



Phénologie et modèles prévisionnels d'éclosion printanière pour trois arthropodes ravageurs en plantation commerciale d'arbres de Noël dans un contexte de changements climatiques

Mémoire

Jean-François Doherty

Maîtrise en biologie
Maître ès sciences (M. Sc.)

Québec, Canada

© Jean-François Doherty, 2017

**Phénologie et modèles prévisionnels d'éclosion
printanière pour trois arthropodes ravageurs en
plantation commerciale d'arbres de Noël dans un
contexte de changements climatiques**

Mémoire

Jean-François Doherty

Sous la direction de :

Conrad Cloutier, directeur de recherche

Résumé

Le puceron des pousses du sapin *Mindarus abietinus* et le tétranyque de l'épinette *Oligonychus ununguis* sont deux ravageurs d'importance économique pour l'industrie des arbres de Noël au Québec. Les changements climatiques en cours pourraient affecter leur biologie et physiologie de telle sorte que leurs dommages sur les sapins cultivés augmentent dans les prochaines décennies. Afin d'étudier les interactions entre *M. abietinus*, son arbre-hôte et la température ambiante, j'ai suivi des populations du puceron pendant trois étés dans des sapinières commerciales du sud du Québec. Entre autres, j'ai montré qu'il est possible de séparer correctement les générations chevauchantes de filles ailées et aptères du cycle vital complexe de *M. abietinus*, ce qui m'a permis d'observer une proportion de filles aptères plusieurs fois supérieure à ce qui était connu auparavant. Dans une expérience en plantation de sapin baumier, j'ai montré qu'un milieu réchauffé causerait une augmentation significative du taux de croissance des colonies de *M. abietinus* sur les pousses, en comparaison avec les colonies sous conditions naturelles actuelles. Ces résultats supportent l'hypothèse qu'un climat plus chaud, causé par les changements anthropogéniques, pourrait favoriser des densités plus élevées de *M. abietinus*, ce qui pourrait augmenter ses dommages esthétiques sur le sapin. Dans une expérience de laboratoire, la durée du développement en fonction de la température des œufs de ces deux ravageurs et de ceux d'une autre espèce, la cochenille des aiguilles du pin *Chionaspis pinifoliae*, a été mesurée en milieu contrôlé, ce qui m'a permis d'élaborer des modèles prévisionnels linéaires et non linéaires du taux de développement des œufs hivernés postdiapausants nouveaux pour le Québec. Finalement, en suivant la masse fraîche d'œufs hivernants de *M. abietinus* tout au long de leur diapause de plusieurs mois, j'ai observé un accroissement de la masse au printemps, impliquant l'eau comme possible facteur de déclenchement de l'embryogenèse.

Abstract

The balsam twig aphid *Mindarus abietinus* and the spruce spider mite *Oligonychus ununguis* are two pests of economic importance for the Christmas tree industry in Québec. Current climate change could affect their biology and physiology in such a way that, if their local densities in commercial fir plantations grow in the future, potential damage to cultivated firs could increase substantially. In order to study the interactions between *M. abietinus*, its host tree, and ambient temperature, I followed populations of the aphid during three consecutive summers in commercial fir plantations of southern Québec. I found it possible to separate overlapping generations of different morphs of this aphid in growing colonies on fir shoots, which allowed to record a proportion of wingless daughters several times larger than previously known for this aphid in its complex life cycle. Based on a field experiment, a warmer environment surrounding the aphids on balsam fir shoots increased spring colony growth rates significantly, when compared to unaltered colonies on neighbouring trees. These results support the hypothesis that a warmer climate, caused by anthropogenic change, would promote higher densities of *M. abietinus* on fir shoots, which could increase esthetic damage to Christmas trees. In a laboratory experiment, I studied the effect of ambient temperature on postdiapause development of the overwintering eggs of both aphid and mite species, along with that of another conifer-feeding pest, the pine needle scale *Chionaspis pinifoliae*, which led to parametrise new linear and nonlinear development rate models for postdiapause egg development of all three species. Finally, by following fresh mass of *M. abietinus* overwintering eggs throughout their diapause of several months, it was possible to observe a substantial increase in size and mass of these eggs in early spring, suggesting that water could trigger diapause termination and/or initiate embryogenesis of the first active stage.

Table des matières

Résumé	III
Abstract	IV
Table des matières	V
Liste des tableaux	VII
Liste des figures	VIII
Remerciements	XII
Avant-propos	XIII
Chapitre 1 : Introduction générale	1
Biologie de <i>Mindarus abietinus</i>	1
Biologie d' <i>Oligonychus ununguis</i>	5
Taux de développement selon l'arbre-hôte	7
Terminaison de la diapause des œufs hivernants	9
Changements climatiques et les conséquences sur la phénologie	11
Développement des arthropodes en fonction de la température	14
Modélisation du développement d'un arthropode selon la température	14
Modèles de développement prévisionnels existants pour les deux espèces	18
Problématique	20
Objectifs et hypothèses	20
Chapitre 2 : Temperature-manipulated dynamics and phenology of <i>Mindarus abietinus</i> (Hemiptera: Aphididae) in commercial Christmas tree plantations in Québec, Canada	23
Résumé	23
Abstract	23
Introduction	24
Material and methods	27
Field study sites and experimental plots	27
Climate-warming field experiment	28
Phenology of <i>Mindarus abietinus</i> on different fir species	29
Statistical analyses	29
Results	30
Climate-warming field experiment (plot B1)	30
Colony growth rate in a warmer environment	30
Proportion of G2 apterae in a warmer environment	31
Phenology of <i>Mindarus abietinus</i> (all four plots)	31
Phenology on balsam fir	31
Generational separation of G2 and G3 alate daughters	31
Impact of host species (all four plots)	32
Discussion	32
Acknowledgements	37

Chapitre 3 : Novel temperature-dependent development rate models for postdiapause egg eclosion of three important arthropod pests found in commercial Christmas tree plantations of southern Québec, Canada	46
Résumé	46
Abstract	46
Introduction	47
Material and methods	52
Sample collection and experimental arenas	52
Experimental temperatures	53
Analytical methods	53
Development rate models	53
Field validation	54
Statistical analyses: fitting development rate models	54
Results	55
Development rates	55
Development time and egg survival	55
Accuracy and precision of development rate models	56
Biological temperature parameters	56
Field validation of the linear and Lactin-2 development rate models	57
Discussion	57
Acknowledgements	62
Chapitre 4 : Early springtime water absorption by overwintering eggs of <i>Mindarus abietinus</i> (Hemiptera: Aphididae): possible implications for cold hardiness and diapause termination	71
Résumé	71
Abstract	71
Introduction	72
Material and methods	73
Results	74
Discussion	75
Acknowledgements	76
Chapitre 5 : Conclusion générale	80
Annexe A : Données de l'été 2014	86
Bibliographie	95

Liste des tableaux

- Tableau 1.1** Modèles non linéaires du taux de développement en fonction de la température ambiante couramment utilisés pour estimer les paramètres biologiques de température (T_{min} , T_{opt} et T_{max}). Les constantes empiriques, selon l’auteur, sont a , b , c , d , k , α , et λ ; ψ et R_m représentent le taux maximal de développement et ρ désigne le taux de développement à T_{opt} . T_σ est un paramètre de forme de la courbe et ΔT signifie la gamme de températures pour lesquelles la dégradation physiologique devient le facteur limitant du développement (c.-à-d. lorsque la température dépasse T_{opt} et ralentit le développement de l’organisme) 22
- Table 3.1** Examples of previous estimates of physiological time required for egg eclosion of three arthropod species overwintering as diapause eggs on fir. GDD estimates assume that development rates increase linearly with temperature 64
- Table 3.2** Linear and three nonlinear models of development rate as a function of ambient temperature, which are among the most commonly used to estimate the biological temperature parameters (T_{min} , T_{opt} , T_{max} , and K). Empirical constants are a , b , d , and λ ; ψ represents the maximal development rate and ρ represents the development rate at T_{opt} . In the Lactin-2 and Hilbert and Logan models, ΔT is the range of temperatures above T_{opt} over which physiological breakdown becomes the overriding factor causing rapid development rate decline 65
- Table 3.3** Mean development time and survival rates for postdiapause eggs of three species of Christmas tree herbivores reared in the laboratory under five experimental constant temperature regimes 66
- Table 3.4** Parametrisation of the linear and three nonlinear models for (A) *Mindarus abietinus*, (B) *Oligonychus ununguis*, and (C) *Chionaspis pinifoliae* postdiapause egg development rate, with goodness of fit statistics (MSE and R^2) and biological temperature parameters estimated directly (\pm 95% CI) or indirectly from the model 67
- Table 3.5** Predicted eclosion time (date, dd-mm) for eggs of *Mindarus abietinus*, *Oligonychus ununguis*, and *Chionaspis pinifoliae* in Christmas tree plantations, with observed proportions of egg eclosion for 2015, 2016, and 2017. Predictions based on the linear model (summed with Equation 1) and the Lactin-2 model. See Table 3.2 for model equations 68

Liste des figures

- Figure 1.1** Cycle annuel de développement de *Mindarus abietinus*, allant de l'éclosion de la fondatrice, au début mai, jusqu'à la ponte de l'œuf hivernant, tôt en juillet (inspiré de Deland *et al.* 1998) 2
- Figure 1.2** Filles ailées migrantes (sexuparae) de *Mindarus abietinus* posées sur une pousse de sapin baumier le 23 juin 2016 (photo : Jean-Frédéric Guay) 3
- Figure 1.3** Pseudogalle d'une colonie de *Mindarus abietinus* recouverte de cire produite par les pucerons en développement (23 juin 2016). Deux gouttelettes de miellat sont indiquées par les flèches jaunes et un œuf de syrphe (Diptera : Syrphidae : Syrphinae) est également pointé par la flèche rouge (photo : Jean-Frédéric Guay) 4
- Figure 1.4** Dommages causés par *Oligonychus ununguis* sur les aiguilles du sapin baumier le 9 octobre 2014. Des œufs hivernants, de couleur rouge foncée, sont pointés par les flèches jaunes (photo : Jean-François Doherty) 7
- Figure 2.1** Average daily temperatures around semi-protected and unprotected balsam fir shoots in spring 2015 (A) and 2016 (B), during development of *Mindarus abietinus* stem mothers and their offspring 38
- Figure 2.2** *Mindarus abietinus* colony size (mean \pm standard error) in semi-protected and unprotected balsam fir shoots for 2015 (A) and 2016 (B), where * indicates a significant effect ($P = 0.0001$) and ** indicates a highly significant effect ($P < 0.0001$) of the treatment (increased air temperature around the shoot in the semi-protective shelter). SE, standard error 39
- Figure 2.3** *Mindarus abietinus* proportion (mean \pm standard error) of G2 apterae in semi-protected and unprotected balsam fir shoots for 2015 (A) and 2016 (B). Sample sizes are indicated in the rectangles. SE, standard error 40
- Figure 2.4** Variations of average aphid density per shoot ($n = 45$) in 2015 balsam fir plot B1, with percentage of shoots bearing ≥ 1 aphids (A); seasonal composition (morph, age group) for *Mindarus abietinus* colonies and colony size (mean \pm standard error) (B). Note: the x-axis is not continuous and only represents the series of collection dates. SE, standard error 41
- Figure 2.5** Terminal bud break phenology according to host species (balsam, Fraser, or Canean fir) in 2015 (plots B1, F, and C); fir stages 1 to 5 are based on Osawa *et al.* (1983), wherein stage 2 (*i.e.*, the black rectangles) is when immature *Mindarus abietinus* stem mothers usually migrate onto the newly-exposed shoot of the current year 42
- Figure 2.6** Variations of average aphid density per shoot ($n = 45$) in 2015 Fraser fir plot F, with percentage of shoots bearing ≥ 1 aphids (A); seasonal composition (morph, age

group) for *Mindarus abietinus* colonies and colony size (mean \pm standard error) (B). Note: the x-axis is not continuous and only represents the series of collection dates. SE, standard error 43

Figure 2.7 Variations of average aphid density per shoot ($n = 45$) in 2015 balsam fir plot B2, with percentage of shoots bearing ≥ 1 aphids (A); seasonal composition (morph, age group) for *Mindarus abietinus* colonies and colony size (mean \pm standard error) (B). Note: the x-axis is not continuous and only represents the series of collection dates. SE, standard error 44

Figure 2.8 Variations of average aphid density per shoot ($n = 45$) in 2015 Canaan fir plot C, with percentage of shoots bearing ≥ 1 aphids (A); seasonal composition (morph, age group) for *Mindarus abietinus* colonies and colony size (mean \pm standard error) (B). Note: the x-axis is not continuous and only represents the series of collection dates. SE, standard error 45

Figure 3.1 Observed eclosion of postdiapause eggs of (A) *Mindarus abietinus*, (B) *Oligonychus ununguis*, and (C) *Chionaspis pinifoliae* (data points), as a function of temperature, with the linear and three nonlinear development rate models fitted to the 2017 data. The 2016 data points (triangles) are shown for comparison and were not integrated into model fitting 69

Figure 3.2 Cumulative field growing degree days (GDD) above threshold T_{min} ($^{\circ}\text{C}$) (summed with Equation 1) based on the linear model, with the observed proportion of eggs hatched in the field \pm 95% CI (calculated with the modified Wald method) for (A) *Mindarus abietinus*, (B) *Oligonychus ununguis*, and (C) *Chionaspis pinifoliae*. Gray horizontal bands delimit the 95% confidence interval of the thermal constant K 70

Figure 4.1 *Mindarus abietinus* overwintering eggs on balsam fir shoots. Eggs in left column pictured using a stereomicroscope ($\approx 120\times$) and eggs in right column with a scanning electron microscope (200x or 300x). From top to bottom: C1 (flat), C2 (semi-flat with depression, pointed by red arrow), and C3 (round and turgid) categories. Linear whitish structures on egg surface are wax fibres glued to eggs following oviposition by females. Trichomes are visible beside eggs on shoots. Yellow arrows were added to SEM images to better visualise the curved shape of top surface of eggs 77

Figure 4.2 (A) *Mindarus abietinus* egg shape category composition at different collection dates ($n = 24$), where the C1 (flat), C2 (semi-flat), and C3 (round and turgid) eggs are present. (B) Fresh and dry mass (mean \pm SE) of *Mindarus abietinus* eggs throughout the overwintering stage from July 2015 to April 2016. Linear regressions were fitted to the data to relate egg mass to date, before and after the 3rd of February 2016 for fresh mass 78

Figure 4.3 *Mindarus abietinus* fresh mass of C1 (flat), C2 (semi-flat) and C3 (round and turgid) eggs. Different letters indicate a highly significant difference between categories ($P < 0.0001$) 79

- Figure A1.** (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle F de sapin Fraser en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 pucerons ; (B) composition saisonnière (morphé, groupe d'âge) pour les colonies de *Mindarus abietinus* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage 87
- Figure A2.** (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle B1 de sapin baumier en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 pucerons ; (B) composition saisonnière (morphé, groupe d'âge) pour les colonies de *Mindarus abietinus* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage 88
- Figure A3.** (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle B2 de sapin baumier en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 pucerons ; (B) composition saisonnière (morphé, groupe d'âge) pour les colonies de *Mindarus abietinus* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage 89
- Figure A4.** (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle C de sapin Canaan en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 pucerons ; (B) composition saisonnière (morphé, groupe d'âge) pour les colonies de *Mindarus abietinus* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage 90
- Figure A5.** (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle F de sapin Fraser en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 tétranyques ; (B) composition saisonnière (morphé, groupe d'âge) pour les colonies d'*Oligonychus ununguis* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage 91
- Figure A6.** (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle B1 de sapin baumier en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 tétranyques ; (B) composition saisonnière (morphé, groupe d'âge) pour les colonies d'*Oligonychus ununguis* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage 92
- Figure A7.** (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle B2 de sapin baumier en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 tétranyques ; (B) composition saisonnière (morphé, groupe d'âge) pour les colonies d'*Oligonychus ununguis* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage 93
- Figure A8.** (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle C de sapin Canaa en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 tétranyques ; (B) composition saisonnière (morphé, groupe d'âge) pour les colonies d'*Oligonychus ununguis* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage 94

Groovy.
Ashley James “Ash” Williams

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier mon directeur de recherche, le Professeur Conrad Cloutier, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et de son équipe de recherche. Je suis très reconnaissant pour son temps investi et ses nombreux conseils judicieux, tant au niveau de la rédaction de ce mémoire que dans ses recommandations durant le projet. Une autre personne qui mérite beaucoup de reconnaissance est le Maître Jean-Frédéric Guay, le professionnel de recherche de notre laboratoire, que je tiens à remercier pour son excellent travail sur le terrain et au laboratoire. Je remercie aussi Christian Hébert et Valérie Fournier pour leurs commentaires constructifs dans l'évaluation de ce mémoire.

Bien sûr, durant le projet, j'ai reçu de l'aide essentielle venant de notre petite troupe d'auxiliaires de recherche. À ce sujet, je tiens à remercier, en particulier, l'unique William Champagne-Cauchon et l'énergétique Simon Charles-Blouin pour leur aide continue sur le terrain et au laboratoire durant les étés 2014 et 2015. Pour leur contribution durant l'observation des œufs hivernants en conditions expérimentales d'hiver, je remercie aussi Jonathan Franchomme et Sophie Sarasin. De plus, je tiens à remercier la Docteure Sandra Flores-Mejia pour ses conseils pratiques durant le projet, surtout en ce qui concerne l'élaboration des analyses statistiques.

Il faut que je mentionne mon père Donald Doherty et son collègue Fred McLaren, pour nous avoir prêté l'équipement spécialisé qui a permis la fluctuation journalière de basses températures durant les conditions expérimentales de l'hiver. Je suis très reconnaissant envers eux pour leur temps investi à fabriquer et à maintenir cet équipement, tout au long de l'expérience qui a duré plusieurs mois.

Sur une note moins sérieuse, je tiens à remercier spécialement Maman Laurence et Phil de la communauté de Courcelles, qui nous ont nourri d'excellents repas à bas prix durant nos sorties sur le terrain. Je me réserverai toujours une place spéciale dans mon estomac pour le poulet frit de Maman Laurence, que je reconnais incontestablement comme le meilleur poulet frit de l'Estrie.

Avant-propos

Ce mémoire de maîtrise porte sur le projet de recherche que j'ai réalisé sous la direction du Professeur Conrad Cloutier. L'introduction générale, ainsi que la conclusion générale, sont écrites en français. Trois chapitres, rédigés en anglais, forment le corps de ce mémoire. Les chapitres 2 et 3 ont été écrits sous forme d'articles scientifiques et le chapitre 4, comme note scientifique. Durant les étés 2014 à 2016, j'ai participé amplement à l'échantillonnage dans les plantations d'arbres de Noël et j'ai réalisé la majeure partie des observations et des travaux au laboratoire, avec l'aide indispensable des auxiliaires de recherche et de notre professionnel de recherche. Par la suite, j'ai réalisé la majeure partie de la compilation des résultats et de leur analyse statistique. La première version de ce mémoire a été rédigée par moi dans son entièreté, avec les conseils judicieux venant de mon directeur Conrad Cloutier, de notre professionnel de recherche Jean-Frédéric Guay et de mon comité d'évaluation ayant été intégrés dans cette version finale.

Le chapitre 2 a été accepté en juin 2017 pour publication dans le journal *The Canadian Entomologist* sous le titre « Temperature-manipulated dynamics and phenology of *Mindarus abietinus* (Hemiptera: Aphididae) in commercial Christmas tree plantations in Québec, Canada » avec moi comme auteur principal et Jean-Frédéric Guay et Conrad Cloutier comme coauteurs. Avec l'aide des deux coauteurs, nous avons conçu l'échantillonnage et les expériences sur le terrain que j'ai dirigées. Ils ont aussi contribué à l'analyse des données et m'ont conseillé abondamment sur les différentes versions du manuscrit.

