

LA DROSOPHILE À AILES TACHETÉES

NOUVELLES AVANCÉES SUR LA MÉTHODE DES LÂCHERS DE MÂLES STÉRILES

ANNABELLE FIRLEJ¹, ÉLISABETH MÉNARD¹, KIM OSTIGUY¹, VALÉRIE BERNIER-ENGLISH², DANIEL POULIOT², MARIANNE LAMONTAGNE-DROLET² ET FRANÇOIS-SIMON ROBERT³

¹ Institut de recherche et de développement en agroenvironnement | ² Onésime Pouliot inc. | ³ Berger

La drosophile à ailes tachetées (DAT), *Drosophila suzukii* (Matsumura), est un insecte ravageur exotique originaire d'Asie (Kanzawa 1936). Les femelles de *D. suzukii* peuvent pondre jusqu'à 400 œufs sous la pelure des fruits et contrairement aux autres mouches à fruits, elle pond ses œufs dans des fruits en mûrissement proche d'être récoltés (Figure 1). Les dommages occasionnés aux petits fruits sont dus à la larve qui se nourrit de l'intérieur du fruit. Ce ravageur peut réaliser une génération en 8 à 10 jours à 25 °C et de 7 à 15 générations peuvent se succéder dans une saison de culture selon les pays et leurs conditions climatiques (Cini et al. 2012). Les premiers adultes sont capturés à la mi-juin au Québec et demeurent présents jusqu'à la fin novembre (Firlej et Vanoosthuyse 2017). Cette mouche est donc particulièrement problématique pour la culture de la framboise longue canne. De 7 à 10 traitements insecticides peuvent être réalisés contre ce ravageur durant la saison de production de ces cultures (Cini et al. 2012), mais en régie biologique seulement trois traitements sont autorisés, dont une limite de deux traitements consécutifs. Les dommages à la récolte peuvent occasionner jusqu'à 100 % de perte à certains moments de la saison et sous régie biologique.



Figure 1. Femelle *Drosophila suzukii* adulte sur framboise.
© Laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection - MAPAQ

MÉTHODE DE LUTTE DÉVELOPPÉE

Parmi les méthodes prometteuses pour lutter contre *D. suzukii*, il y a les lâchers de mâles de DAT stériles. La technique repose sur la production en masse du ravageur à éradiquer (Figure 2), puis l'irradiation des pupes ou des adultes qui sont ensuite relâchés en grande quantité dans la nature pour que les mâles ainsi stérilisés s'accouplent avec les femelles sauvages, résultant en l'absence de descendance (Klassen et Curtis 2005). Les lâchers peuvent se faire avec les stades pupes ou adultes de l'insecte en question, directement au champ. À la suite de lâchers de mâles stériles sur plusieurs générations, une population d'insectes nuisibles peut être réduite sous un seuil acceptable, voire être éradiquée (Klassen et Curtis 2005). Cette technique développée dans les années 1950 a connu depuis de beaux succès, avec notamment les lâchers de mâles stériles pour lutter contre la mouche méditerranéenne des fruits, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) en Amérique centrale

(Hendrichs et al. 2002). Au Québec, cette technique est utilisée avec succès pour lutter contre la mouche de l'oignon, *Delia antiqua* (Fournier et Brodeur 2009, 2012).



Figure 2. Élevage de drosophiles à ailes tachetées.
© Annabelle Firlej



AVANCÉES AU QUÉBEC DEPUIS 2014

Le potentiel de cette technique appliquée à la DAT a été étudié à travers le monde, notamment au laboratoire de l'IRDA à Saint-Bruno-de-Montarville via différents projets subventionnés.

Depuis 6 ans, de nombreuses expériences ont permis de déterminer une dose d'irradiation adéquate pour des lâchers de mâles stériles sur le terrain (Lanouette et al. 2017, 2020) et de valider les effets de cette dose sur les paramètres biologiques et comportementaux des mâles irradiés (résumé dans le tableau 1).

