokoyama, V. Y. & Miller, G. T. 1999. Host status of fresh preunes by potential quarantine pests in laboratory tests and evaluation of packinghouse culls. *Journal of Economic Entomology*, 92 : 485-489.
- Yu, D. S. K., Hagley, A. C & Laing, J. E. 1984. Biology of *Trichogramma minutum* Riley collected from apples in southern Ontario. *Environmental Entomology*, 13 : 1324-1329.
- Zhang, Y. & Cossentine, J. E. 1995. *Trichogramma platneri* (Hym.: Trichogrammatidae): Host choices between viable and nonviable codling moth, *Cydia pomonella*, and three-lined leafroller, *Pandemis limitata* (Lep.: Tortricidae) eggs. *Entomophaga*, 40 (3-4): 457-466.