Le chapitre 3 a été soumis en août 2017 dans le journal *Environmental Entomology*, avec comme titre provisoire « Novel temperature-dependent development rate models for postdiapause egg eclosion of three important arthropod pests found in commercial Christmas tree plantations of southern Québec, Canada ». Les taux de développement des œufs d'un autre ravageur en plantation d'arbres de Noël, soit la cochenille des aiguilles du pin *Chionaspis pinifoliae* (Fitch) (Hemiptera : Diaspididae), ont été intégrés dans l'article avant la soumission. Comme le chapitre 2, je suis l'auteur principal, avec Jean-Frédéric Guay et Conrad Cloutier comme coauteurs. Pour ce manuscrit, les coauteurs ont contribué comme

pour le deuxième chapitre. Le chapitre 4 a été accepté en août 2017 pour publication comme note scientifique dans le journal *The Canadian Entomologist* sous le titre « Early springtime water absorption by overwintering eggs of *Mindarus abietinus* (Hemiptera: Aphididae): possible implications for cold hardiness and diapause termination ». Comme pour les deux autres chapitres, l'auteur principal est moi-même, avec Jean-Frédéric Guay et Conrad Cloutier comme coauteurs, qui ont contribué de la même manière.

Le projet et les résultats ont également été présentés lors de colloques et de congrès scientifiques provinciaux :

Doherty, J.-F., Guay, J.-F. et Cloutier, C. Février 2017. Nouveaux modèles prévisionnels du développement des ravageurs en plantation d'arbres de Noël. Conférence présentée à la 2^e édition de « Les journées de l'arbre de Noël » de l'Association des producteurs d'arbres de Noël du Québec (APANQ) à Orford, Canada.

Doherty, J.-F., Guay, J.-F. et Cloutier, C. Novembre 2016. Phénologie du puceron des pousses du sapin soumise à un environnement expérimental semi-protégé dans une plantation commerciale de sapins baumier. Conférence présentée à la 143^e réunion annuelle de la Société d'entomologie du Québec (SEQ) à Nicolet, Canada.

Doherty, J.-F., Guay, J.-F. et Cloutier, C. Février 2015. Changements climatiques et ravageurs en plantation d'arbres de Noël : impacts à prévoir sur le dépistage et les infestations (partie 1). Conférence présentée à la 1^{re} édition de « Les journées de l'arbre de Noël » de l'Association des producteurs d'arbres de Noël du Québec (APANQ) à Orford, Canada.

Doherty, J.-F., Guay, J.-F. et Cloutier, C. Novembre 2014. La phénologie du puceron des pousses du sapin et du tétranyque de l'épinette soumise aux changements climatiques dans les plantations commerciales de sapins de Noël. Affiche scientifique présentée à la 141^e réunion annuelle de la Société d'entomologie du Québec (SEQ) à Wendake, Canada.

Chapitre 1 : Introduction générale

Les interactions entre un arthropode phytophage et sa plante-hôte peuvent être relativement complexes, surtout en ce qui concerne la synchronisation d'événements clés dans leur cycle vital. L'étude de ces événements cycliques chez les organismes vivants (dans le cas présent, les plantes et les arthropodes), dont le développement dépend surtout du climat et des fluctuations de température, est la phénologie. Entre autres, elle est importante pour élucider les impacts écologiques potentiels d'un climat en changement et la capacité d'un organisme à s'acclimater pour tolérer le stress engendré par ces altérations abiotiques (Joschinski *et al.* 2015 ; Tang *et al.* 2016). Donc, afin d'introduire les systèmes biologiques étudiés et leur phénologie respective, cette première partie de mémoire servira à exposer les connaissances scientifiques pertinentes employées dans le cadre de ce projet de recherche.

La biologie du puceron des pousses du sapin et du tétranyque de l'épinette sera présentée avec une brève description de leurs impacts en tant que ravageurs importants dans les plantations commerciales de sapins de Noël au Québec. Par la suite, les changements climatiques actuels et les modèles prévisionnels de température pour les prochaines décennies seront examinés afin de décrire les impacts potentiels sur la dynamique des deux systèmes arthropode-sapin. Aussi, la modélisation du développement des arthropodes en fonction de la température sera abordée en lien avec la biologie des deux espèces étudiées. Pour compléter l'introduction, la problématique et les objectifs du projet seront présentés.

Biologie de *Mindarus abietinus*

Le puceron des pousses du sapin *Mindarus abietinus* Koch (Hemiptera : Aphididae) a été observé pour la première fois en Amérique du Nord sur le sapin baumier *Abies balsamea* (Linnaeus) Miller (Pinaceae) par Patch (1910) dans l'État du Maine. Durant les années 1960, sa biologie a été étudiée au Nouveau-Brunswick dans des forêts naturelles de sapin baumier (Varty 1966, 1968) et 30 ans plus tard dans des sapinières commerciales du sud du Québec (Deland *et al.* 1998). Son cycle vital est complexe, comportant cinq morphes et la possibilité de deux ou trois générations de femelles vivipares qui se reproduisent par parthénogénèse. Puisqu'il y a production d'une seule génération de pucerons sexués durant la saison et que le

cycle entier se passe sur une même plante-hôte, on dit qu'il s'agit d'une espèce holocyclique et monoécique (Blackman et Eastop 2000). De plus, sa présence a été décrite sur une quinzaine d'espèces de conifères (Bradbury et Osgood 1986), mais son aire de répartition coïncide surtout avec celle du sapin baumier (DeHayes 1981 ; Martineau 1984 ; Fondren et McCullough 2002).

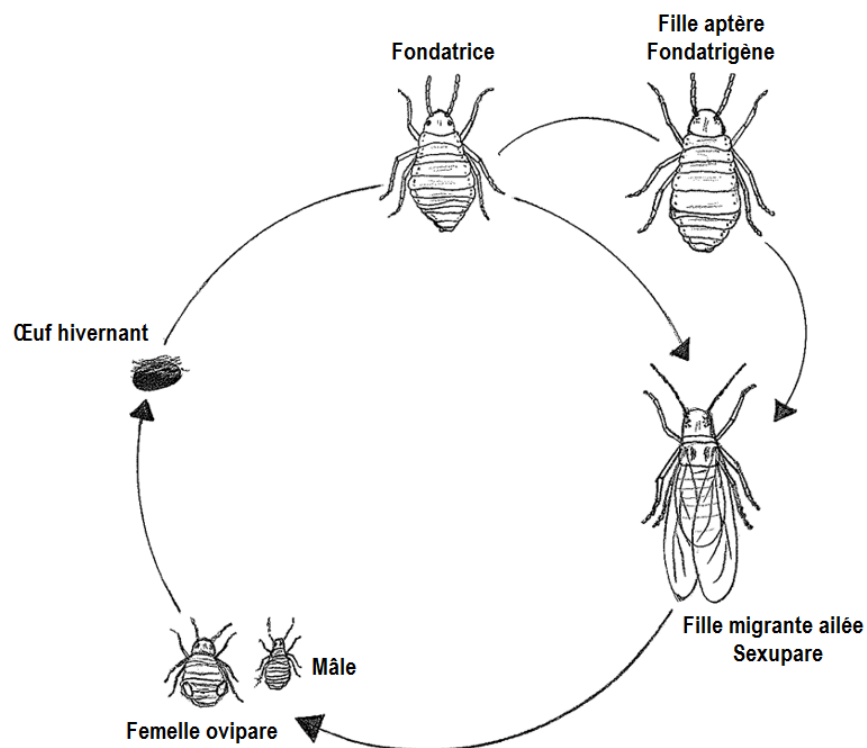


Figure 1.1 Cycle annuel de développement de *Mindarus abietinus*, allant de l'éclosion de la fondatrice, au début mai, jusqu'à la ponte de l'œuf hivernant, tôt en juillet (inspiré de Deland *et al.* 1998).

Selon les rapports de Varty (1968) et de Deland *et al.* (1998), voici le cycle vital de *M. abietinus* pour le sud du Québec (Figure 1.1) : la fondatrice, aptère et vivipare, sort de l'œuf hivernant au début mai et s'alimente de la sève des aiguilles de la pousse de l'année précédente. Pour préciser, l'œuf a passé l'hiver en diapause obligatoire et a attendu les conditions abiotiques nécessaires tôt dans l'année (p. ex. la température, la photopériode, etc.) afin de terminer la diapause et démarrer l'embryogenèse (Hodek et Hodková 1988 ; Denlinger 2002). Durant le développement larvaire avancé de la fondatrice, elle migre sur la

nouvelle pousse de l'année courante, où elle se cache et se nourrit sur les jeunes aiguilles. Dès l'atteinte du stade adulte, elle commence à produire les filles de deuxième génération par parthénogenèse. Il y a deux morphes produits par la fondatrice : les filles aptères vivipares (fondatrigènes ou fundatrigeniae) et les filles ailées migrantes (sexupares ou sexuparae), aussi vivipares, qui vivent en colonie sur la pousse. Les filles aptères, ayant une fécondité similaire à la fondatrice (Varty 1968), produisent une seconde génération de sexupares, qui font aussi partie de la colonie initiée par la fondatrice.



Figure 1.2 Filles ailées migrantes (sexuparae) de *Mindarus abietinus* posées sur une pousse de sapin baumier le 23 juin 2016 (photo : Jean-Frédéric Guay).

Le nombre de sexupares dans une colonie peut varier énormément en fonction de la proportion de filles aptères produites à la deuxième génération. Selon Varty (1968) et Deland *et al.* (1998), cette proportion ne dépasse pas 10% de la progéniture de la fondatrice. Durant la dernière semaine de juin, les filles ailées, maintenant adultes, se tiennent sur les aiguilles de sapin en attendant possiblement les conditions optimales de température et d'humidité afin de s'envoler dans la plantation (Figure 1.2), potentiellement vers la forêt avoisinante.

Lorsqu'elle se pose sur une pousse saine, la sexupare produit des pucerons sexués, mâles et femelles ovipares. Dès que cette dernière génération de pucerons arrive à la maturité, ils s'accouplent et la femelle pond un ou deux œufs au début juillet, qu'elle couvre de bâtonnets de cire (voir Figure 4.1). Cette succession de trois ou quatre générations sur le sapin se déroule sur une période d'environ huit semaines au sud du Québec, pour finir avec les œufs hivernants qui sont déposés durant la première semaine de Juillet et passent donc entre neuf et dix mois en dormance. La diapause obligatoire de ces œufs, considérée comme une caractéristique intrinsèque de l'organisme, serait supposément contrôlée presque exclusivement par des facteurs génétiques et non environnementaux (Nechols *et al.* 1999 ; Košťál 2006). Donc, en principe, chaque œuf devrait subir une diapause indépendamment des conditions abiotiques du milieu.



Figure 1.3 Pseudogalle d'une colonie de *Mindarus abietinus* recouverte de cire produite par les pucerons en développement (23 juin 2016). Deux gouttelettes de miellat sont indiquées par les flèches jaunes et un œuf de syrphe (Diptera : Syrphidae : Syrphinae) est également pointé par la flèche rouge (photo : Jean-Frédéric Guay).

La fondatrice, ses filles aptères et les deux générations de filles ailées forment une colonie sur la nouvelle pousse de l'année. Leur alimentation presque continue de la sève élaborée cause une déformation des aiguilles et de la pousse en croissance. Sous l'effet des pucerons, les aiguilles se recroquevillent et la pousse se rabougrit jusqu'à la formation d'une pseudogalle (Figure 1.3). En plus de nourrir la colonie, la pseudogalle sert d'abri ou de protection pour la colonie contre les intempéries et les prédateurs tels les syrphes (Diptera : Syrphidae : Syrphinae), les coccinelles (Coleoptera : Coccinellidae), les chrysopes (Neuroptera : Chrysopidae) et les cantharides (Coleoptera : Cantharidae) (Berthiaume *et al.* 2000, 2001b, 2007, 2016 ; Fondren *et al.* 2004). De plus, les pucerons produisent une sécrétion blanchâtre à partir de leurs glandes à cire (Blackman et Eastop 2000), couvrant la pseudogalle de fins filaments cireux. Cette substance pourrait aussi jouer un rôle dans la protection de la colonie, voire avoir une fonction hygiénique en isolant les nombreuses gouttelettes de miellat (c.-à-d. les excréments liquides) produites par les pucerons (Pope 1983). Pour ces raisons, la présence de colonies de *M. abietinus* sur les sapins de Noël peut diminuer leur valeur esthétique, causant des pertes économiques pour les producteurs (Nettleton et Hain 1982 ; Deland *et al.* 1998 ; Fondren et McCullough 2002, 2003).

Biologie d'*Oligonychus ununguis*

Le tétranyque de l'épinette *Oligonychus ununguis* (Jacobi) (Acari : Tetranychidae) peut s'attaquer à un grand nombre d'espèces de conifère à travers le monde, pouvant leur causer des dommages considérables en conditions optimales de développement (Kielczewski 1966 ; Boyne et Hain 1983 ; Johnson et Lyon 1991). Comme le puceron des pousses du sapin, les premiers individus émergent d'un œuf ayant passé plusieurs mois en dormance. L'œuf hivernant subit une diapause facultative, puisque ce sont les tétranyques adultes de la dernière génération qui pondent les œufs hivernants en septembre et octobre de l'année précédente (Marshall 1986). Le développement d'*O. ununguis* est direct, comportant trois stades immatures (larve hexapode, protonymphe et deutonymphe) et le stade adulte (mâle et femelle). Chaque stade actif immature est suivi d'un stade de repos avant la prochaine mue (protochrysalide, deutochrysalide et téléiochrysalide), lorsque les tétranyques se

différencient en changeant de stade à l'intérieur de leur exuvie protectrice (Helle et Sabelis 1985). Entre la mi-mai et le début juin, il peut y avoir jusqu'à deux générations successives qui se nourrissent de la sève en perçant l'épiderme des aiguilles. Par contre, durant les périodes chaudes et humides du mois de juin, possibles dans le sud du Québec, la fécondité des femelles adultes peut chuter drastiquement et, à ce moment, les œufs pondus peuvent entrer en quiescence jusqu'au retour des conditions favorables de développement (Boyne et Hain 1983 ; Cordell *et al.* 1989 ; Kramer et Hain 1989).

Durant les mois de juillet et août, on peut observer un accroissement rapide du nombre d'individus sur les pousses de l'année courante, indiquant probablement la fin de la période de repos des œufs estivants (Cloutier *et al.* 2009). C'est durant les périodes plutôt sèches qu'on peut observer les plus grandes populations de tétranyques sur les pousses, puisque la fécondité des femelles adultes est optimale dans un environnement relativement chaud et sec (Boyne et Hain 1983). Pour cette raison, les dommages sur les sapins au Québec sont surtout visibles durant les mois de juillet et août, selon les conditions de température et d'humidité relative (Cloutier *et al.* 2009 ; Dominique Choquette, MAPAQ-Estrie, communication personnelle). Durant cette période de l'année, on peut observer jusqu'à trois générations supplémentaires, pour un nombre potentiel de quatre ou cinq générations durant l'été dans le sud du Québec (Cloutier *et al.* 2009). Les tétranyques adultes de la dernière génération, présents aux mois de septembre et d'octobre, s'accouplent pour produire les œufs hivernants qui passeront le reste de l'automne, l'hiver et une partie du printemps en dormance.

Les tétranyques de l'épinette immatures et les adultes se nourrissent de la sève des aiguilles en perçant l'épiderme, causant une scarification locale des tissus endommagés. Durant les périodes de reproduction propices de l'été, une densité locale élevée de tétranyques sur les pousses de sapin peut causer le jaunissement et le roussissement des aiguilles (Kielczewski 1966) (Figure 1.4). Dans certains cas, cela peut provoquer l'abscission des aiguilles et une réduction de la croissance des pousses (Löyttyniemi 1971). Une infestation majeure d'*O. ununguis* peut dégrader la qualité esthétique de l'arbre et même causer la mort prématurée (Johnson 1958). Sur les pousses infestées, on peut aussi observer la présence de toiles de soie produites par les tétranyques, d'où leur nom anglais *Spider Mites*

(Saito 2009). Ce réseau plus ou moins complexe de soies peut leur offrir une protection additionnelle contre les intempéries et les prédateurs (Saito 1995). Pour ces raisons, le tétranyque de l'épinette est un ravageur important dans les plantations commerciales de sapins de Noël et sa présence en densité élevée peut causer des pertes économiques importantes pour les producteurs (Boyne et Hain 1983 ; Richmond et Shetlar 1996).

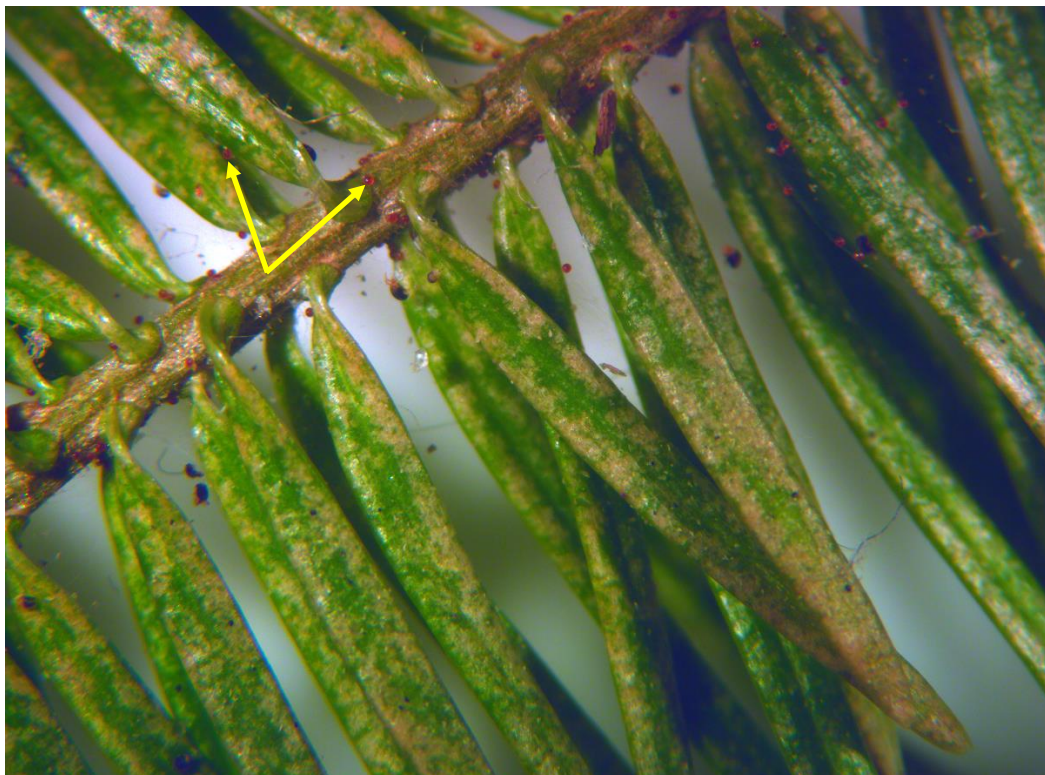


Figure 1.4 Dommages causés par *Oligonychus ununguis* sur les aiguilles du sapin baumier le 9 octobre 2014. Des œufs hivernants, de couleur rouge foncé, sont pointés par les flèches jaunes (photo : Jean-François Doherty).