Tableau 1. Résumé des expériences terminées.

Paramètres	Résultats
Dose d'irradiation	120 à 140 grays
Stade irradié	Pupe de 5 jours
Longévité post-irradiation mâle	9 jours
Émergence	88 %
Malformation	4 %
Stérilité	96 %

(Firlej et al. 2017; Lanouette et al. 2017, 2020 et données non publiées)

OBJECTIFS

Plusieurs paramètres importants restaient à être étudiés afin d'optimiser la technique pour des lâchers en production commerciale :

1. L'effet des conditions de température sur l'émergence et la compétitivité des mâles irradiés pour optimiser les ratios de lâcher en conditions de cultures de framboises.
2. La compatibilité des drosophiles stériles avec les produits biologiques homologués utilisés contre d'autres ravageurs des framboises (punaises ternes, acariens et pucerons).

L'EFFET DE LA TEMPÉRATURE SUR LES MÂLES IRRADIÉS

Méthodologie

Les pupes ont été stérilisées à l'aide d'un Gamma Cell 3000 (Best Theratronics, Canada) avec du Césium 137 au Centre de recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal à la dose de 140 Gy. Pour chaque température et pour les pupes irradiées ou non, les mêmes manipulations ont été réalisées.

Cinquante pupes étaient sélectionnées, puis déposées individuellement dans un pétri avec de la gaze dans une boîte de plastique avec une source d'eau, de sucre et de levure pour les adultes. Toutes les boîtes ont ensuite été déposées dans leur incubateur respectif selon la température du traitement (10, 15, 20, 25, 30 et 35 °C). L'émergence et la mortalité des adultes ont été observées pendant 10 jours. Également, des pupes étaient placées en plaque Elisa pour vérifier les taux de malformation des *D. sukikii* ainsi que la proportion de mâles émergents (sex-ratio).

La compétitivité des mâles stériles fut observée en plaçant :

- 10 femelles fertiles avec 10 mâles stériles
- 10 femelles fertiles avec 10 mâles fertiles
- 10 femelles fertiles avec 10 mâles stériles et 10 mâles fertiles

La compétitivité a donc été calculée en comparant le nombre d'œufs pondus entre les trois assemblages. L'assemblage de femelles fertiles et mâles stériles est en fait un témoin positif et l'assemblage de femelles fertiles et mâles fertiles est un témoin négatif. Ces deux témoins peuvent ensuite être comparés avec le troisième assemblage pour lequel nous nous attendons à observer 50 % moins d'œufs que dans le témoin négatif si les mâles stériles sont compétitifs et ont autant de chance de s'accoupler avec une femelle qu'un mâle fertile.

Les œufs pondus par les femelles fertiles ont été ramassés pendant 4 jours et incubés pour obtenir le taux d'éclosion (Figure 3).

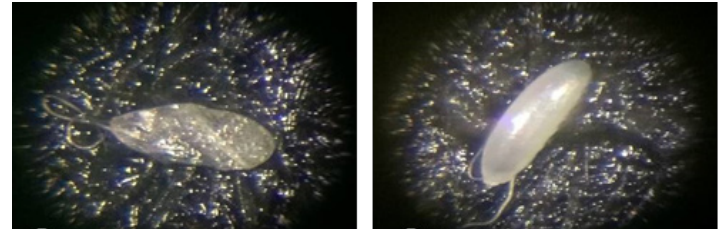


Figure 3. Oeuf éclo (gauche) et œuf non éclo (droite).

© Kim Ostiguy

Résultats

De manière générale, la température a un effet sur les *D. sukikii* quelle que soit leur condition (irradiées ou non irradiées) et bien souvent, le traitement d'irradiation n'a pas d'effet sur les paramètres mesurés ou n'interagit pas avec la température.