Taux de développement selon l'arbre-hôte

Au Québec, les principaux sapins cultivés dans les plantations commerciales sont le sapin baumier et le sapin Fraser *Abies fraseri* (Pursh) Poiret (Deland *et al.* 1998 ; Fondren et McCullough 2003). Une variété du sapin baumier, soit le sapin Canaan *Abies balsamea* var. *phanerolepis* (Fernald), peut aussi être cultivée selon les préférences et les besoins du producteur. Par contre, la grande majorité des sapins cultivés dans les plantations

commerciales au Québec est le sapin baumier, une espèce rustique qu'on retrouve naturellement dans la forêt boréale (Farjon 1990). Le sapin baumier excelle dans un climat relativement frais et humide avec un sol saturé d'eau. Le sapin Fraser, au contraire, tolère bien un sol rocheux et/ou sablonneux plutôt sec et acide, rappelant son aire de répartition naturelle à l'extrême sud-est des Appalaches, où cette espèce vit à une altitude supérieure à 1 200 mètres (Farjon 1990 ; McKinley 1995). Le sapin Canaan, quant à lui, partage des caractéristiques venant des deux autres espèces de sapins : comme le sapin baumier, il tolère bien un climat relativement frais et humide, mais il pousse mieux dans un sol bien drainé et plutôt acide comme le sapin Fraser (McKinley 1995). Donc, les producteurs ont le choix de planter différents types de sapin selon les conditions abiotiques du milieu. Alors, la question se pose sur la tolérance et/ou la susceptibilité d'une espèce de sapin aux ravageurs comme *M. abietinus* ou *O. ununguis*.

En sachant que l'aire de répartition du puceron des pousses du sapin coïncide surtout avec celle du sapin baumier (Martineau 1984), on peut supposer que cela résulte d'une relation ancienne et d'une coévolution subséquente (Strong 1979). Puisque l'aire de répartition naturelle du sapin Fraser est très limitée et se situe au sud de l'aire de répartition naturelle du sapin baumier, il est raisonnable de penser qu'une colonie de *M. abietinus* ne puisse pas se développer de façon optimale sur le sapin Fraser. Dans ce cas, il est possible que cette espèce cousine soit plus résistante à l'attaque des pucerons et tolère davantage leur présence (Hanover 1975). Selon les producteurs d'arbres de Noël du Québec, il est de croyance populaire que le puceron des pousses du sapin « infeste » plus le sapin baumier que le sapin Fraser (Dominique Choquette, MAPAQ-Estrie, communication personnelle). Il est aussi de connaissance générale que les bourgeons du sapin Fraser débourrent environ deux à trois semaines après ceux du sapin baumier (Eidt et MacGillivray 1972 ; DeHayes 1981), suggérant une désynchronisation entre le développement de la fondatrice, sa migration et le débourrement du bourgeon donnant accès à la nouvelle pousse sur le sapin Fraser. Hypothétiquement, si la fondatrice atteint le stade adulte et que les bourgeons du sapin Fraser ne sont pas encore débourrés, les pucerons de deuxième génération n'auront pas accès à la sève des jeunes aiguilles, résultant en une alimentation sous optimale pour la colonie et, conséquemment, un taux de développement relativement inférieur. Cette désynchronisation

pourrait expliquer en partie la résistance naturelle d'une espèce de sapin envers *M. abietinus*, ce qui serait également possible entre différentes populations d'une même espèce comme le sapin baumier (DeHayes 1981). Quant au sapin Canaan, dont les bourgeons débourent tardivement comme ceux du sapin Fraser (McKinley 1995), la capacité d'une colonie de *M. abietinus* à se développer sur les nouvelles pousses se situe supposément entre celles du sapin Fraser et du sapin baumier.

Le tétranyque de l'épinette, contrairement à ce que son nom indique, peut s'attaquer à diverses espèces de conifères (Richmond et Shetlar 1996), mais il est considéré comme un ravageur important particulièrement sur le sapin Fraser dans les sapinières commerciales dans l'est des États-Unis (Boyne et Hain 1983). Au Québec, même lorsque les densités d'*O. ununguis* sur les pousses de sapin sont très faibles, il y a une tendance générale à ce que le sapin Fraser soit plus infesté que le sapin baumier au cours de la saison estivale (Cloutier *et al.* 2009). Le sapin Fraser est hypothétiquement plus susceptible à l'attaque des tétranyques que le sapin baumier, surtout lorsque les conditions de température et d'humidité relative favorisent le développement de l'acarien. Ici, le sapin Canaan peut potentiellement ressembler au sapin baumier quant au niveau d'infestation d'*O. ununguis* observé sur les pousses, puisqu'il est considéré comme une variété de ce dernier.

Terminaison de la diapause des œufs hivernants

La diapause est une stratégie adaptative de survie des arthropodes afin d'éviter les conditions défavorables de l'hiver (Leather *et al.* 1993 ; Danks 2007 ; Hahn et Denlinger 2011). Chez ces invertébrés, elle peut être induite simultanément par une multitude de facteurs biotiques et abiotiques. Son contrôle peut venir entièrement de l'environnement externe de l'organisme, de son milieu interne (c.-à-d. un contrôle génétique) ou d'une combinaison des deux (Leather *et al.* 1993 ; Denlinger 2002 ; Izzo *et al.* 2014). Lorsque les facteurs environnementaux déclenchent directement le début de la diapause, elle est qualifiée comme facultative. Pour ce type de diapause, la photopériode, la température, l'humidité et la nutrition sont des facteurs souvent considérés comme éléments déclencheurs (Bradshaw et Holzapfel 2007 ; Hahn et Denlinger 2011 ; Lester et Irwin 2012). Tel que mentionné

précédemment, le tétranyque de l'épinette passe quasiment huit mois en dormance sous la forme d'un œuf hivernant, donc les femelles adultes de la dernière génération de l'année précédente doivent probablement détecter les facteurs de déclenchement de la diapause durant l'automne et pondent ainsi des œufs en dormance prêts à affronter les conditions rigoureuses de l'hiver. Par contre, lorsqu'un arthropode entre en diapause sans que l'environnement lui envoie des signaux déclencheurs, il est probablement sous un contrôle génétique et subit ainsi une diapause obligatoire (Nechols *et al.* 1999 ; Košťál 2006 ; Lester et Irwin 2012). Le puceron des pousses du sapin, dont les œufs hivernants sont pondus durant les premiers jours de juillet au Québec, passe quasiment neuf mois en dormance.

Lorsqu'il y a un retour aux conditions favorables de développement pour un arthropode en diapause, il faut que l'organisme sorte de son état de torpeur biologique afin de redémarrer physiologiquement, ce qui n'est pas nécessairement le cas pour des œufs hivernants non différenciés. Généralement, la photopériode, la température et les interactions entre ces deux facteurs abiotiques sont considérées comme facteurs de terminaison de la diapause (Delisle *et al.* 2009 ; Zhou *et al.* 2016). Un autre facteur abiotique, l'humidité, peut aussi jouer un rôle important dans la terminaison de la diapause. Par contre, il y a peu d'études sur le sujet, puisqu'il est difficile de différencier entre les besoins naturels en eau pour un arthropode qui se développe normalement après la diapause et la présence ou l'absence d'eau comme véritable stimulus de levée de la diapause (Bakke 1963 ; Tanaka 1986 ; Hodek 2003). L'absorption de l'eau afin de terminer la diapause (Nahrung et Merritt 1999) pourrait suggérer une stratégie adaptative de tolérance aux froids extrêmes, puisqu'un œuf hivernant pauvre en eau peut potentiellement survivre à des températures plus froides (Zachariassen 1985 ; Gehrken et Sømme 1987). Donc, si l'organisme a besoin de l'eau afin de terminer sa diapause, ou simplement pour se développer après que la diapause soit terminée, il est possible que le cycle vital se ralentit ou s'arrête complètement si les conditions d'humidité ne sont pas satisfaites (c.-à-d. en état de quiescence) (Tauber *et al.* 1986). Ceci peut avoir des implications importantes au niveau du taux d'éclosion des œufs hivernants ayant besoin d'eau pour terminer leur diapause et/ou favoriser le développement subséquent de l'organisme.

Changements climatiques et les conséquences sur la phénologie

Durant le XX^e siècle, la température moyenne annuelle a augmenté de 0,9 °C dans le sud du Canada (Bonsal *et al.* 2000). Pour le sud du Québec, de 1960 à 2005, la température moyenne annuelle a augmenté de 0,8 °C à 1,6 °C selon la région, une augmentation qui est plus prononcée durant l'hiver que durant les autres saisons (Yagouti *et al.* 2008). Pendant cette même période, les précipitations annuelles ont augmenté considérablement, accompagnées d'une prolongation de la saison de croissance pour les plantes. Ceci étant dit, les conséquences potentielles du réchauffement climatique sont nombreuses et affectent plusieurs secteurs d'activité humaine, notamment la monoculture (Romero-Lankao *et al.* 2014). Donc, il est important de pouvoir prédire les changements climatiques pour les prochaines décennies afin de minimiser leurs impacts négatifs sur l'environnement.

Selon le rapport du GIEC (Romero-Lankao *et al.* 2014), dans la simulation CMIP5 où les émissions de gaz à effet de serre (c.-à-d. le CO₂ et ses équivalents) continuent au même rythme tout au long du XXI^e siècle (RCP8.5), il est fort probable que la température moyenne annuelle augmente de 2 °C en Amérique du Nord. Cette augmentation pourrait causer des stress considérables sur les écosystèmes et des impacts sur la dynamique des populations de plantes et d'arthropodes (Romero-Lankao *et al.* 2014). Pour le sud du Québec, le consortium Ouranos a émis un rapport en 2015 portant sur les changements climatiques potentiels. Pour le même régime RCP8.5, l'augmentation de la température moyenne annuelle se situe entre 2,4 à 4,6 °C pour l'horizon 2050, soit les 10^e et 90^e percentiles calculés à partir de 33 simulations CMIP5 (Ouranos 2015). Ceci concorde avec les prédictions du GIEC, puisque les plus grandes augmentations de température en Amérique du Nord sont prédites pour les plus hautes latitudes. Quant aux précipitations, il est fort probable que la quantité maximale annuelle augmente, accompagnée d'une hausse significative des précipitations abondantes et extrêmes, ce qui pourrait favoriser des périodes plus chaudes et humides durant la saison estivale (Ouranos 2015).

Puisque les organismes poïkilothermes tels les pucerons et les tétranyques sont directement dépendants du climat et des fluctuations quotidiennes de température, il y a un

intérêt à étudier les effets potentiels de ces changements climatiques sur la dynamique des populations d'arthropodes ravageurs. Dans un système trophique comportant une plante (producteur primaire) et son arthropode phytophage (consommateur primaire), une température moyenne plus élevée peut affecter la biologie et la physiologie de ces deux organismes différemment (van Baaren *et al.* 2010). Ainsi, la température ambiante peut avantager la performance d'un herbivore à certaines températures et la désavantager à d'autres (Flores-Mejia *et al.* 2014). Par contre, même si une certaine température peut favoriser ou non la performance d'un arthropode et/ou de sa plante-hôte, il faut considérer la phénologie des deux espèces comme pouvant être intimement reliées.

Lorsqu'un arthropode phytophage vit de façon continue avec sa plante-hôte, on peut observer la synchronisation temporelle d'événements clés résultant d'une coévolution de l'arthropode qui s'adapte à la phénologie de la plante. Puisque ces deux organismes vivent en relation avec le climat, il y a probablement eu l'évolution d'une plasticité phénotypique au niveau de la phénologie des deux espèces (Joschinski *et al.* 2015), voulant dire que l'arthropode et sa plante-hôte peuvent se développer de manière synchronisée dans une gamme de températures ambiantes. Ainsi, cette plasticité peut leur permettre une certaine flexibilité phénologique quant aux changements de température naturellement rencontrés. Cette capacité de modifier sa phénologie en fonction du climat peut avantager grandement un arthropode phytophage, jusqu'à même en profiter (Bell *et al.* 2015). Par contre, cette plasticité peut aussi engendrer la désynchronisation phénologique entre l'arthropode phytophage et sa plante-hôte lorsque le climat change (Visser et Holleman 2001). Par exemple, un climat plus chaud peut potentiellement augmenter la performance d'un arthropode phytophage pouvant se développer plus rapidement à des températures ambiantes plus élevées, jusqu'à une certaine limite. En même temps, la capacité d'ajuster la phénologie en fonction du climat peut ultimement désynchroniser les cycles vitaux de l'herbivore et de sa plante-hôte, causant des perturbations importantes au niveau de la dynamique du système trophique. Ces perturbations peuvent, en d'autres mots, avantager ou nuire à la croissance des populations d'arthropodes ravageurs selon le contexte climatique.

Concernant le puceron des pousses du sapin, une espèce monoécique qui vit de manière synchronisée avec sa plante-hôte, le sapin, il est difficile de pouvoir prédire l'impact potentiel des changements climatiques sur le développement de la colonie et du niveau d'infestation dans les plantations commerciales de sapins de Noël. Puisque le cycle vital de *M. abietinus* est complexe et comprend plusieurs générations enchevêtrées, n'oubliant pas la diapause obligatoire de l'œuf hivernant, le climat peut affecter cet insecte à plusieurs moments dans l'année et de différentes façons. Une température hivernale plus chaude peut accélérer le temps d'éclosion de la fondatrice et devancer l'arrivée des filles migrantes (Zhou *et al.* 1995), mais on peut supposer qu'un climat relativement chaud provoque la désynchronisation entre le développement de la fondatrice et le débourrement des bourgeons de sapin. Cette discordance phénologique pourrait grandement affecter la capacité de la colonie à se développer si la fondatrice ne migre pas sur la nouvelle pousse au moment clé dans la saison (Desrosiers 1998). Pour ajouter à la complexité de ce système, une température ambiante plus élevée peut diminuer le temps de développement de la fondatrice et, ultimement, réduire sa taille adulte et limiter sa fécondité (Angilletta *et al.* 2004). Au contraire, un milieu plus chaud peut accélérer le développement de la fondatrice et de la colonie, ce qui peut augmenter les dommages potentiels avec une densité locale plus élevée sur les pousses, puisqu'il y aurait un plus grand nombre de pucerons qui se nourrissent de la même pousse. Donc, il est très difficile de prédire avec exactitude les effets des changements climatiques sur les populations locales de *M. abietinus* dans les plantations commerciales de sapins de Noël.

Pour le tétranyque de l'épinette, un acarien qui passe plusieurs mois dans l'œuf hivernant en diapause facultative et ayant la possibilité d'entrer en quiescence estivale lorsque les conditions de température et d'humidité relative sont défavorables durant la saison reproductive (Boyne et Hain 1983 ; Kramer et Hain 1989), les changements climatiques peuvent favoriser leur statut en tant que ravageur important dans les plantations de sapins au Québec. Dans l'horizon 2050, un climat plus chaud peut favoriser un taux de développement plus rapide et, si la température ambiante a comme effet d'assécher les milieux environnants, cela peut augmenter la fécondité des femelles et ultimement amplifier la densité des tétranyques sur les pousses infestées (Boyne et Hain 1983). Dans l'avenir, une saison de croissance plus longue pour le sapin et un automne plus chaud pourrait engendrer

une ou plusieurs générations supplémentaires de tétranyques, causant des dommages plus tard dans la saison et plus de pertes pour les producteurs. Puisque le tétranyque de l'épinette peut s'attaquer à un grand nombre de conifères, il est possible que les changements climatiques au XXI^e siècle affectent l'adaptation évolutive de ce ravageur qui pourrait, en conséquence, s'établir sur d'autres espèces d'arbre-hôte au Québec.

Développement des arthropodes en fonction de la température

Tel que mentionné précédemment, les insectes et les acariens sont des organismes poïkilothermes, ce qui veut dire que leur température corporelle varie avec celle du milieu (Speight *et al.* 2008). Conséquemment, leur taux métabolique varie aussi en fonction de la température ambiante, ce qui affecte le taux de développement de l'arthropode. Exceptionnellement, il existe des insectes ailés comme les sphinx (Lepidoptera : Sphingidae) et les bourdons (Hymenoptera : Apidae) qui peuvent générer de la chaleur avec leurs muscles du vol et ainsi contrôler leur température corporelle temporairement par endothermie (Heinrich 1974). Pour estimer le taux de développement à une température donnée, on peut utiliser la réciproque du temps de développement pour une étape connue du cycle vital de l'espèce étudiée (p. ex. l'éclosion des œufs, le développement larvaire, etc.) (Moore et Remais 2014). De plus, le taux de développement peut varier en fonction du stade dans le cycle vital, dépendamment de son temps de développement respectif. Ainsi, pour décrire la relation entre le taux de développement et la température ambiante, il suffit de mesurer, à plusieurs températures constantes ou fluctuantes (Régnière et Turgeon 1989), le temps de développement pour réaliser un stade quelconque du cycle vital de l'organisme poïkilotherme (Ikemoto et Takai 2000).

Modélisation du développement d'un arthropode selon la température

La relation entre le taux de développement R_{dev} , estimé simplement comme la réciproque de la durée (p. ex. en heures ou en jours), d'un arthropode et la température ambiante est décrite par une courbe non linéaire et asymétrique (voir Figure 3.1), comprenant des points d'inflexion et des seuils inférieur et supérieur permettant d'estimer trois paramètres thermiques ou températures caractéristiques (Paaijmans *et al.* 2013) : la

température critique minimale, aussi appelée le seuil de développement (T_{min} ou T_0), la température optimale (T_{opt}) et la température critique maximale ou létale (T_{max} ou T_L). Au-delà des deux températures extrêmes critiques, il y a théoriquement absence (c.-à-d. un ralentissement prononcé, voire un arrêt pouvant être éventuellement létal sous T_{min} et au-delà de T_{max}) du développement de l'arthropode. En fait, il est rare que l'arthropode soit soumis durant de longues périodes aux températures critiques en conditions naturelles, ce qui rend difficile la tâche d'estimer le taux de développement près de ces températures. Donc, en soumettant l'organisme quotidiennement pour une courte période à ces températures dites « extrêmes », il est hypothétiquement possible de calculer le taux de développement avec un régime de températures fluctuantes, en utilisant l'équation de proportionnalité proposée par Régnière et Turgeon (1989) :

$$t_i = \frac{t_5}{1 - \left(\frac{t_{11}}{t_c}\right)}$$

Dans cet exemple, on estime la durée t_i d'une étape du développement à la température de 5 °C (c.-à-d. la température extrême à laquelle on ne peut pas exposer l'arthropode en continu), t_5 et t_{11} signifient les durées respectives passées à 5 °C et 11 °C durant le régime fluctuant et t_c étant le temps de développement observé pour un régime constant à 11 °C. Donc, avec un régime fluctuant de températures, il est théoriquement possible d'estimer le temps de développement autour des deux températures critiques, ce qui permettrait l'estimation du taux de développement à basse ou haute température.

En mesurant le taux de développement d'un arthropode, pour une étape connue dans son cycle vital, à différentes températures expérimentales sous conditions contrôlées, il est possible d'étudier la relation non linéaire (Trudgill *et al.* 2005). Avec des modèles mathématiques plus ou moins complexes du taux développement en fonction de la température (Tableau 1.1), il est alors possible de décrire cette relation, qui peut aussi servir à estimer les paramètres thermiques (T_{min} , T_{opt} et T_{max}). Pour en revenir à la relation non linéaire précédemment présentée, le taux de développement d'un organisme poïkilotherme

augmente de façon quasi linéaire entre la T_{min} et la T_{opt} , mais chute rapidement au-dessus de cette dernière pour atteindre la T_{max} , où il redevient nul (Brière *et al.* 1999 ; Roy *et al.* 2002 ; Paaijmans *et al.* 2013). Le modèle linéaire de développement, utilisé initialement en agriculture pour prédire le temps optimal pour fertiliser et récolter les cultures (Sharratt *et al.* 1989), décrit justement la partie linéaire du taux de maturation des récoltes entre T_{min} et T_{opt} , ce qui permet d'estimer indirectement la T_{min} et la constante thermique de développement pour un organisme poïkilotherme tel un insecte ou un acarien (Ikemoto et Takai 2000). La constante thermique K , une mesure théorique du temps physiologique pour le développement complet d'un arthropode à une étape donnée, est quantifiée en degrés-jours de croissance (DJ) (Trudgill *et al.* 2005), calculée à partir du modèle linéaire :

$$R_{dev} = a + bT$$

Ici, le taux de développement R_{dev} peut être calculé avec les deux constantes a et b , soit les valeurs de l'ordonnée à l'origine et de la pente, avec la température ambiante T comme variable indépendante. À partir de cette équation, il est possible d'estimer approximativement le seuil T_{min} lorsque R_{dev} est nul. Pour estimer K , il faut calculer la réciproque de la pente b , ce qui donne le temps physiologique total de développement qui est nécessaire, exprimé en DJ (Brière *et al.* 1999 ; Ikemoto et Takai 2000). Les DJ accumulés sont utilisés couramment en agriculture par les producteurs afin d'estimer les périodes critiques d'éclosion pour les arthropodes ravageurs (Moore et Remais 2014). Il existe plusieurs méthodes de calcul du temps physiologique accumulé à chaque jour à partir des données météorologiques sur le terrain (Trudgill *et al.* 2005 ; Herms 2013). La méthode des moyennes demeure la plus communément utilisée pour estimer le nombre de DJ accumulés quotidiennement au-dessus de T_{min} :

$$\text{Temps physiologique quotidien} = \left(\frac{\delta_{max} + \delta_{min}}{2} \right) - T_{min}$$

Avec les températures quotidiennes minimale et maximale (δ_{min} et δ_{max}) et le seuil de développement T_{min} estimé à partir d'un modèle linéaire, il est alors possible de calculer le temps physiologique en DJ accumulés pour une journée. Théoriquement, lorsque le nombre de DJ accumulés approche la constante de développement, il est fort probable que l'organisme approche la fin ou a récemment complété le stade étudié dans son cycle vital (p. ex. la période d'éclosion des œufs ou le développement subséquent d'un stade immature, jusqu'à l'apparition des formes matures).

Les modèles non linéaires qui ont été proposés sont nombreux, dépendamment de la théorie employée pour les définir et formuler (Moore et Remais 2014), et peuvent être relativement complexes, comprenant à la fois des paramètres thermiques biologiques et au moins une constante empirique (Zahiri *et al.* 2010). Par exemple, le modèle polynomial de troisième ordre (c.-à-d. le modèle cubique) ignore les processus en cause et n'intègre pas explicitement de paramètres biologiques de température dans sa formule. En fait, il décrit simplement la relation non linéaire, supposée cubique entre le taux de développement et la température, donc il est nécessaire de calculer indirectement les trois paramètres thermiques à partir des paramètres numériques fournis par le modèle. Des modèles un peu datés, soient les modèles Logan-6 et Logan-10 (Logan *et al.* 1976) et celui de Hilbert et Logan (1983) ont toujours deux éléments importants dans leur équation. Le premier décrit la partie ascendante de la courbe où le développement accélère avec la température, qui est ensuite soustraite par le deuxième élément, définissant la partie descendante de la courbe au-dessus de T_{opt} . L'avantage du modèle dans Hilbert et Logan (1983) est qu'il permet d'estimer la T_{min} , tandis que les deux autres ne l'estiment pas. Un autre modèle relativement vieux, celui de Taylor (1981), comporte moins de paramètres et n'estime que la T_{opt} . Dans les années 1990, Lactin *et al.* (1995) ont apporté deux modifications au modèle Logan-6, en retirant le paramètre ψ (c.-à-d. le taux maximal de développement) et en ajoutant le paramètre λ , ce qui « force » le modèle à joindre l'axe horizontal et permet d'estimer la T_{min} . Enfin, les modèles de Brière *et al.* (1999) et de Kontodimas *et al.* (2004) se ressemblent beaucoup, à part quelques modifications apportées dans le modèle Kontodimas-16 sur le modèle Brière-1, qui n'est pas présenté ici. Dans ces deux modèles, on peut remarquer deux parties antagonistes dans

l'équation, qui estiment un taux de développement plus ou moins élevé selon la température ambiante, et sont multipliées ensemble (Tableau 1.1).

Afin de sélectionner le meilleur modèle prévisionnel, celui-ci devrait répondre aux critères suivants (Roy *et al.* 2002) :

- (1) Bien décrire les données observées, par la qualité de prédiction du modèle et son exactitude. Ceci peut être évalué avec le coefficient de détermination R^2 et un critère d'optimalité tel le *Mean Squared Error* (MSE) ou le *Residual Sum of Squares* (RSS) (Draper et Smith 1998).
- (2) Permettre le calcul direct ou indirect des paramètres biologiques importants pour caractériser le développement de l'arthropode en fonction de la température ambiante (T_{min} , T_{opt} et T_{max}).

Avec plusieurs modèles de développement potentiels, il suffit de les tester et de les comparer pour leur qualité prédictive et leur capacité d'estimer les paramètres biologiques de température. Les modèles de développement les plus couramment utilisés sont présentés dans le Tableau 1.1, accompagnés des paramètres pouvant être calculés directement ou indirectement (Roy *et al.* 2002 ; Sandhu *et al.* 2010).

Modèles de développement prévisionnels existants pour les deux espèces

À cause de leur statut de ravageurs importants en plantations commerciales de sapin de Noël en Amérique du Nord, il existe quelques études portant sur l'effet de la température sur le développement saisonnier de *M. abietinus* et d'*O. ununguis*. En ce qui concerne le puceron des pousses du sapin, les rapports de Varty (1968) et de Deland *et al.* (1998) ont produit des estimés pour la constante de développement K et le seuil de développement T_{min} pour le sud-est du Canada (c.-à-d. le Nouveau-Brunswick et le Québec respectivement). Puisque les producteurs veulent éviter les dommages potentiels causés par les colonies de *M. abietinus*, le moment idéal pour traiter arrive après l'éclosion des œufs hivernants, lorsque les jeunes fondatrices sont vulnérables et n'ont pas encore migré sur la nouvelle pousse, puisque les

bourgeons de sapin débourent après l'éclosion (Deland *et al.* 1998 ; Fondren et McCullough 2003). Pour le Québec, la constante de développement estimée à partir des observations sur le terrain est de 95 DJ, calculée à partir d'un seuil de développement de 2 °C (Deland *et al.* 1998). Depuis que cette constante a été publiée, les consultants sur le terrain l'emploient pour suivre le développement des fondatrices de *M. abietinus* dans les plantations et faire les recommandations appropriées aux producteurs (Berthiaume *et al.* 2001a ; Dominique Choquette, MAPAQ-Estrie, communication personnelle).

Pour le tétranyque de l'épinette, il n'existe pas de modèle de développement prévisionnel pour le Québec. Par contre, son développement en fonction de la température a été mesuré dans l'État de Ohio durant les années 1990 sur l'épinette du Colorado *Picea pungens* Engelmann (Pinaceae) (Richmond et Shetlar 1996). Avec un estimé de 7,1 °C comme seuil de développement, ils ont calculé la constante de développement à partir d'une seule température expérimentale, ce qui a donné $143,3 \pm 30,1$ DJ. Hypothétiquement, le moment idéal pour traiter demeure peu après l'éclosion des œufs hivernants, avant que les jeunes tétranyques puissent croître et mûrir pour produire la seconde génération. Donc, il serait intéressant d'étudier le développement de ce petit acarien dans un contexte plus nordique, soit les sapinières commerciales du Québec.

Les modèles existants pour la prédiction de l'éclosion printanière des deux arthropodes ravageurs n'ont pas été élaborés à partir de taux de développement mesurés à une série de températures expérimentales sous conditions contrôlées. Les besoins en temps physiologique pour les populations de *M. abietinus* dans le sud du Québec ont été estimés seulement avec des observations venant du terrain et sont donc des approximatifs (Deland *et al.* 1998). Pour *O. ununguis*, ces besoins ont été estimés à partir d'une seule température expérimentale, ce qui n'est pas habituel (Richmond et Shetlar 1996). Donc, il est fort possible que ces données ne s'appliquent pas adéquatement aux populations des deux ravageurs du sud du Québec dans le contexte actuel. La modélisation de leur taux de développement en fonction de la température devrait être basée sur le temps de développement mesuré à plusieurs températures expérimentales couvrant les conditions climatiques du Québec en début de saison.

Problématique

Durant les prochaines décennies, les changements climatiques presque inévitables vont engendrer une augmentation probable de la température moyenne annuelle entre 2,4 et 4,6 °C pour le sud du Québec, tel que déjà mentionné. Ce climat plus chaud devrait causer des perturbations remarquables sur les écosystèmes et la dynamique des populations, surtout celles qui vivent en proche relation avec le climat (c.-à-d. les plantes et les arthropodes). Alors, ces changements pourront influencer la biologie, incluant la phénologie, des arthropodes considérés comme ravageurs sur les arbres de Noël. Une façon concrète de comprendre et prédire l'effet de la température sur le développement des organismes poïkilothermes tels les arthropodes est de mesurer et modéliser leur développement en fonction d'une série de températures expérimentales. Ceci n'a pas encore été fait pour les populations de deux des plus importants ravageurs en plantations commerciales de sapins de Noël au Québec, soient le puceron des pousses du sapin et le tétranyque de l'épinette.

La modélisation du taux de développement à partir de données expérimentales demeure une méthode relativement simple afin d'étudier l'effet de la température sur le développement des arthropodes ravageurs, elle est même pertinente pour évaluer les risques potentiels d'infestation dans un contexte de réchauffement climatique. Par contre, il est aussi important de suivre le développement de ces ravageurs sur le terrain afin de valider les observations au laboratoire et, ultimement, les modèles prévisionnels d'éclosion printanière.

Objectifs et hypothèses

- (1) L'objectif principal de ce projet de recherche était de construire un modèle prévisionnel de l'effet de la température sur le taux de développement des œufs hivernés postdiapausants de *M. abietinus* et d'*O. ununguis*.

H1 La température a un effet caractéristique sur le taux de développement de l'arthropode dans l'œuf, qu'on peut définir par modélisation linéaire et non linéaire de ce taux en fonction de températures expérimentales contrôlées.

H2 Les modèles prévisionnels existants pour les deux ravageurs ne sont pas bien adaptés dans le contexte actuel des changements climatiques sur les populations locales du sud du Québec.

- (2) Préciser la phénologie actuelle des deux arthropodes ravageurs dans les plantations commerciales de sapins de Noël pour le sud du Québec afin de valider les modèles prévisionnels.

H1 Depuis les études antérieures (Deland *et al.* 1998 ; Cloutier *et al.* 2009), la phénologie des deux arthropodes ravageurs n'a pas changé significativement.

H2 La validation sur le terrain permettrait de confirmer la précision du modèle prévisionnel, justifiant son utilisation par les consultants du milieu et les producteurs.

- (3) Tester l'effet du réchauffement climatique potentiel sur le taux de développement des colonies de *M. abietinus*, impliquant une expérience sur le terrain avec des abris semi protégés.

H1 La température plus élevée dans l'abri semi-protégé a un effet positif sur le taux de croissance d'une colonie de *M. abietinus* tôt en saison.

H2 Le traitement de l'abri semi-protégé a aussi un effet positif sur la proportion de filles aptères produites par la fondatrice.

- (4) Observer le taux d'infestation des deux arthropodes ravageurs selon l'essence-hôte.

H1 Le taux de croissance d'une colonie de *M. abietinus* est plus élevé sur le sapin baumier que sur les sapins Fraser et Canaan.

H2 Le taux d'infestation d'*O. ununguis* est plus élevé sur le sapin Fraser que sur les sapins baumier et Canaan.

- (5) Répondre à la grande question « Est-ce que les changements climatiques favoriseront ou pas ces deux arthropodes ravageurs ? » avec l'information recueillie durant ce projet.

Tableau 1.1 Modèles non linéaires du taux de développement en fonction de la température ambiante couramment utilisés pour estimer les paramètres biologiques de température (T_{min} , T_{opt} et T_{max}). Les constantes empiriques, selon l'auteur, sont a , b , c , d , k , α , et λ ; ψ et R_m représentent le taux maximal de développement et ρ désigne le taux de développement à T_{opt} . T_σ est un paramètre de forme de la courbe et ΔT signifie la gamme de températures pour lesquelles la dégradation physiologique devient le facteur limitant du développement (c.-à-d. lorsque la température dépasse T_{opt} et ralentit le développement de l'organisme).

Modèle	Équation	Paramètres
Polynomial (cubique)	$R_{dev} = aT^3 + bT^2 + cT + d$	T_{min} , T_{opt} et T_{max}
Logan-6 (Logan 1976)	$R_{dev} = \psi \left(e^{\rho T} - e^{\left(\rho T_{max} \frac{T_{max}-T}{\Delta T} \right)} \right)$	T_{opt} et T_{max}
Logan-10 (Logan 1976)	$R_{dev} = \alpha \left(\left(\frac{1}{1 + ke(-\rho T)} \right) - e^{\left(\frac{-(T_{max}-T)}{\Delta T} \right)} \right)$	T_{opt} et T_{max}
Taylor (1981)	$R_{dev} = R_m e^{\left(-0.5 \left(\frac{T-T_{opt}}{T_\sigma} \right)^2 \right)}$	T_{opt}
Hilbert et Logan (1983)	$R_{dev} = \psi \left(\left(\frac{(T - T_{min})^2}{(T - T_{min})^2 + d^2} \right) - e^{\left(\frac{-(T_{max} - (T - T_{min}))}{\Delta T} \right)} \right)$	T_{min} , T_{opt} et T_{max}
Kontodimas-16 (Kontodimas et al. 2004)	$R_{dev} = a(T - T_{min})^2(T_{max} - T)$	T_{min} et T_{max}
Lactin-2 (Lactin et al. 1995)	$R_{dev} = e^{\rho T} - e^{\left(\rho T_{max} \frac{T_{max}-T}{\Delta T} \right)} + \lambda$	T_{opt} et T_{max}
Brière-2 (Brière et al. 1999)	$R_{dev} = aT(T - T_{min})(T_{max} - T)^{1/d}$	T_{min} , T_{opt} et T_{max}

Chapitre 2 : Temperature-manipulated dynamics and phenology of *Mindarus abietinus* (Hemiptera: Aphididae) in commercial Christmas tree plantations in Québec, Canada

Résumé

Le puceron des pousses du sapin *Mindarus abietinus* Koch (Hemiptera : Aphididae) est un ravageur d'importance économique en plantations commerciales d'arbres de Noël. Au 21^e siècle, le réchauffement climatique pourrait augmenter ses densités locales en plantation de sapin (*Abies* Miller ; Pinaceae) et renforcer son statut d'insecte ravageur au Québec, Canada. Nous avons testé expérimentalement les effets d'un environnement réchauffé sur la croissance des colonies de *M. abietinus* et le dimorphisme de progénitures de la fondatrice à la deuxième génération. Nous avons suivi les populations de *M. abietinus* sur trois arbres-hôtes du genre *Abies*, afin de mieux comprendre leurs interactions. Nous avons pu séparer les deux générations partiellement chevauchantes de pucerons ailés quittant les colonies, ce qui nous a permis d'observer une plus grande proportion de progénitures aptères de la fondatrice que dans les études antérieures. Le taux de croissance des colonies était significativement plus élevé dans un environnement expérimental réchauffé que dans la plantation environnante, suggérant des conditions propices à des densités plus élevées de *M. abietinus*.

Abstract

The balsam twig aphid *Mindarus abietinus* Koch (Hemiptera: Aphididae) is a major pest of economic importance for the Christmas tree industry. Global warming during the 21st century could potentially increase local population densities and reinforce the pest status of this aphid in commercial fir (*Abies* Miller; Pinaceae) plantations in Québec, Canada. During this study, we tested the effects of a warmer environment on colony growth rates of *M. abietinus* and aphid morph composition during the second generation of its cycle, which is key to colony size growth and potential damage to Christmas trees. We monitored *M. abietinus* populations on two host fir species and one host fir variety, in order to understand the early season dynamics of this aphid and its host tree. It was possible to distinguish the

two partially-overlapping generations of winged aphids leaving colonies, which led to observing a much higher proportion of wingless daughters, produced by the stem mother, than what had previously been reported. Colony growth rates were significantly higher in a warmer environment than in the nearby plantation, suggesting that warmer temperatures in late spring and early summer may provide the suitable conditions required for *M. abietinus* colonies of greater density.

Introduction

The balsam twig aphid *Mindarus abietinus* Koch (Hemiptera: Aphididae) is one of the most important pests of the Christmas tree industry in the province of Québec and other parts of eastern Canada, and the United States of America (Deland *et al.* 1998; Berthiaume *et al.* 2001a; Fondren and McCullough 2003). Studies on the phenology of *M. abietinus* are sparse and focus on distantly related populations throughout North America, including natural and commercial fir (*Abies* Miller; Pinaceae) plantations (Varty 1968; Bradbury and Osgood 1986; Deland *et al.* 1998; Fondren and McCullough 2003). With the potential ecological stresses inflicted upon plant and insect populations by global warming in the 21st century (Romero-Lankao *et al.* 2014), studying the interactions between this phytophagous insect and its host plant in a hotter environment could illustrate their potential effects on the phenology, population dynamics, and future infestation levels of insect pests (reviews of Joschinski *et al.* 2015; Tang *et al.* 2016). Additionally, the question if whether the growth rates of *M. abietinus* colonies could vary between host species has not yet been addressed, due in part to a lack of knowledge on the resistance of conifers to their potential insect pests, and the relatively complex life cycle of aphids (DeHayes 1981; Edwards *et al.* 2016).

The life cycle of the holocyclic, non-host-alternating *M. abietinus* is complex, including five morphs and three to four partly-overlapping generations. In southern Québec, the stem mother (fundatrix) hatches from the overwintering egg in early May, typically before fir bud break has occurred (Deland *et al.* 1998). Shortly after bud break, immature stem mothers migrate onto the new shoot to start feeding on the growing needles and complete nymphal development. The adult stem mother produces viviparously the second

generation, which develop into mature aphids of two distinct morphs: the wingless viviparous daughters (G2 apterae or fundatrigeniae) and the alate viviparous daughters (G2 alatae or sexuparae). Both morphs feed and develop colonially on current-year needles of the shoot selected by their mother (Bradbury and Osgood 1986; Deland *et al.* 1998), stunting the growth of new shoots and distorting needles into a curled shape. Once matured, the apterous daughters (G2) of the stem mother produce an additional generation of alate aphids (G3 sexuparae), thus greatly increasing potential colony size, since the fecundity of these daughters is similar to that of the stem mother (Varty 1968). According to previous studies, no more than 10% of the second generation mature into G2 apterae, a proportion that may nevertheless strongly influence final colony size (Varty 1968; Deland *et al.* 1998). However, ambient temperature, predation, crowding conditions, and other factors may affect the proportion of apterous and alate daughters in an aphid colony (review of Müller *et al.* 2001). Towards the end of June, the winged G2 and G3 sexuparae migrate onto new shoots, where they produce the last, sexually-reproducing generation of the cycle, as oviparous females (oviparae) and non-feeding males (both G3 or G4 sexuales). Males and oviparae mate and, during the first week of July, the oviparae each lay one or two overwintering eggs. Hence, the continuous feeding of a colony on the sap of the host tree can damage the host tree at high aphid densities. The deformation of the shoot and its needles usually forms a protective pseudogall around the growing aphid colony, which reduces the aesthetic value of Christmas trees, and causes economic losses for growers (Nettleton and Hain 1982; Bradbury and Osgood 1986; Kleintjes *et al.* 1999).