Émergence : La température de 10 °C a un effet négatif significatif sur les individus, qu'ils soient irradiés ou pas. En effet, sur un total de 50,0 pupes, l'émergence de 34,2 adultes irradiés et 43,0 adultes témoins a été observée en moyenne à 10 °C. Entre 15 °C et 30 °C, avec ou sans irradiation, les pourcentages d'émergences étaient similaires (96,0 % ou 48,0 individus en moyenne). Aucune émergence n'a été observée à 35 °C

Mâles émergés : La température a un effet significatif sur le nombre de mâles qui émergent, qu'ils soient irradiés ou pas. La plus petite proportion de mâles est de 0,4 à 20 °C et la plus forte est de 0,5 à 25 °C. Le pourcentage de mâles irradiés qui émergent est de 49,0 %, comparativement à 45,0 % pour les mâles non irradiés ($p > 0,05$).

Malformations : La température a un effet significatif sur les malformations des mâles, qu'ils soient irradiés ou pas. Les températures de 15 °C et 25 °C provoquent significativement moins de malformations (6,2 % et 11,2 %) que la température de 30 °C (25,4 %). Même si le pourcentage de malformations est de 17,7 % pour les individus irradiés et de 12,9 % pour les individus non irradiés, cette différence n'est pas significative ($p > 0,05$).

Mortalité : Une fois émergés, les adultes non irradiés ont un taux de mortalité de 8,3 % significativement inférieur aux adultes irradiés, dont le taux de mortalité est de 13,4 % après 10 jours. De manière générale, les adultes survivent mieux à une température de 15 °C comparativement aux autres températures (6,2 % à 15 °C contre 14,5 % à 25 °C (valeur la plus haute)).

Nombre d'œufs pondus : La température a un effet significatif ($F = 76,94$; $p < 0,0001$) sur le nombre d'œufs pondus. Effectivement, pendant la durée de l'expérience, il y a en moyenne 33,9 œufs pondus à 10 °C, comparativement à 160,5 œufs en moyenne à 25 °C.

Seules les données pour les individus irradiés sont présentées au tableau qui suit.

Tableau 2. Effet de la température par moyennes estimées sur les différents paramètres observés pour les mâles stérile (\pm écart-type).

Paramètres	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C	35 °C
Nombre d'émergence pour 50 pupes	34,2 \pm 0,4	48,8 \pm 0,5	47,9 \pm 0,5	49,3 \pm 0,5	49,0 \pm 0,7	0
Pourcentage de mâles stériles émergés	49,60 %	50,30 %	43,80 %	50,60 %	49,70 %	NA
Malformations	26,3 \pm 4,3	10,9 % \pm 4,3	18,9 % \pm 5,1	11,80 % \pm 4,3	20,5 % \pm 4,3	NA
Mortalité après 10 jours	15,7 \pm 2,3	7,7 % \pm 1,4	13,5 % \pm 2,1	18,5 % \pm 2,1	13,8 % \pm 2,1	NA
Nombre d'oeufs pondus	0	38,0 % \pm 6,9	79,0 % \pm 9,4	157,5 % \pm 13,2	75,7 % \pm 9,2	NA

Il y a en moyenne 3,9 % des œufs qui éclosent à la suite de l'accouplement entre des mâles stérilisés à 140 Gy et des femelles fertiles (Figure 4). Le taux d'éclosion est de 82,6 % quand les femelles sont en présence de mâles fertiles (Figure 4). Enfin, en situation de compétition, le pourcentage d'œufs éclos est de 54,0 %, ce qui est proche du pourcentage d'efficacité attendu de 41,3 % pour la technique de lutte avec insectes stériles (82,6 %/2) si l'on considère une bonne compétitivité des mâles.