In natural forests, *M. abietinus* is found mainly on the balsam fir, *Abies balsamea* (Linnaeus) Miller (Pinaceae), a conifer species of Holarctic distribution common to the boreal forest (Patch 1910; Varty 1966; Martineau 1984; Farjon 1990). *Mindarus abietinus* has also been reported on at least a dozen other conifer species (Bradbury and Osgood 1986), but in Christmas tree plantations they are known to infest both the balsam fir and the related Fraser fir *Abies fraseri* (Pursh) Poiret (Pinaceae) (Deland *et al.* 1998; Fondren and McCullough 2003), a species occurring naturally at altitudes greater than 1,200 m on the southeastern Appalachians (Farjon 1990). Genetic differences between these two host firs and the biogeographical history they share with *M. abietinus* may play a key role in their

susceptibility to this aphid and/or their capacity to tolerate its presence (reviews of Hanover 1975; Strong 1979). Differing fir bud break phenology and lack of synchronicity between the hatching, development, and migration of the stem mothers from previous-year foliage to a shoot from the current year may strongly inhibit colony growth, considering that aphid nymphs may not have early access to burgeoning shoots (DeHayes 1981; Desrosiers 1998; Fondren and McCullough 2003). For Fraser firs, bud break occurs usually later in the season than balsam firs (Eidt and MacGillivray 1972), a phenological difference between host tree and aphid that may partly explain the common belief amongst Christmas tree growers that colonies of *M. abietinus* infest balsam firs in greater densities per shoot than Fraser firs in southern Québec (Dominique Choquette, MAPAQ-Estrie, personal communication). From the many other fir varieties available for Christmas tree growers (*e.g.*, Douglas fir, Concolor fir, Korean fir, *etc.*), the Canaan fir *Abies balsamea* var. *phanerolepis* (Fernald) (Pinaceae), can be cultivated in Québec for its unique tolerance to cold temperature and soil moisture variation (McKinley 1995). Its close relation to the balsam fir and its later bud break may place this variety between the other two fir species in regard to *M. abietinus* colony growth and infestation levels.

In southern Québec, the average annual temperature has increased between 0.8 °C and 1.6 °C since the 1960s, accompanied by a longer growing season for plants (Yagouti *et al.* 2008). For the coming decades, an increase between 2.4 °C and 4.6 °C of the average annual temperature is predicted if greenhouse gas emissions continue at the current rate throughout the 21st century (Ouranos 2015). An increase in air temperature directly affects the natural history and physiology of poikilotherms such as *M. abietinus* (van Baaren *et al.* 2010), possibly altering their performance relative to the host plant (Flores-Mejia *et al.* 2014). Even though phenological plasticity can temper the effects of climate change on living organisms (Joschinski *et al.* 2015), it could desynchronise the complex life cycles of insects such as *M. abietinus* and its host trees (Visser and Holleman 2001). Because of its close dependency on its host, warming temperatures could affect this aphid at any moment throughout the year, especially during the establishment of the stem mother on young shoots and early development of her offspring in pseudogalls. Increasing air temperatures can accelerate the development rates of these aphids and could modify the proportion of G2 apterae, which may

lead to much higher colony densities per shoot, thus potentially resulting in greater damage to Christmas trees.

The main objective of this two-year field study was to test the effects of warmer temperatures on colony growth rates and proportions of G2 apterae produced by stem mothers, in field experiments involving semi-protected balsam fir shoots bearing *M. abietinus* colonies. We hypothesised that warmer ambient temperatures could positively affect the colony growth rate of *M. abietinus* and also the proportion of G2 apterae. Our second objective was to study the current phenology of *M. abietinus* in commercial fir plantations of southern Québec, providing an updated understanding on the life history dynamics of this species in relation to the currently grown host fir tree species in Québec plantations. This was achieved by field sampling in four experimental plots situated within three commercial Christmas tree plantations. We hypothesised that colony growth rates and eventual size could be higher on balsam fir than for those found on Fraser and Canaan firs.

Material and methods

Field study sites and experimental plots

Sampling was performed in four experimental plots situated in three commercial Christmas tree plantations, located within 12 km of each other in the southern part of Québec, Canada. Two of these plantations were located in the Estrie administrative region (plot B1; 45.905°N, 71.036°W and plots B2 and C; 45.847°N, 70.909°W); the fourth plot was located in the Chaudière-Appalaches administrative region (plot F; 45.941°N, 70.954°W). Plot F was composed of Fraser fir, plots B1 and B2 were composed of balsam fir, and plot C was composed of Canaan fir. Each experimental plot consisted of 15 rows of 45 trees averaging 2 m in height, between eight and 10 years old, for a total of 675 trees per plot. Each plot was divided into 45 sections of 15 trees (*i.e.*, three sections per plot row), from which one sample shoot was collected on a randomly selected tree from within each section at every collection date, for a total of 45 samples per plot per collection date. Local temperatures were monitored with a HOBO® Pro v2 data logger (Onset, Cape Cod, Massachusetts, United States of

America) installed in a tree in the southwestern corner of the plot. During the summer, no pesticides were used, except for herbicides between tree rows.

Climate-warming field experiment

In 2015, 50 shoots bearing an overwintering egg or a newly hatched stem mother nymph were identified in plot B1 (balsam fir) on the 8th of May, during the egg eclosion period. For logistic reasons, this site was chosen as the experimental plot for its greater density of eggs per shoot and because balsam firs are the most widely cultivated variety in Québec. When an egg or a nymph was found, a 50.8 x 63.5 cm sheet of Dura-Lar® with a thickness of 0.13 mm (Grafix, Maple Heights, Ohio, United States of America) was wound into a cone-shaped shelter around the shoot. The vertex of the cone was fixated to the branch with strong adhesive tape, leaving a small opening around the stem for potential predators to enter. The base of the cone was closed off with a white polypropylene bouffant cap to allow air circulation (Emerson Summers, Mississauga, Ontario, Canada). These semi-protective shelters provided a miniaturised greenhouse effect around each shoot.

Samples ($n = 10$) randomly selected among previously identified shoots bearing an aphid, consisting of the entire shoot and its semi-protective shelter, were collected weekly during the following five weeks in 2015 (15th of May, 20th of May, 28th of May, 4th of June, and 11th of June), along with an equal number of unprotected shoots bearing a stem mother and/or an aphid colony, depending on the collection date (*i.e.*, the control group). Collected shoots were then stored and counted in the laboratory like those sampled for field phenology (see below). In the 2016 experiment, a slightly different sampling schedule was adapted to an earlier spring with an increased sample size. On the 5th of May, 60 shelters were installed in the same plot during the eclosion period and the first sample collection was carried out three weeks later on the 26th of May. Samples ($n = 20$) were collected once every two weeks for a total of three collection dates (26th of May, 9th of June, and 23rd of June) along with an equal number of control shoots. The goal here was to avoid collecting/destroying samples during stem mother development, when shelters still contained only the stem mother and no progeny. Two temperature loggers (HOBO® Pro v2) were installed during both experiments

to measure the difference in ambient temperature between a semi-protected shoot and an unprotected one.

Phenology of Mindarus abietinus on different fir species

In 2015, shoot samples ($n = 45$ per plot) were collected biweekly during the development of the stem mother and her colony, from May to July in all four experimental plots (described above). A specific objective here was to more precisely determine the sequence of aphid generations in *M. abietinus* colonies, so sampling was increased to a daily basis during the first five days of June in all four plots. This period was deemed critical in the determination of the generation to which aphids belong in the colony, based on previous observations (unpublished data). One sample consisted of the two subterminal buds/nodal shoots and the terminal bud/shoot of the current year (Powell 1982), and the terminal shoot of the previous year, on which overwintering eggs and newly hatched stem mothers are usually located. Each sample shoot was cut from the middle crown level on the southern section of the tree and placed separately in 160 mL plastic vials (VWR International, Radnor, Pennsylvania, United States of America), modified with a fine polyester mesh at its base for air circulation. In order to arrest development, all samples were kept at approximately 2 °C overnight until counted in the laboratory the following day, when aphid morphs were identified and development stage (instar) was determined. For the first two instars, we could not differentiate the apterous from the alate daughters (G2) of the stem mother. Only when G2 daughters reached the third instar could the alate morph be identified to their wingbuds.

Statistical analyses

Data were analysed with SAS 9.4 (SAS Institute, Cary, North Carolina, United States of America), with the following procedures: PROC MIXED was used to compare colony growth rates and proportions of G2 apterae in the natural versus the semi-protected environment, where fixed effects were treatment (*i.e.*, the semi-protected versus control shoots), date, and the interaction treatment*date, with fir shoot nested within date as random effects. PROC GLIMMIX was used to compare colony growth rates in 2015 depending on host species, where fixed effects were host species, Julian day, and the interaction host species*Julian day, with experimental plot nested within host species as random effects.

When required, square root transformations were applied to the data in order to meet the assumptions underlying linear regression analysis.

Results

Climate-warming field experiment (plot B1)

In 2015, a total of 30 semi-protected shoots were collected, along with 44 unprotected shoots (*i.e.*, the control group) bearing a stem mother and/or its aphid colony. Similarly in 2016, a total of 42 semi-protected shoots were collected, along with 39 unprotected shoots. For the semi-protected shoots, the presence of hoverfly larvae (Diptera: Syrphidae: Syrphinae), easily identifiable by their vibrant yellow or green pigmentation, accounted for 6.9% sample loss and strong winds, for 25.4% sample loss. The global average temperature difference inside the semi-protected shelter versus nearby unprotected shoots in the plantation was measured at 1.04 ± 0.09 °C in 2015 and 2.55 ± 0.15 °C in 2016. During the night, temperature differences were smaller than 1 °C during both experiments, as could be expected, but average daily temperatures in the semi-protective shelters often exceeded that of the unaltered ambient temperatures around the unprotected shoots by 5 °C, especially during hot and sunny days (Figure 2.1). In 2016, mortality rates observed in the semi-protective shelters averaged $20.0 \pm 3.5\%$ per colony (no mortality was observed in 2015).

Colony growth rate in a warmer environment

For both years, warmer air temperatures inside the semi-protective shelter very significantly increased the average number of aphids per infested shoot when compared to the control group ($F_{1,12} = 16.65$, $P = 0.0015$ in 2015; $F_{1,16} = 45.07$, $P < 0.0001$ in 2016). As expected, initial colonies grew rapidly as the season advanced ($F_{2,25} = 14.97$, $P < 0.0001$ in 2015; $F_{1,20} = 24.14$, $P < 0.0001$ in 2016), and the colony growth rate was clearly positively affected by the semi-protected environment ($F_{2,12} = 7.46$, $P = 0.0078$ in 2015; $F_{1,16} = 8.76$, $P = 0.0092$ in 2016) (Figure 2.1A–B). In 2016, a notably smaller increase in colony size in early season was observed when compared to a similar date in 2015 (Figure 2.1A–B).

Proportion of G2 apterae in a warmer environment

For both years, the semi-protective shelter, causing increased colony size, had no significant effect on the proportion of G2 apterae ($F_{1,12} = 0.04$, $P = 0.8392$ in 2015; $F_{1,21} = 2.99$, $P = 0.0983$ in 2016), neither did the date ($F_{2,25} = 3.31$, $P = 0.0529$ in 2015; $F_{1,24} = 0.16$, $P = 0.6889$ in 2016) nor their interaction ($F_{2,12} = 0.31$, $P = 0.7408$ in 2015; $F_{1,21} = 0.34$, $P = 0.5642$ in 2016) (Figure 3.1A–B). Average proportions of G2 apterae for untreated (control) aphid colonies from unprotected shoots varied from $56.2 \pm 17.5\%$ to $88.5 \pm 6.15\%$ in 2015 (Figure 3.1A) and from $50.0 \pm 16.7\%$ to $53.9 \pm 14.4\%$ in 2016 (Figure 3.1B), according to date.

Phenology of Mindarus abietinus (all four plots)

Phenology on balsam fir

During the 2015 growing season, since aphid densities were most abundant in plot B1 (balsam fir), data from this site best illustrate *M. abietinus* phenology and density fluctuations in plantations (Figure 2.4). During the season, all morphs were observed, except for the adult oviparae, but immature oviparae were observed in mid to late June. Immature stem mothers were observed on the first collection date, and mature individuals were observed in mid-May (see Figure 2.4 for details). Overwintering eggs were first observed on current-year shoots at the end of June. Even though aphid densities varied considerably between experimental plots, similar tendencies in phenology were observed (Supplementary Figures 2.6-2.8).

Generational separation of G2 and G3 alate daughters

In preliminary studies in 2014 for the same experimental plots (unpublished data), the young nymphs produced by the aging stem mother (young G2 nymphs) and those from her mature apterous offspring (young G3 nymphs) appeared concurrently and thus could not be separated, despite belonging to successive generations of the cycle. In order to attempt separating the resulting two overlapping generations of alate nymphs in this complex cycle (G2 and G3 alatae), samples from five consecutive dates were collected between 1–5 June 2015, when it was possible to directly follow late development of the G2 apterae and the subsequent production of young G3 nymphs (Figure 2.4). By correctly separating the G2 and G3 generations of alate daughters, the first young progeny of G2 apterae (*i.e.*, first and second

instars), subsequently maturing as G3 alatae, were first observed between 3–5 June 2015, depending on experimental plot. Proportions of G2 apterae were thus estimated to vary between 60.0 and 100%, depending on collection date.

Impact of host species (all four plots)

Bud break on balsam fir occurred approximately two weeks prior to Fraser fir in 2015 (Figure 2.5), while the buds of the Canaan fir started to break at the same time as the closely related balsam fir, but in smaller proportions. The relatively low aphid densities and great variability in colony composition between experimental plots made it difficult to precisely quantify colony growth rates according to host tree species (see Figure 2.1 and Supplementary Figures 2.6-2.8). We used simple linear regressions of colony size (*i.e.*, the number of aphids per infested shoot) on time (date), which were compared between tree species. Sampling dates occurring later than the first appearance of adult alate daughters (G2 and G3) were excluded from the regression, as these aphids leave the colony by flying and no longer contribute to colony size and growth. No effects included in the regression for colony growth in 2015 were significant ($F_{2,106} = 0.60$, $P = 0.5512$, interaction host species*Julian day), nor was the direct effect of host species ($F_{2,1} = 0.59$, $P = 0.6774$), and Julian day ($F_{1,106} = 0.04$, $P = 0.8340$), indicating that colony size varied little in the early season and was similar between all three host fir species.

Discussion

The positive effect of ambient temperature in the semi-protective shelters on *M. abietinus* colony size during the early season is demonstrated in the climate-warming field experiment, since the effect of the semi-protective shelters increased colony size substantially. Initial colony growth rates were significantly higher in the experimentally warmer environment, as one would expect for these small insects. However, in 2016, mid-day temperatures exceeding 45 °C were measured in the semi-protected shelter on four separate dates, varying slightly between semi-protected shoots, which could account for the recorded numbers of aphid deaths (*i.e.*, ranging from 3.1–23.9% per colony) in the semi-protected colonies. Such high temperatures are abnormal and could be very stressful for

aphids and their nutritional symbionts (Wernegreen 2012). They also indicate that our shelters had some limitations in recreating natural climate warming, as it is unlikely that control aphids on unprotected shoots experienced such high temperatures. It is worth noting that factors other than warming may have positively influenced colony size in the semi-protective shelter. For example, a colony of *M. abietinus* inside a pseudogall may be naturally protected against adverse weather conditions, like heavy rainfall and strong winds (review of Stone and Schönrogge 2003). The semi-protective shelters most likely offered additional protection throughout these unfavourable conditions, resulting in fewer individuals falling from the shoot during rough weather, although, this additional contribution to colony size may be negligible.

Another contributing factor to aphid loss in this experiment was the presence of hoverfly larvae in the semi-protective shelters, which accounted for 6.9% sample loss during both experiments. These shelters were designed to be “semi-protective”, with the small opening at the apex of the cone-shaped shelter, where potential crawling predators such as hoverfly larvae could enter, allowing for natural biological control to occur in pseudogalls. We noted that when one or two hoverfly larvae, usually late instar individuals, were found within the pseudogall, absolutely every aphid in the colony had been consumed, suggesting a voracious appetite for these aphidophagous predators. Interestingly, adult hoverflies captured in Malaise traps deployed nearby in the plantation were identified as species predominantly from the *Sphaerophoria* Lepeletier and Serville and *Toxomerus* Macquart genera (unpublished data). These hoverflies, along with several species of lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae) and green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) can form a diverse community of aphid predators, each group having the potential to become effective biocontrol agents of *M. abietinus* in commercial Christmas tree plantations, notably because of their general abundance around fir trees (Fondren *et al.* 2004; Berthiaume *et al.* 2007, 2016).

Average colony size, measured as the number of aphids per infested shoot, remained relatively low across all plantations, despite the absence of insecticidal aphid control in all four plots, when compared to those studied in the mid-1990s (Deland *et al.* 1998). During

that period, *M. abietinus* could sometimes be observed on all sampled shoots in some plantations, where colony size ranged from around 15 to 90 aphids on average per infested shoot at the height of the season. Since the late 1990s, when targeted insecticidal control of *M. abietinus* became more efficient, due to a better understanding of their phenology, frequent monitoring, and effective pesticide control (*i.e.*, generally with Diazinon 500 EC), population densities for this aphid in commercial fir plantations have remained relatively low in southern Québec (Deland *et al.* 1998; Berthiaume *et al.* 2001a; D. Choquette, MAPAQ-Estrie, personal communication). This remains so for the current study, since the average colony size per infested shoot has dwindled to no more than 10 individuals. We cannot explain how colony size is now so reduced in comparison, but our observations support the idea that natural control by aphid predators could play a role under reduced pesticide control use. However, from a different perspective, studying now the phenology of the balsam twig aphid in commercial fir plantations with low population densities makes it more difficult than before to extract new and important information on the dynamics of this species in Christmas tree plantations.

Seasonal population trends in the complex cycle of *M. abietinus* did not vary remarkably since last studied almost 20 years ago in southern Québec (Deland *et al.* 1998). However, spring emergence of stem mothers and the appearance of overwintering eggs were observed between three and nine days later than in the mid-1990s. This slight yet consistent difference in phenology could partly be explained by regional differences in temperature, since the experimental sites selected by Deland *et al.* (1998) were located approximately 80 km south of the ones used in this study, in a slightly warmer climate implying possibly faster development for the stem mother and her colony, which is also the case for *M. abietinus* populations studied in lower latitudes like North Carolina, United States of America (Nettleton and Hain 1982) and southern Michigan, United States of America (Fondren and McCullough 2003).

Preliminary field observations (2014, unpublished data) suggest that colony growth rates on balsam fir could be faster than on Fraser fir, but this was not observed in 2015, probably due to very low densities in all four sampled plots. Since buds that break open

earlier in the season show more damage than those that break later on (Desrosiers 1998; Fondren and McCullough 2003), colony size can be notably affected by bud break phenology. Fraser fir buds break open at a later date than those of balsam firs (see Figure 2.5), which can contribute to the overall susceptibility of this fir tree towards *M. abietinus* (DeHayes 1981; Desrosiers 1998). For the upcoming decades, increasing air temperatures may hasten bud break phenology and the access of the developing stem mother to the nutritive young fir shoots, possibly resulting in more colonies of greater density. Since overwintering eggs may possibly develop earlier in the future due to advanced diapause termination, well before bud break occurs, global warming may play a decisive role in the relative phenologies of *M. abietinus* and its host tree, and potential damage to fir shoots by possibly larger colonies.

In 2015 and 2016, the proportion of G2 apterae produced by the stem mother was much higher than what was previously observed in New Brunswick, Canada during the 1960s, and in Québec in the 1990s, when it was less than 10% (Varty 1968; Deland *et al.* 1998). In this study, the correct separation of the two generations of sexuparous alatae (G2 and G3) highlights the potential of the G2 apterae to greatly affect final colony size, since each individual can potentially produce as many alate daughters as their stem mother (Varty 1968). Notably, a proportion of G2 apterae that is several times higher than a few decades ago could have substantially increased maximum aphid densities per shoot and the number of alate daughters (G2 and G3) that ultimately migrate onto new shoots, which could increase local colony density and dispersion of the sexuales and the overwintering eggs. The mechanism for *M. abietinus* morph determination among stem mother progeny has not been studied, but a possible explanation for the higher proportions of G2 apterae observed here in the field are the initial crowding conditions during the development of the stem mother and that of her colonial offspring.

Tactile stimulation between stem mothers accessing newly opening buds (*i.e.*, pre-natal control) and/or her nymphs (*i.e.*, post-natal control) could favour wing development in G2 aphids, a plastic phenotypic trait that varies between Aphididae species (Johnson 1965; Lees 1967; Mehrparvar *et al.* 2013). Though not studied to our knowledge for phylogenetically

distant Mindarinae conifer aphids such as *M. abietinus*, this capacity to induce wing formation by contact between stem mothers and/or their progeny could explain why higher proportions of G2 apterae were observed here than in previous studies in nearby regions. When shoots were examined in the 1990s, before properly timed insecticidal control was practised in southern Québec, up to dozens of eggs could be observed on a single shoot (Deland *et al.* 1998). If several *M. abietinus* stem mothers were simultaneously competing for access and feeding sites on the same opening bud or newly exposed shoot before starting a colony, their close contact and/or subsequent crowding among the early instar progeny could favour wing development and result in lower proportions of G2 apterae.

Other factors such as predation, nutrition, and temperature may also play a role in the induction of wing formation for developing aphids (Müller *et al.* 2001). It has been shown that relatively high temperatures favour apterous aphid morph determination (Schaefer and Judge 1971; Liu 1994), which contradicts the general assumption that activity, therefore tactile stimulation, increases in a hotter environment. But such an indirect effect of temperature can be ruled out in this study, since proportions of G2 apterae in semi-protective shelters (*i.e.*, a hotter environment during the day) did not vary significantly from those on unprotected shoots. Thus, a combination of biotic and abiotic factors is probably necessary for morph determination in a colony of *M. abietinus*, but we suggest that initial density of stem mothers and their colonial offspring is a factor, which needs further study.

This study has shed new light on *M. abietinus* ecology and its complex interactions with host tree phenology and temperature variation in relation to seasonal and regional climate. We showed that semi-protective shelters, thus likely providing a warmer environment, has a positive effect on incipient colony growth rates of *M. abietinus* on balsam fir, which would increase damage to fir shoots. In the following decades, increasing air temperatures brought on by climate change may benefit this species and reinforce its status as an important pest in commercial Christmas tree plantations. For future studies, it would be interesting to test the effects of temperature on the development of the stem mother in relation to fir bud break. Colony morph composition as a function of stem mother density and fecundity should also be studied, since this may play an important role in determining

the proportion of G2 apterae. This proportion could have a large effect on the eventual colony size and the density of *M. abietinus* overwintering eggs. Our preliminary field observations suggest that *M. abietinus* colonies could infest balsam fir shoots at a higher rate than Fraser fir shoots, which may be partly explained by the slight asynchrony between the development of the stem mother and the bud break phenology of Fraser firs, but this needs further study. For the first time, we report data that separate both overlapping generations of alate daughters in colonies initiated by stem mothers, which led to observing a much higher proportion of G2 apterae than previously reported for this aphid.

Acknowledgements

We thank Simon-Charles Blouin, William Champagne-Cauchon, and Jonathan Franchomme (Université Laval) for their assistance in the field and in the laboratory. For statistical help, we thank Aurélien Nicosia (Université Laval). We also thank Dominique Choquette from the Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ-Estrie) and Émilie Turcotte-Côté (Club agroenvironnemental de l'Estrie) for their positive input throughout the project. We are equally thankful to Gérald Couture (Québec Balsams Export) for allowing us to use his installations during the project and to sample in his plantations. This study was supported by the Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec - Programme Innov'Action agroalimentaire grant #IA113043 to Conrad Cloutier.

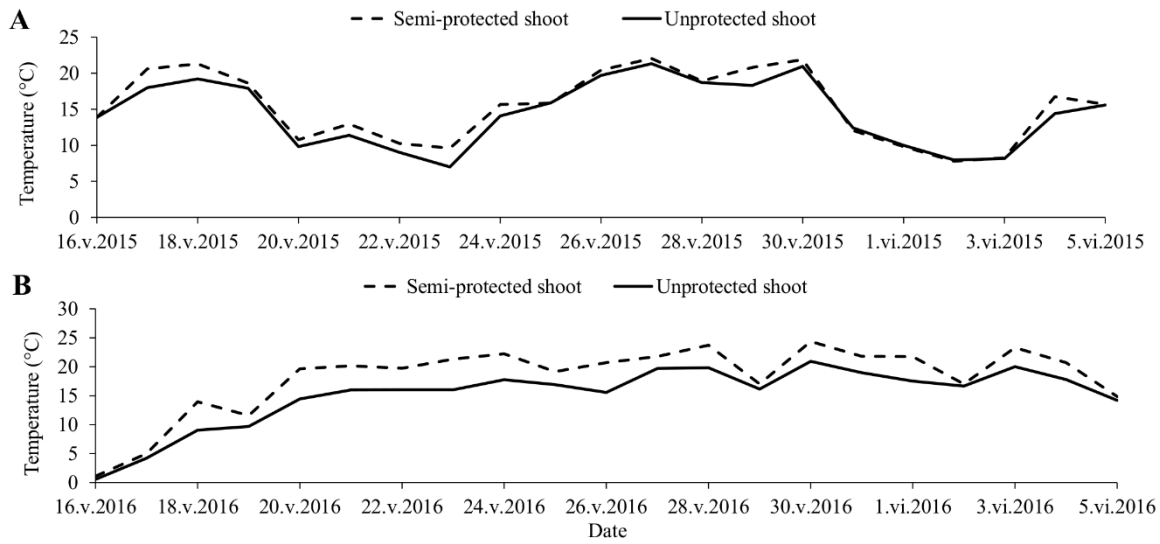


Figure 2.1 Average daily temperatures around semi-protected and unprotected balsam fir shoots in spring 2015 (A) and 2016 (B), during development of *Mindarus abietinus* stem mothers and their offspring.

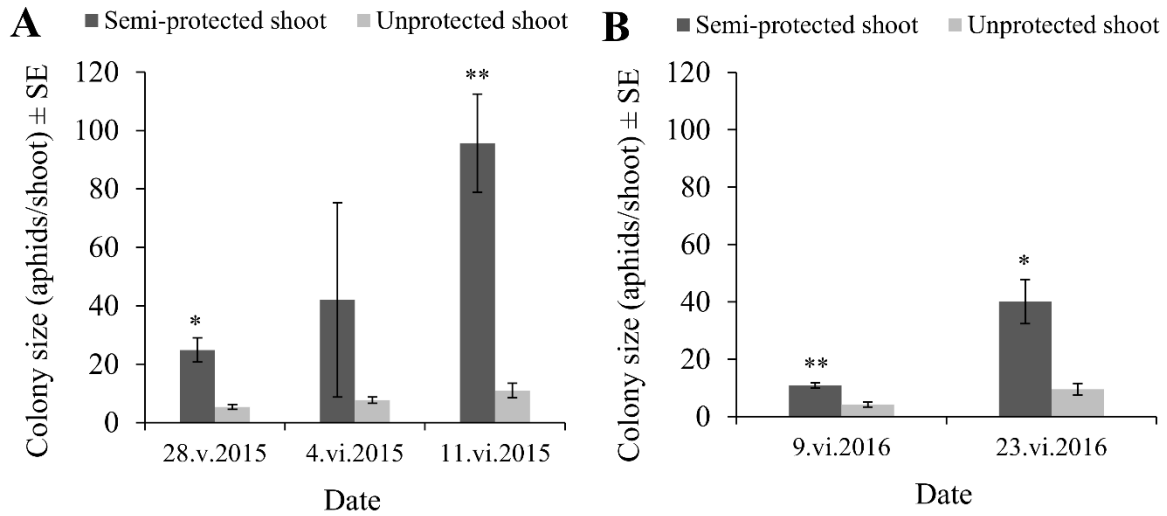


Figure 2.2 *Mindarus abietinus* colony size (mean \pm standard error) in semi-protected and unprotected balsam fir shoots for 2015 (A) and 2016 (B), where * indicates a significant effect ($P = 0.0001$) and ** indicates a highly significant effect ($P < 0.0001$) of the treatment (increased air temperature around the shoot in the semi-protective shelter). SE, standard error.

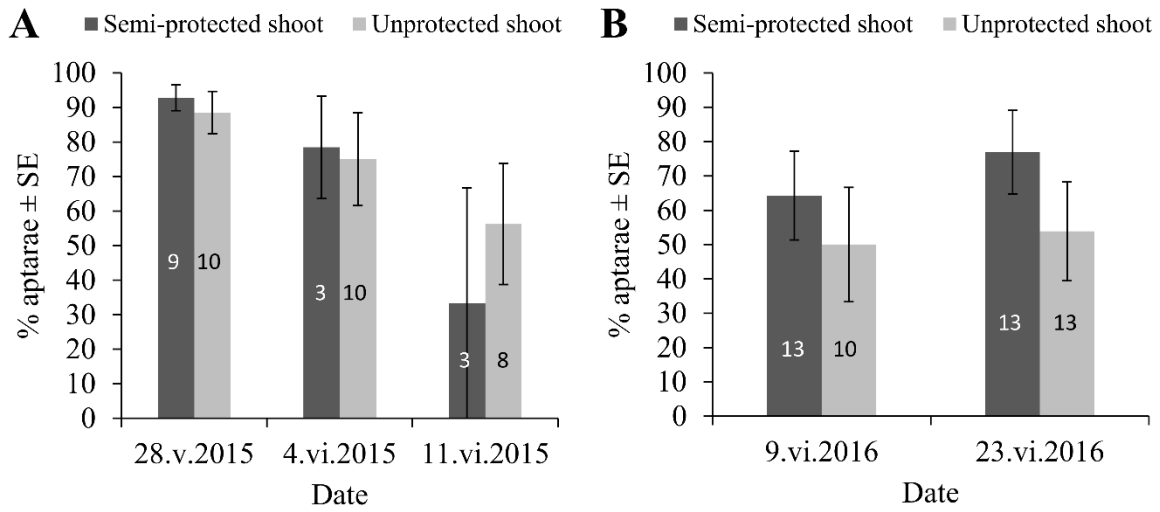


Figure 2.3 *Mindarus abietinus* proportion (mean \pm standard error) of G2 apterae in semi-protected and unprotected balsam fir shoots for 2015 (A) and 2016 (B). Sample sizes are indicated in the rectangles. SE, standard error.

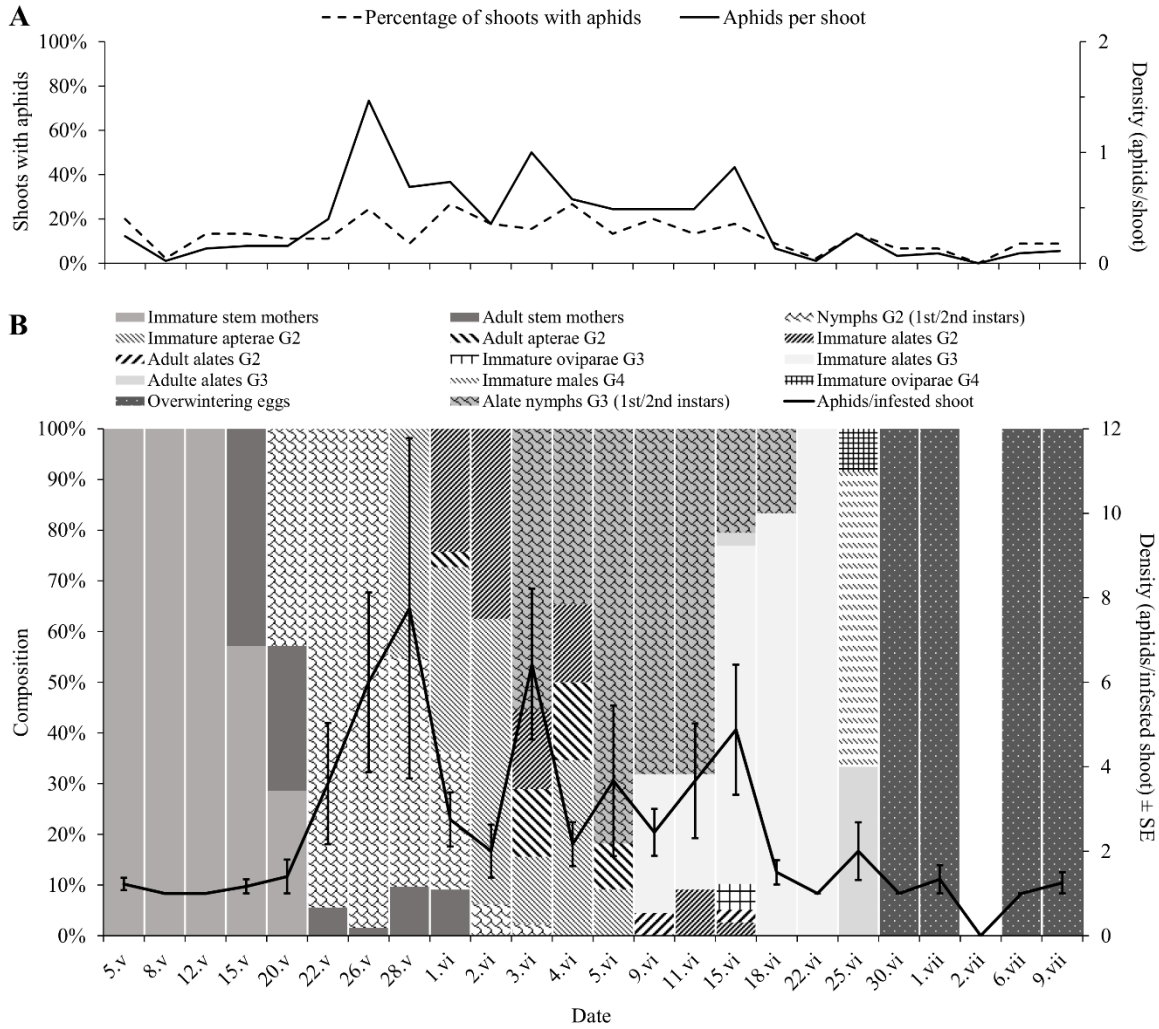


Figure 2.4 Variations of average aphid density per shoot ($n = 45$) in 2015 balsam fir plot B1, with percentage of shoots bearing ≥ 1 aphids (A); seasonal composition (morph, age group) for *Mindarus abietinus* colonies and colony size (mean \pm standard error) (B). Note: the x-axis is not continuous and only represents the series of collection dates. SE, standard error.

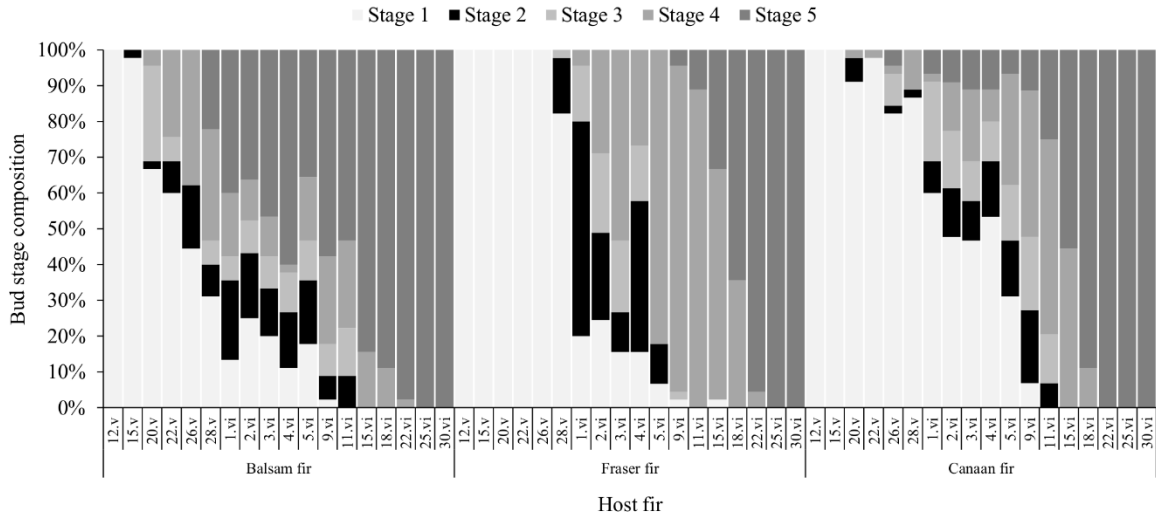


Figure 2.5 Terminal bud break phenology according to host species (balsam, Fraser, or Canaan fir) in 2015 (plots B1, F, and C); fir stages 1 to 5 are based on Osawa *et al.* (1983), wherein stage 2 (*i.e.*, the black rectangles) is when immature *Mindarus abietinus* stem mothers usually migrate onto the newly-exposed shoot of the current year.

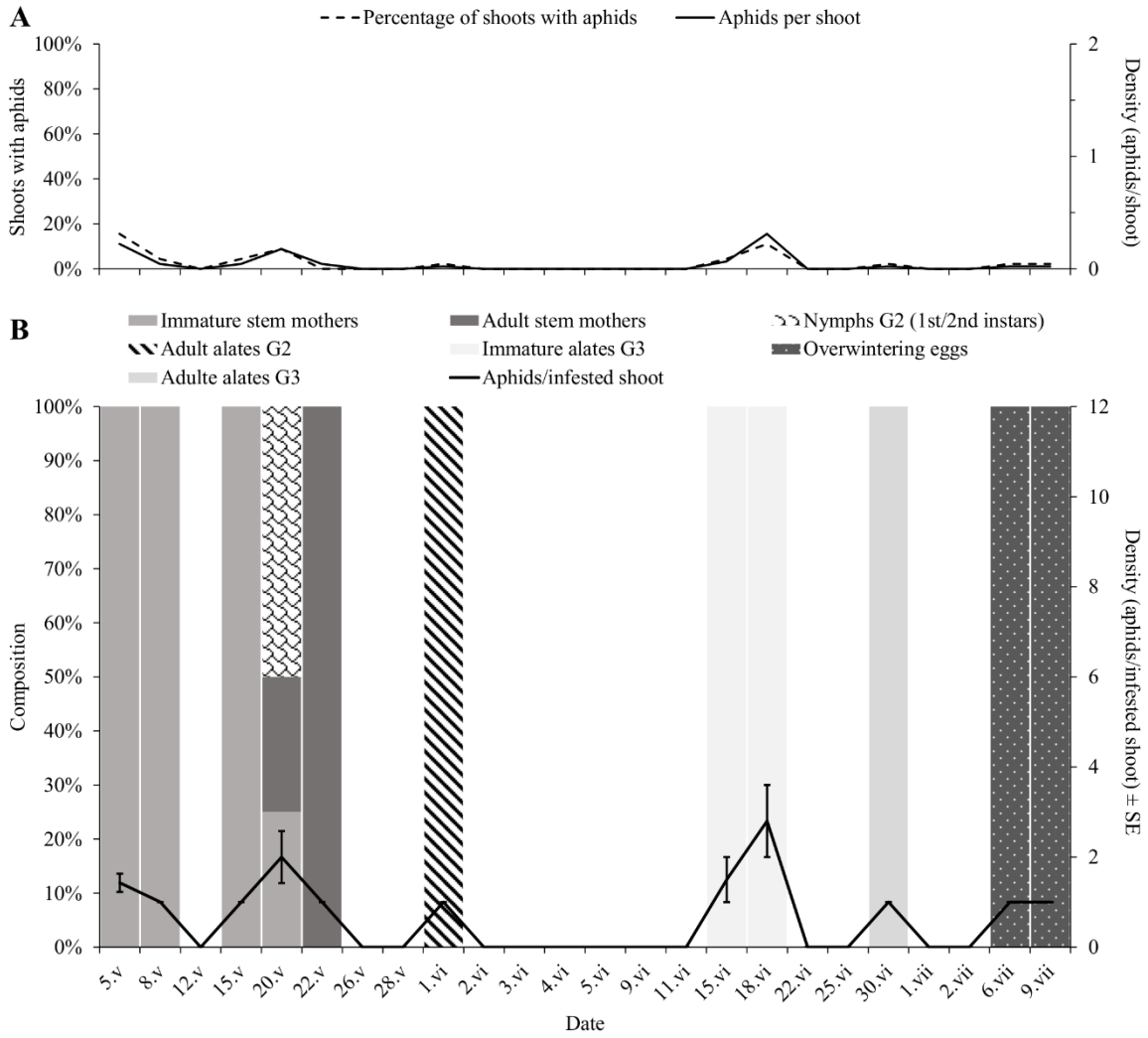


Figure 2.6 Variations of average aphid density per shoot ($n = 45$) in 2015 Fraser fir plot F, with percentage of shoots bearing ≥ 1 aphids (A); seasonal composition (morph, age group) for *Mindarus abietinus* colonies and colony size (mean \pm standard error) (B). Note: the x-axis is not continuous and only represents the series of collection dates. SE, standard error.