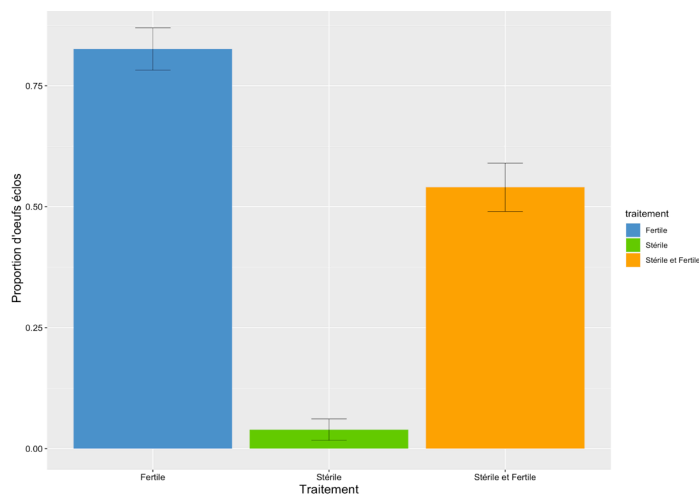


Figure 4. Proportion d'œufs éclos en moyenne (\pm écart-type) en fonction des différents traitements. Les lettres différentes démontrent une différence significative à $p < 0,05$ avec un modèle linéaire mixte généralisé. Éclos (gauche) et œuf non éclos (droite).

Pour résumer, la température a un effet significatif sur le nombre d'œufs pondus par les DAT femelles, ce qui suit la logique des connaissances actuelles sur l'effet de la température sur la fécondité des femelles (Torchen et al. 2014). Il apparaît que la compétitivité des mâles irradiés à 140 Gy n'est pas affectée par la température, ce qui représente un élément positif pour les lâchers extérieurs.

LA TOXICITÉ DES BIOINSECTICIDES SUR LES MÂLES IRRADIÉS

Méthodologie

La même méthodologie a été utilisée pour ce test, cependant, il y a eu trois répétitions temporelles de cinq répétitions d'irradiation afin d'avoir 15 répétitions pour chacun des traitements et chacun des produits testés. La dose d'irradiation testée a été de 140 Gy.

Les bioinsecticides choisis correspondent aux homologations sous réglementation biologique acceptées en culture de framboises au moment de la création du protocole. Le Bioceres G WP a été ajouté, car son homologation semble être à venir pour l'été 2020 (Liette Lambert, 2020). Les différentes concentrations d'insecticides ont été calculées avec une base de 500 L d'eau/ha si l'étiquette ne mentionnait pas un volume de pulvérisation spécifique (Tableau 3).

Pour exposer les fruits aux différents produits, 10 framboises étaient trempées individuellement pendant 10 secondes dans chaque solution afin de permettre un bon recouvrement des fruits. Ces derniers étaient ensuite mis à sécher pendant 20 minutes (Figure 5). Par la suite, une framboise a été mise par enceinte expérimentale de 6 oz avec un mâle stérile ou fertile selon le traitement. Quarante-cinq DAT mâles stériles et 45 DAT mâles fertiles ont été utilisés par répétition temporelle (22 °C, 70 % HR, 16 L : 8 N). Le traitement témoin consistait à tremper les fruits dans l'eau distillée. La mortalité des individus a été observée à 24, 48, 72 et 96 heures après le traitement.

La mortalité des individus stériles a été analysée à l'aide d'une courbe de survie (SAS Institute). Les différents produits ont été qualifiés en fonction de leur toxicité selon le taux de mortalité des individus dans les essais en laboratoire en respectant la codification suivante (Boller et al. 2006): 0 – 29 % : inoffensif, 30 – 79 % : modérément toxique, 80 – 99 % : toxique, 99 – 100 % : très toxique.

La courbe de survie a été effectuée à l'aide de la procédure PROC LIFETEST de SAS (version 9.4). Les probabilités de survie aux 24 heures ont été calculées par la méthode de Kaplan-Meier. L'analyse est basée sur le temps de survie de chaque individu observé à 24, 48, 72 et 96 heures après le traitement. Si un individu est perdu en cours d'expérience ou si la mort n'est pas encore survenue après 96 heures, la donnée est retirée.