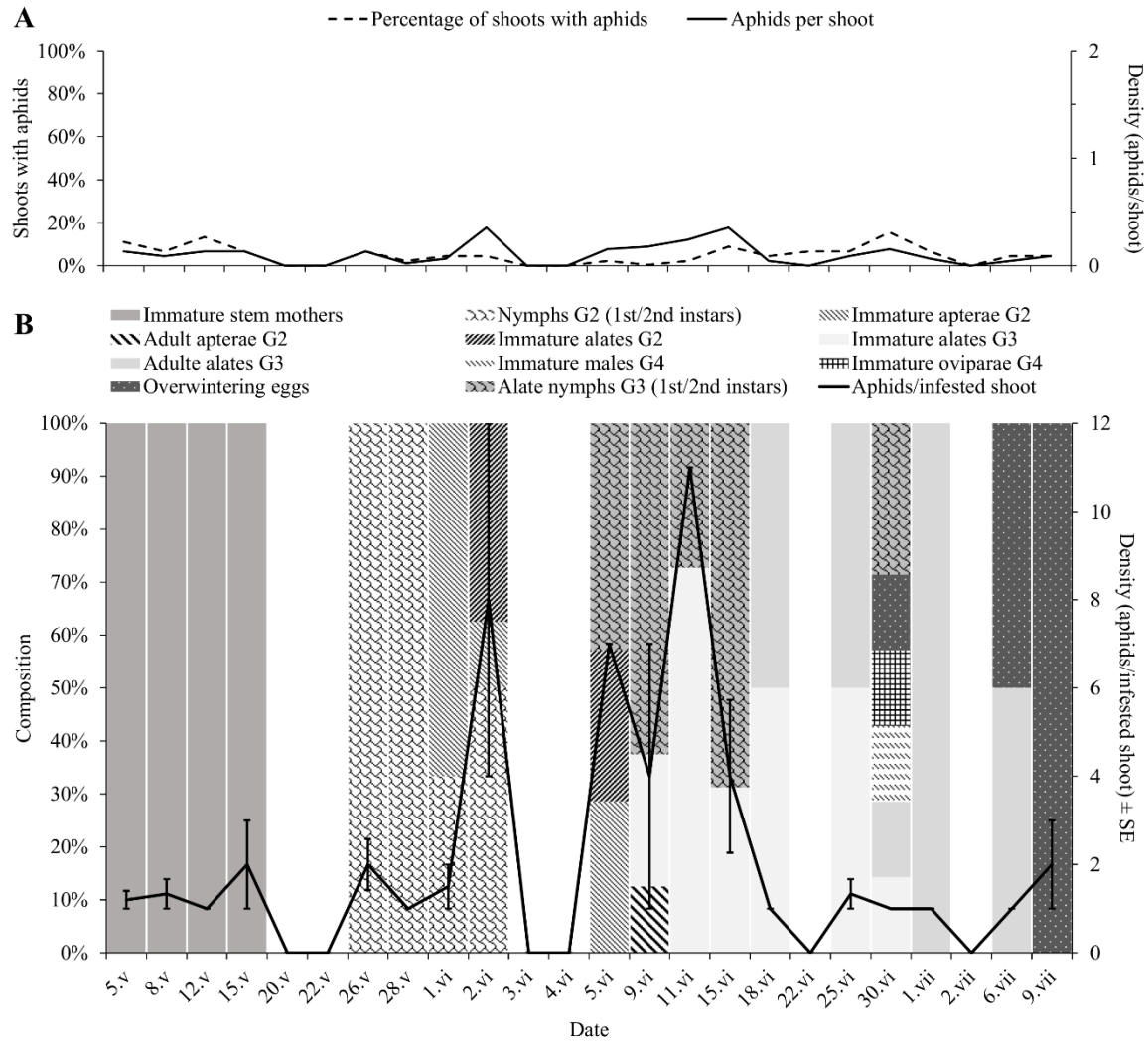


Figure 2.7 Variations of average aphid density per shoot ($n = 45$) in 2015 balsam fir plot B2, with percentage of shoots bearing ≥ 1 aphids (A); seasonal composition (morph, age group) for *Mindarus abietinus* colonies and colony size (mean \pm standard error) (B). Note: the x-axis is not continuous and only represents the series of collection dates. SE, standard error.

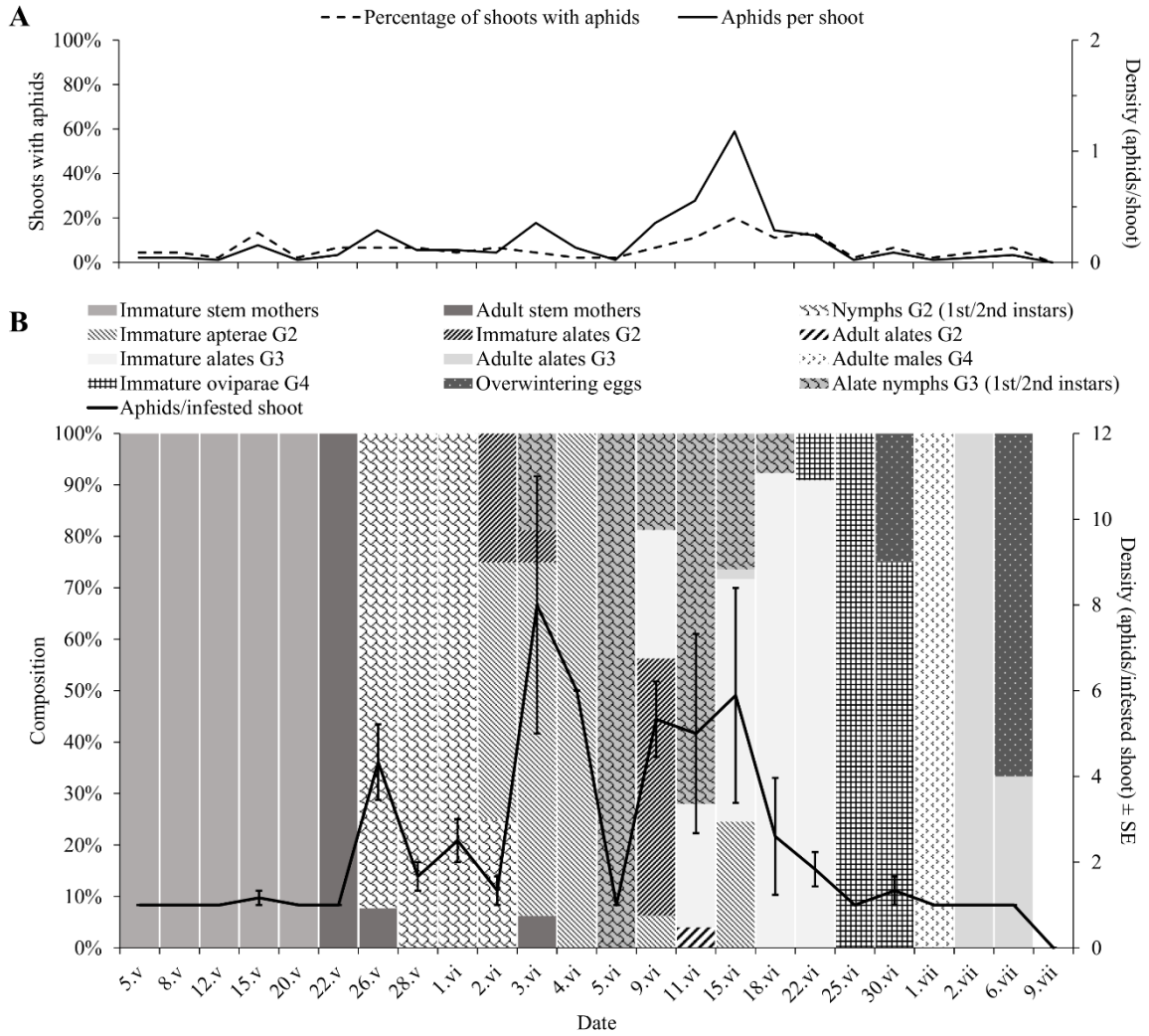


Figure 2.8 Variations of average aphid density per shoot ($n = 45$) in 2015 Canaan fir plot C, with percentage of shoots bearing ≥ 1 aphids (A); seasonal composition (morph, age group) for *Mindarus abietinus* colonies and colony size (mean \pm standard error) (B). Note: the x -axis is not continuous and only represents the series of collection dates. SE, standard error.

Chapitre 3 : Novel temperature-dependent development rate models for postdiapause egg eclosion of three important arthropod pests found in commercial Christmas tree plantations of southern Québec, Canada

Résumé

Le puceron des pousses du sapin *Mindarus abietinus* Koch (Hemiptera : Aphididae), le tétranyque de l'épinette *Oligonychus ununguis* (Jacobi) (Acari : Tetranychidae) et la cochenille des aiguilles du pin *Chionaspis pinifoliae* (Fitch) (Hemiptera : Diaspididae) sont d'importants ravageurs des arbres de Noël au Québec. Le développement des œufs hivernants postdiapausants, en fonction de la température, n'a jamais été étudié pour les populations du sud du Québec, où a lieu la majorité de cette culture. L'accumulation du temps physiologique en degrés-jours de croissance (DJ) est un outil essentiel pour prédire la date d'éclosion des œufs de ravageurs, alors que les immatures de première génération sont vulnérables aux traitements insecticides. Le taux de développement des œufs hivernants a été mesuré en conditions contrôlées pour cinq températures constantes dans la gamme 11-23 °C, calculé à partir du temps de développement requis pour l'éclosion d'œufs collectés en plantation de sapin baumier. Le modèle linéaire standard et trois modèles non linéaires publiés ont été évalués pour leur capacité à prédire les paramètres biologiques de réponse à la température et le taux de développement. Pour les trois espèces, le modèle Lactin-2 a le mieux prédit le taux de développement. L'éclosion des œufs sur le terrain a été validée avec le calcul du temps physiologique accumulé en DJ avec une interprétation particulière de la méthode des moyennes basée sur les températures quotidiennes maximales et minimales, en association avec le modèle linéaire. Cela a permis de prédire l'éclosion printanière sur le terrain à cinq jours près, pendant trois années consécutives (2015-2017).

Abstract

The balsam twig aphid *Mindarus abietinus* Koch (Hemiptera: Aphididae), the spruce spider mite *Oligonychus ununguis* (Jacobi) (Acari: Tetranychidae), and the pine needle scale *Chionaspis pinifoliae* (Fitch) (Hemiptera: Diaspididae) are three important pests for the

Christmas tree industry of Québec, Canada. Temperature-dependent development rates for postdiapause overwintering eggs of these three species have never been studied for populations located in southern Québec, where the vast majority of Christmas trees are grown. The accumulation of physiological time in growing degree days (GDD) is a standard tool to predict egg eclosion dates for pests, when first generation immatures are most vulnerable to insecticidal control. Development rates for postdiapause eggs were tested at five constant temperatures in the 11-23 °C range under controlled conditions, based on time before hatching for eggs collected in a balsam fir plantation in late winter. The standard linear model and three published nonlinear models were fitted to the data and compared for their ability to estimate key biological temperature parameters and to accurately predict development rates of postdiapause eggs. For all three species, the Lactin-2 nonlinear model most accurately predicted experimentally-measured development rates. Validation of model predictions of egg eclosion time on balsam fir in the field was reasonably accurate using the classical linear model where field-accumulated GDD were calculated with a particular interpretation of the average method based on daily maximum and minimum temperatures. The linear model could predict mean egg eclosion within five days of eclosion dates observed in the field, for three consecutive years (2015-2017).

Introduction

Temperature-dependent development in insects and mites is an important physiological trait that can strongly influence population dynamics, therefore it is often studied for pest management purposes (Roy *et al.* 2002; Trudgill *et al.* 2005; Sandhu *et al.* 2010; Moore and Remais 2014). Aside from rare exceptions (see Heinrich 1974), poikilothermic life processes respond to daily temperature fluctuations and, on a larger time scale, to seasonal trends in temperature (Speight *et al.* 2008), which are most likely going to change during the following decades under the impact of anthropogenic warming (Romero-Lankao *et al.* 2014; Ouranos 2015). Global warming will generally affect the fitness of these organisms, perhaps even providing an adaptive advantage for species that evolved in cooler climates (Deutsch *et al.* 2008; Amarasekare and Savage 2012). In order to better understand the effects of temperature on the development of poikilotherms in a gradually-warming climate, this study focuses on

three conifer arthropods notably considered as pests in commercial Christmas tree plantations of southern Québec, Canada.

The rate of development R_{dev} for poikilotherms, most simply estimated as the reciprocal of time (*e.g.*, hours or days) taken to reach maturity or to complete specific life stages (Roy *et al.* 2002), varies systematically according to temperatures above freezing and below the tolerable maximum (Speight *et al.* 2008; Moore and Remais 2014). This relation has been variously described mathematically with the classical linear model (Ikemoto and Takai 2000; Trudgill *et al.* 2005) and several nonlinear models (*e.g.*, Table 1 in Zahiri *et al.* 2010). With nonlinear models, the thermal dependence of development rates is characterised by three theoretical biological temperature parameters: the low and high temperature thresholds (T_{min} and T_{max}), and the optimal temperature (T_{opt}). In this three-parameter mathematical representation, the R_{dev} is nil at T_{min} , increases in a quasilinear fashion between T_{min} and T_{opt} where it is maximal, and then plummets rapidly to become nil again at T_{max} (Brière *et al.* 1999; Trudgill *et al.* 2005; Paaijmans *et al.* 2013). This curvilinear relation between temperature and R_{dev} provides a more or less accurate representation of the thermal requirements for a developing poikilotherm and the range of temperatures in which its development is possible in nature (Hoffmann 2010).

For Christmas tree growers targeting timely control of pests during their most vulnerable development stages, thermal requirements are most easily approximated using physiological time or time needed to develop at temperatures above threshold, expressed as growing degree days (GDD), which is derived from the linear model. This time is assumed to be fixed for a given life stage and is thus often reported as a “thermal constant” (K), directly obtained using the reciprocal of the slope from the linear model (Ikemoto and Takai 2000; Trudgill *et al.* 2005). The linear model can provide an accurate prediction of emergence of a target stage if field temperatures generally fall within the intermediate viable range, where development rate is linearly related to temperature or nearly so (Bergant and Trdan 2006). The most commonly used method to calculate the amount of GDD accumulated daily is based on the average of the daily temperature maximum and minimum above the development threshold (McMaster and Wilhelm 1997). In practice, the linear model-based prediction for

the occurrence of a final step (*e.g.*, egg eclosion) is based simply on cumulative daily GDD to reach the specific thermal constant for a certain development stage. Thus, with linear modelling in agriculture, only T_{min} and K are needed with accurate field temperatures, in order to predict when a pest completes a given life stage.

From the many nonlinear models available, some are more commonly used than others to model temperature-dependent development rates in poikilotherms (Roy *et al.* 2002). Although they do not estimate a thermal constant like the linear model, they can provide up to three critical temperature parameters (*i.e.*, T_{min} , T_{opt} , and T_{max}), which are useful for quantifying the thermal limits of a developing organism at a particular stage. For example, the Hilbert and Logan model, modified from the Logan-6 model (Logan *et al.* 1976), can estimate all three parameters mentioned above (Hilbert and Logan 1983). Another model, incorporating two important modifications on the Logan-6 model, known as the Lactin-2 model (Lactin *et al.* 1995), can also estimate all three thermal parameters. Modified versions of the third order polynomial, similar to the Analytis and the Brière-2 models (Analytis 1981; Brière *et al.* 1999), can also estimate these parameters either directly or indirectly, such as the Kontodimas-16 model (Kontodimas *et al.* 2004). With these nonlinear models, it is also possible to predict field egg eclosion, thus accounting for the curvilinear nature of development rates for the whole range of temperatures, including limiting ones near the thresholds for the studied species. For pests of economic importance, an appropriately-selected nonlinear development rate model can ultimately be integrated into complex phenological forecasting software allowing for yearly predictions of pest activity (*e.g.*, CIPRA in Canada). Therefore, studying the development of these arthropod pests in relation to ambient temperature could elucidate the most vulnerable stages in their respective life cycles, allowing for optimal control in the plantation with the use of pesticides (Nettleton and Hain 1982; Burden and Hart 1989; Richmond and Shetlar 1996).

In commercial Christmas tree plantations, the balsam twig aphid *Mindarus abietinus* Koch (Hemiptera: Aphididae) is generally a serious pest of economic importance, observed mainly on balsam fir *Abies balsamea* (Linnaeus) Miller (Pinaceae), but also on Fraser fir *Abies fraseri* (Pursh) Poiret (Pinaceae) (Nettleton and Hain 1982; Bradbury and Osgood

1986; Fondren and McCullough 2003). As for most aphids, its life cycle is complex and begins in the spring with the asexual fundatrix, or stem mother, which emerges from an overwintering egg in early May in southern Québec (Deland *et al.* 1998; Doherty *et al.* 2017). When fir buds break open, developing aphids of this first generation, which up to bud break had fed on shoots of the previous year, migrate onto the young current-year shoots to feed, where they mature and viviparously produce the second generation of aphids, thus forming a colony (Varty 1968). The growing colony stunts the growth of shoots and deforms their needles, thus creating a pseudogall, which protects the aphid colony, but reduces the aesthetic value of commercial Christmas trees, especially during the last two years before tree harvest (Nettleton and Hain 1982). Therefore, insecticidal treatments against *M. abietinus* should be most effective before the migration of the immature stem mothers onto the newly-expanding shoots, when this pest is most exposed (Kleintjes 1997). Estimates of *M. abietinus* for T_{min} and K for egg eclosion are available for New Brunswick, Canada and southern Québec (Varty 1968; Deland *et al.* 1998), but are based primarily on field observations (Table 3.1), instead of determination under controlled conditions at experimentally-fixed temperatures, as usually indicated (Brière *et al.* 1999; Roy *et al.* 2002; Trudgill *et al.* 2005).

The spruce spider mite *Oligonychus ununguis* (Jacobi) (Acari: Tetranychidae) is also considered a pest in commercial Christmas tree plantations, especially on Fraser fir (Boyne and Hain 1983; Richmond and Shetlar 1991; Cloutier *et al.* 2009). In southern Québec, its life cycle typically begins in mid-May when first generation mites emerge from overwintering eggs (Cloutier *et al.* 2009). The six-legged larvae and nymphs feed by sucking out the cellular contents of fir needles, which causes the yellowing and bronzing of foliage (Kielczewski 1966). During severe infestations of *O. ununguis* on fir, needle abscission, reduction in shoot growth, and even premature death of the host tree can occur (Löytteniemä 1971; Johnson and Lyon 1991). Relatively warm and dry conditions increase the fecundity of females, and a possible four to five generations may be observed from late spring to early fall when completing its cycle in southern Québec (Boyne and Hain 1983; Cloutier *et al.* 2009). As for the balsam twig aphid, the period for optimal control of *O. ununguis* rests just after the young larvae and nymphs of the first generation have emerged from the

overwintering eggs. A thermal constant for overwintering egg hatching has already been published for populations of *O. ununguis* in Ohio (Table 3.1) (Richmond and Shetlar 1996).