Tableau 3. Doses préparées dans une solution de 0,2 L pour le test de toxicité pour chacun des produits homologués sous réglementation biologique en culture de framboise.

Biopesticides	Dose recommandée	Volume de pulvérisation
Pyganic Crop protection EC 1,4 II	4,65 L/ha	500 L/ha
Entrust™ Insecticide	0,44 L/ha	500 L/ha
Vegol huile de culture	2 %	100 u
PureSpray Green Oil	1 %	100
Phytoprotecteur Surround® WP	25 Kg/ha	500 L/ha
Safer's Savon insecticide Concentré	2 %	100 u
Dipel® 2X DF	1,125 Kg/ha	600 L/ha
Bioceres G WP	4 Kg/ha	1000 L/ha



Figure 5. Exemple de trempage d'un fruit, séchage et introduction en enceinte expérimentale.

© Kim Ostiguy

Résultats

L'analyse (ajustement pour comparaisons multiples pour le test LogRank) a révélé que le traitement d'irradiation n'a pas d'effet sur la susceptibilité aux biopesticides ($X^2=0,9971$; $p=0,3180$ où la p-value est la valeur Sidak associée à la probabilité de survie des individus irradiés et témoins). En d'autres mots, les effets des biopesticides sont les mêmes pour des mâles stériles et fertiles. Le tableau 4 résume les différents résultats de l'essai. Les mâles stériles sont compatibles avec différents produits phytosanitaires utilisés pour la gestion des acariens ravageurs, des pucerons (Safer's Savon insecticide Concentré, Vegol huile de culture, Purespray) et des chenilles défoliatrices (Dipel®2X DF et Bioprotec CAF). Seuls les produits Entrust™ Insecticide et Pyganic Crop protection EC 1,4 II sont plus toxiques et ceux-ci sont homologués pour les chenilles défoliatrices (Entrust™ Insecticide), les cicadelles et les pucerons (Pyganic Crop protection EC 1,4 II).

Tableau 4. Pourcentage de mortalité chez des mâles stériles exposés à différents produits phytosanitaires et leur codification OILB (OILB, 2005)

Produit	Chartre OILB	Délai d'effet	Pourcentage de mortalité
Entrust™ Insecticide	Très toxique	48 h	100,00 %
Pyganic Crop protection EC 1,4 II	Modérément toxique	96 h	70,00 %
Safer's Savon insecticide Concentré	Modérément toxique	96 h	43,00 %
Bioceres G WP	Inoffensif	96 h	13,30 %
Dipel® 2X DF	Inoffensif	96 h	6,70 %
PureSpray Green Oil	Inoffensif	96 h	23,30 %
Phytoprotecteur Surround® WP	Inoffensif	96 h	16,70 %
Vegol huile de culture	Inoffensif	96 h	24,10 %
Témoin (eau)	Inoffensif	96 h	20,00 %

La meilleure stratégie à retenir est d'utiliser ces produits non compatibles en début de saison, quand les drosophiles stériles ne sont pas encore introduites sur le terrain. Ensuite, des produits compatibles sont à préconiser, tout en ajustant la dose de mâles à relâcher considérant une faible perte d'individus. Également, les applications de produits non compatibles peuvent se faire à des périodes où les drosophiles sont moins actives aux champs (milieu de journée). Cependant, cette période d'application peut favoriser une dégradation plus rapide des produits à cause des rayonnements UV et une apparition de phytotoxicité sur les feuilles des framboisiers. L'aspect le plus intéressant de ces résultats est que les mâles stériles ne sont pas plus susceptibles aux biopesticides que les mâles témoins.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Alessandro Dieni, Sandra Mougeot, Marie-Pier Ricard et Phanie Bonneau pour l'aide apportée durant ces expériences.

RÉFÉRENCES

- Boller, E. F., Vogt, H., Ternes, P. et Malavolta, C. 2006. Working document on selectivity of pesticides (2005). Internal newsletter issued by the publication commission for the IOBC/wrps council and executive committee issue. 40.
- Cini, A. et al. 2012. A review of the invasion of *Drosophila suzukii* in Europe and a draft research agenda for integrated pest management. Bulletin of Insectology 65 : 149-160.
- Firlej, A. et F. Vanoothuuse. 2017. Revue de littérature : La drosophile à ailes tachetées, un ravageur des petits fruits au Québec IRDA. 93 p.
- Firlej, A., J. Brodeur, V. Martel, F. Fournier. 2017. « Les lâchers d'insectes stériles comme méthode de lutte biologique contre la drosophile à ailes tachetées : protocole de stérilisation, compétitivité des mâles irradiés et lâchers en conditions semi-naturelles ». IRDA. 43 p.
- Fournier, F. et L. Brodeur. 2009. Amélioration de la méthode d'élevage et d'entreposage à long terme de la mouche de l'oignon (*Delia antiqua*) et validation de l'efficacité des lâchers inondatifs de mâles stériles au champ. Rapport final réalisé dans le cadre du programme Prime-Vert, Volet 11 – Appui à la Stratégie phytosanitaire, numéro du projet : PHYD-1-SPP-07-049, 7 pages.
- Fournier, F. et L. Brodeur. 2012. Optimisation de la stratégie de lâchers inondatifs d'insectes stériles pour le contrôle biologique de la mouche de l'oignon (*Delia antiqua*), Rapport final réalisé dans le cadre du programme Prime-Vert, Volet 11 – Appui à la Stratégie phytosanitaire, numéro du projet : 1516, 9 pages.
- Hendrichs, J. et al. 2002. Medfly areawide sterile insect technique programmes for prevention, suppression or eradication: the importance of mating behavior studies. Florida Entomol. 85 :1-13.
- Kanzawa, T. 1936. Studies on *Drosophila suzukii* Mats. J. Plant Protec. (Tokyo) 23 : 66-70. 127-132, 183-191. Résumé dans Review of applied Entomology 24 : 315.
- Klassen, W. et C. Curtis. 2005. History of the sterile insect technique. Pages 3-36 dans V. Dyck, J. Hendrichs et A. Robinson, éditeurs. Sterile Insect Technique. Springer, Pays-Bas.
- Lanouette G. et al. 2017. The sterile insect technique for the management of the spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*: Establishing the optimum irradiation dose. PLOS ONE.
- Lambert, L., 2020. Biostimulants et biopesticides : où en sommes-nous? [Conférence]. Colloque Bio pour tous!. Victoriaville. <https://cetab.bio/evenements/colloque-2020/>
- SAS Institute Inc. 2014. SAS/STAT® 13.2 User's Guide. The Lifetest Procedure. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- SAS Institute Inc. 2007. Chapter 1 What Survival Analysis Is About, Cary, NC: SAS Institute Inc. Consulté sur <http://support.sas.com/publishing/pubcat/chaps/58416.pdf>
- Tochen, S., D.T. Dalton, N. Wiman, C. Hamm, P.W. Shearer et V.M. Walton. 2014. Temperature-related development and population parameters for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on cherry and blueberry. Environ. Entomol. 43(2) : 501-510.

PARTENAIRES DE RÉALISATION ET DE FINANCEMENT



Ce projet est financé par le programme fédéral Agri-science, une initiative quinquennale de 338 millions de dollars du Partenariat canadien pour l'agriculture, qui appuie la découverte de pointe, les sciences appliquées et l'innovation axées sur les priorités de recherche de l'industrie.

POUR EN SAVOIR D'AVANTAGE

Annabelle Firlej, Ph. D.
Chercheuse en entomologie fruitière
450 653-7368, poste 363
annabelle.firlej@irda.qc.ca