As for the pine needle scale *Chionaspis pinifoliae* (Fitch) (Hemiptera: Diaspididae), its presence is commonly reported on both balsam and Fraser firs in commercial Christmas tree plantations, but also on other ornamental pine and spruce conifer species (Miller *et al.* 2005). In Québec, *C. pinifoliae* has the status of an emerging pest of Christmas trees and is not known to cause any significant damage. Although not generally monitored by growers, it can be an obstacle for exportation. In Canada, it is a univoltine species, whereas in the United States, a second generation has been observed (Cumming 1953; Nielson and Johnson 1973). Both sexual and asexual parthenogenetic forms have been documented (Stimmann 1969; Luck and Dahlsten 1974). Typically, the hatching of overwintering eggs occurs around mid-June, after which the mobile stage or crawlers settle rapidly on the needles to pursue development and secrete their protective scale (Cumming 1953; Martel and Sharma 1968), thus limiting the time window when these insects are exposed and vulnerable to insecticide treatments. GDD models and thermal response data exist for the pine needle scale (Table 3.1), but are based on distant populations from Iowa and Michigan, United States of America (Burden and Hart 1989; Fondren and McCullough 2005), which are multivoltine.

The primary objective of this study was to experimentally test the effect of ambient temperature on the postdiapause development rates of *M. abietinus*, *O. ununguis*, and *C. pinifoliae*, in order to develop useful models to estimate the thermal requirements (*i.e.*, physiological time) for egg eclosion in the field and the biological temperature parameters during this stage (T_{min} , T_{opt} , T_{max} , and K) for the above three species. We hypothesise that the available thermal constants previously estimated for these arthropod pests are not well adapted for the populations found in southern Québec, nor in the current context of climate change. Optimising development models for local populations of these species could provide a better understanding of the effects of climate on them and facilitate their control, thus maximising the efficiency of pesticide treatments and reducing the frequency of their overall usage in commercial Christmas tree plantations.

Material and methods

Sample collection and experimental arenas

Eggs from *M. abietinus* and *O. ununguis* were collected on balsam fir shoots in a commercial Christmas tree plantation (45.905°N, 71.036°W) near the municipality of Courcelles, in the Estrie administrative region of southern Québec, Canada. Samples were collected on the 6th, 13th, and 20th of March 2017, when fir trees were still partially covered in snow. Development rates calculated from all three collection dates did not vary significantly, therefore all data were pooled for analysis. In order to avoid premature development within the egg after collection, all samples were kept at approximately 2 °C until examined in the laboratory. When an egg was found, the shoot was cut down to about 1 cm in length and the needles were carefully removed with a razor blade. Shoot sections with eggs were placed in 2 mL microtubes (Starstedt AG & Co., Nümbrecht, North Rhine-Westphalia, Germany) with small holes pierced through the lid for air circulation. For manipulation purposes, two *M. abietinus* eggs were put into each microtube. *Oligonychus ununguis* eggs were usually clustered onto single shoots, so one randomly-selected shoot section, containing several eggs, was allotted per microtube. All *C. pinifoliae* eggs were collected on the 13th of March 2017 from another plantation (45.950°N, 70.923°W) near the municipality of Saint-Évariste-de-Forsyth, approximately 10 km from the first site, from a single-generation parthenogenetic form of the scale. Egg clusters, hidden beneath the waxy scale, were carefully removed with a fine brush and randomly distributed in microtubes (approximately 20 eggs per microtube, see above). Throughout the experiment, we insured that around 10 µL of water was kept inside the lid of all microtubes with eggs, in order to maintain constant high humidity.

In 2016, eggs of the three species were collected similarly in the same plantations described above on the 4th of April 2016, for a preliminary experiment on their developmental response to temperature. Six constant temperature regimes were then tested (*i.e.*, 5, 11, 14, 17, 20, and 23) and observed development rates were calculated. However, these data were not used in modelling because we realised that spring egg development had already resumed on 4th of April 2016 when they were collected. These preliminary results are presented for comparison purposes only (see below).

Experimental temperatures

Experiments on postdiapause development of overwintering eggs in function of temperature were started in March 2017. We used Conviron E15 (Controlled Environments Ltd., Winnipeg, Manitoba, Canada) growth chambers set to provide a L16:D8 photoperiod and 65% relative humidity. Based on preliminary data (2015 and 2016, unpublished), five constant temperature regimes (11 °C, 14 °C, 17 °C, 20 °C, and 23 °C) were tested. Experimental temperature and relative humidity were recorded hourly inside each growth chamber with an integrating data logger (Onset, Cape Cod, Massachusetts, United States of America).

Analytical methods

Development time to egg eclosion and mortality rates (*i.e.*, failure to hatch) were recorded daily. The estimated time to egg eclosion was assumed to have occurred at midpoint between two consecutive observations (± 12 hours precision). Additionally, all unhatched eggs were kept for at least a week in their respective temperature regime, in order to assure that an accurate rate of survival was recorded.

Development rate models

Apart from the GDD linear model, three nonlinear development rate models, commonly used for illustrating temperature-dependent development in poikilotherms (Kontodimas *et al.* 2004), were tested (Table 3.2). For model selection, two criteria were used in assessing accuracy and performance (Roy *et al.* 2002): first, the model should describe the experimental data accurately, therefore the coefficient of determination (R^2) and the mean squared error (MSE) were compared between the models; second, the model should allow for a reliable estimation of the key biological temperature parameters, especially the low temperature threshold (T_{min}), which is generally used for calculating accumulated physiological time as GDD using the linear model in the field (Trudgill *et al.* 2005).

Field validation

To validate development rate models parametrised in the laboratory, the appearance of newly hatched immatures for the three species was recorded in the field, if present, during three consecutive springs (*i.e.*, from 2015 to 2017) and compared to model predictions. To calculate the accumulation of GDD in the plantation for a given day, we used an alternative interpretation of the average method (Equation 1) employed primarily in crop research (McMaster and Wilhelm 1997; Moore and Remais 2014), which accounts for regular temperature fluctuation around the developmental threshold (T_{min}):

$$\text{GDD} = \left(\frac{\delta_{max} + \delta_{min}}{2} \right) - T_{min} \quad (\text{Equation 1})$$

In this interpretation, the daily temperature minimum δ_{min} equals T_{min} if it falls below the developmental threshold (the same goes when the daily temperature maximum δ_{max} falls below T_{min}). This modification allowed for the accumulation of physiological time even when daily minimum temperatures did not exceed T_{min} . Field temperatures were recorded hourly in the plantation with a HOBO Pro v2 data logger (Onset, Cape Cod, Massachusetts, United States of America).

Statistical analyses: fitting development rate models

Data were analysed with SAS 9.4 (SAS Institute, Cary, North Carolina, United States of America), using the reciprocal of eclosion time as the development rate for each experimental temperature T , in order to fit the four development rate models (Table 3.2). Preliminary data, obtained in 2015 for a 25 °C constant temperature regime for *M. abietinus* and *O. ununguis* and a fluctuating temperature regime for *C. pinifoliae* (*i.e.*, 16 hours at 25 °C and 8 hours at 30 °C), provided a plausible estimate of the high temperature threshold T_{max} for nonlinear development rate models and was thus integrated in modelling, which of course was excluded from the linear model regression. For nonlinear models, development rate data were used to parametrise each model by iterative nonlinear regression based on the Marquardt algorithm (Marquardt 1963). PROC NLIN was used to fit all nonlinear development rate models with initial values of graphically-estimated parameters (Brière *et*

al. 1999). Afterwards, biological temperature parameters were either estimated directly from the model, or indirectly using other model parameters or by calculating the critical point of the first derivative $d(R_{dev})/d(T) = 0$ for T in the Kontodimas-16 model. PROC REG was used to fit the linear model, with T_{min} calculated indirectly as the unique extrapolated value of T when $R_{dev} = 0$, and the thermal constant K calculated as the reciprocal of the regression slope b (Table 3.2) (Ikemoto and Takai 2000; Trudgill *et al.* 2005).

Results

Development rates

Development rates from the 2017 experiment are plotted in Figure 3.1, which also includes for comparison the 2016 development rates from the preliminary experiment. For *M. abietinus*, development rates are markedly higher in 2016 than 2017 for similar temperatures (Figure 3.1A). This is also the case for the two higher temperature regimes tested on *O. ununguis*, where estimates of development rate are slightly higher for 2016 than 2017, although less so than *M. abietinus* (Figure 3.1B). In contrast for *C. pinifoliae*, 2016 development rates are similar for the same temperature regimes for both experiments (Figure 3.1C). These differences confirmed that, for both *M. abietinus* and *O. ununguis*, the 2016 eggs collected in early April were indeed collected after diapause had ended, and spring development had already begun.

Development time and egg survival

All results are provided in Table 3.3 for this section. Of all three species, *M. abietinus* always had the shortest egg eclosion time for a given temperature regime. In comparison with the aphid, the development of *O. ununguis* eggs required almost twice the amount of time before hatching for a given temperature. Eggs of *C. pinifoliae* took the longest to hatch for a given temperature regime, more than doubling the development times of the mite eggs. Egg eclosion rates were high and varied little between temperature regimes for both *M. abietinus* and *O. ununguis*, but a slightly lower survival rate was recorded for *M. abietinus* eggs at the highest 23 °C regime. For *C. pinifoliae*, data suggest that eclosion rates varied the most with

temperature, being lowest for the cooler temperatures (*i.e.*, 11 °C, 14 °C, and 17 °C) and notably higher at 20 °C and 23 °C.

Accuracy and precision of development rate models

For *M. abietinus*, explained variation of development rate by the tested models (R^2) was relatively high, varying from 0.8784 to 0.9995, with MSE varying accordingly (Table 3.4A). The Kontodimas-16 model failed to accurately predict the developmental rates of *M. abietinus* eggs for temperatures below 14 °C and above 20 °C (Figure 3.1A). Of the three nonlinear models tested, the Lactin-2 model scored highest overall and provided fairly accurate predictions for the development rates of *M. abietinus* as a function of temperature. The linear model had the second highest R^2 and predicted the development rates for *M. abietinus* similarly to the Lactin-2 model (Table 3.4A and Figure 3.1A). As for *O. ununguis* eggs, R^2 values varied between 0.8963 and 0.9982, with the MSE varying accordingly (Table 3.4B). Like *M. abietinus*, the Lactin-2 model scored highest and accurately predicted the development rates of the mite for all experimental temperatures. The Kontodimas-16 failed to accurately predict development rates for at least half of the experimental temperatures (Figure 3.1B) and the Hilbert and Logan model failed to converge and was thus excluded for *O. ununguis*. The linear model again scored second highest and predicted similar development rates as the Lactin-2 model. Finally, *C. pinifoliae* development rate models showed similar trends, with the Lactin-2 model scoring highest among the nonlinear models and predicting similar development rates as the linear model (Table 3.4C and Figure 3.1C). Again, the linear model's R^2 scored very high and was similar to that of the Lactin-2 model. For this species, the Hilbert and Logan model failed to accurately predict development rates for all five experimental temperatures.

Biological temperature parameters

Estimated parameters provided by all four tested models are given in Table 3.4, according to species. Even though the nonlinear models estimated all three critical temperature parameters (*i.e.*, T_{min} , T_{opt} , and T_{max}), only the Lactin-2 model provided apparently plausible estimates, especially for T_{min} and T_{max} . The other two nonlinear models

failed to provide realistic temperature parameters, except perhaps the T_{max} estimated from the Kontodimas-16 model for both *M. abietinus* and *O. ununguis*.

Field validation of the linear and Lactin-2 development rate models

From 2015, 2016, and 2017, predicted dates for egg eclosion in the field were estimated using temperatures recorded *in situ* from the plantation where eggs came from (Table 3.5). For validation of the Lactin-2 model, hourly development rates (and corresponding physiological time) were calculated for continuously-recorded field temperatures (*i.e.*, 1 measure per hour) and added sequentially until a total of 1.00 was reached, indicating that egg development should be complete on average, according to the Lactin-2 model. For all three species, the accumulation of physiological time in the field was assumed to have begun on the 1st of March, therefore only field temperatures recorded from that date onwards were used to estimate the date of egg eclosion for both the linear and Lactin-2 models. Parameters of the linear model, in conjunction with daily maximum and minimum temperatures (*i.e.*, Equation 1 and its interpretation), were used to follow the accumulation of physiological time (K in GDD) in the field for all three years (Figure 3.2). The linear model predicted egg eclosion within five days of the observed date in the field for all three species, most likely within one or two days of the actual mean date of eclosion (Table 3.5). The Lactin-2 model did not predict field egg eclosion as precisely as the linear model and consistently estimated it to occur between 4-15 days later than the linear model, depending on species.

Discussion

No published study has experimentally examined the effect of such a range of ambient temperatures on the development rates of *M. abietinus* and *O. ununguis*, the two most important arthropod pests in commercial Christmas tree plantations of southern Québec. As for *C. pinifoliae*, which is known mainly to attack *Pinus* trees (Nielsen and Johnson 1973), we hereby provide new insight on its temperature requirements for Québec populations from the same region. Of the three nonlinear development rate models fitted to experimental data, the Lactin-2 model was the best for its accuracy in predicting development rates according to temperature, which allowed for a reliable estimation of all three critical temperature

parameters, only one of which is obtained by fitting the linear model. However, the Lactin-2 model did not provide accurate predictions for egg eclosion in the field when compared to the linear model. Fitting this nonlinear model to field temperature data apparently overestimated development time in the field, since predictions for all three species fell behind those provided by the traditional linear model by up to 15 days. It is difficult to explain why such differences arise when comparing these two models for predicting field egg eclosion. Possibly, including the high temperature threshold, which was based on 2015 preliminary observations, may have decreased overall development rate predictions for lower temperatures (see Figure 3.1). Since nonlinear models must include critical temperature thresholds, the assumption that development rates are nil at both extremities may limit their capacity to accurately predict actual development rates around T_{min} and T_{max} . Experimental fluctuating temperature regimes around these critical thresholds should be tested to better estimate corresponding development rates, which may improve our capacity to predict field egg eclosion using nonlinear models.

The linear model with the modified averaging method used here consistently predicted egg hatching time within five days of the observed date in the field, despite the assumption that spring physiological time for egg hatching is a constant (K) in this modelling approach. This evidently cannot be true if the development rate-temperature relation is curvilinear, except for temperatures within the linear part, for most of the range between T_{min} and T_{opt} . However, our field data show that a linear model could practically be useful to predict postdiapause egg eclosion in the last three years, for all three species. Since field consultants and growers usually monitor pest emergence on a weekly basis, the “window of eclosion” seen in Figure 3.2 (*i.e.*, 95% confidence interval of K) points precisely enough to the actual emergence period of first generation immatures. The average method for calculating daily accumulation of GDD is generally more accurate when daily temperatures oscillate below T_{min} and T_{max} (Moore and Remais 2014). Since all five experimental temperatures tested are most likely within the intermediate linear response range, sufficient data to efficiently parametrise a linear model was provided by only the linear part of the asymmetrical curve. However, more experimental temperatures, especially below those of this study, may still improve the efficiency of our field predictions of egg eclosion with nonlinear development

rate models, five temperatures being a recommended minimum (Bergant and Trdan 2006). The estimation of T_{min} by extrapolation beyond the linear fit from five temperatures tested exposes a weakness in the linear model's ability to properly estimate this lower threshold, as it is quite possible that the actual T_{min} lies somewhere below the one provided by the linear model and that some development does occur below T_{min} , despite being very slow (Lamb 1992).

There is a clear trend among all three species with regard to their development threshold, physiological time requirements in GDD, and field egg eclosion date. From 2015 to 2017, predictions based on the linear model with daily GDD accumulation indicate a similar pattern of eclosion (Table 3.5), verified by field monitoring, except for the eclosion of *O. ununguis* in 2016 and 2017, due to very low population densities. This pattern of field eclosion is inversely correlated with the pattern of development rate. *Chionaspis pinifoliae* had the lowest egg development rates at all experimental temperatures and took longer to develop in the field. These species' development time is also correlated with lower temperature thresholds. *Chionaspis pinifoliae*, which has the highest T_{min} estimated at 9.3 ± 0.1 °C, is also the last species to emerge in late spring.

The first species to emerge is *M. abietinus*. Its Holarctic distribution matches that of its principal host tree, the balsam fir (Martineau 1986). A T_{min} of 5.4 ± 0.1 °C and relatively fast postdiapause development rates in the 11-23 °C range suggest that this aphid is better adapted to cooler temperatures and develops rather quickly on fir in spring. The fact that stem mothers must hatch and complete their early nymphal stages before bud break around mid-May (Doherty *et al.* 2017), lower temperature requirements in GDD and a lower T_{min} are expected. Early egg eclosion assures that the stem mothers will be ready for timely migration onto a newly-exposed shoot to start producing colonial offspring on the youngest stages of fir shoot growth. If egg development of the stem mother was temporarily halted by temperatures below T_{min} , her progeny would probably have limited access to the most susceptible, current-year fir needles emerging from the bud (Desrosiers 1998). In order for this to occur in southern Québec, postdiapause egg development should start at temperatures around 5 °C, which currently are most likely experienced in late April. Previous estimates for T_{min} and K

dating back from the 1990s in southern Québec for *M. abietinus* (*i.e.*, 95 GDD above 2 °C), based solely on field observations (Deland *et al.* 1998; Berthiaume *et al.* 2001a), were fairly close to those experimentally estimated here (*i.e.*, 105.9 GDD above 5.4 °C). For a slightly more southern climate, thermal requirements for *M. abietinus* egg eclosion were estimated at around 53 GDD above 10 °C in Lower Michigan, based on field observations (in this case, T_{min} was arbitrarily set to an agricultural standard for crop plants) (Fondren and McCullough 2003). Warmer spring temperatures in lower latitudes could accelerate fir bud break and hasten the stem mother's egg development. However, balsam twig aphid populations in North America most likely evolved to adapt by natural selection to local seasonal trends in temperature, hence the necessity to hatch before host tree bud break, which can vary according to geographic location (DeHayes 1980).

The emergence of *O. ununguis* came second during springtime, about two weeks later than the aphid in the plantation. The estimated T_{min} for egg development is slightly higher for *O. ununguis* than *M. abietinus*, estimated here at 7.1 ± 0.1 °C, which may be linked to this species having a wider distribution across the temperate regions of both hemispheres (Marshall 1986). Such a broad geographic distribution could explain why spruce spider mite eggs in southern Québec probably do not develop at temperatures below 7 °C. There is no apparent need for synchronicity between the hatching of *O. ununguis* immatures and fir bud break, assuming that the earliest active stages can feed on both the new and past-year foliage. This may partly explain why the mite eggs hatch later in the season than *M. abietinus*, whose colonies in pseudogalls can only form on early stage shoots before elongation. In Ohio, spruce spider mite eggs hatched during the final two weeks of April 1993 and 1994 at 143.3 ± 30.1 GDD above a T_{min} of 7.1 °C (Richmond and Shetlar 1996). In this Québec study, the mite population of a higher latitude requires approximately the same amount of physiological time above a similar threshold for egg eclosion (*i.e.*, 161.2 GDD above 7.1 °C). The possible lack of synchronicity between fir bud break phenology and springtime eclosion of the overwintering mite eggs may partly explain why thermal requirements of mite populations from different latitudes are similar.

The last species to emerge in late spring, *C. pinifoliae*, has the highest T_{min} and clearly requires more physiological time than the aphid and the mite for spring egg hatching, with field eclosion occurring considerably later during the second week of June (Table 3.5). Relatively lower hatch rates were observed for this species in the growth chambers (Table 3.3), possibly due to the removal of the protective waxy scale covering egg clusters, which was done to allow random assignment to experimental temperatures. Since eggs enclosed in the microtubes were not protected by their scale as in the field, these unnatural conditions could partly account for the lower survivorship observed. The presence of the waxy scale on unaltered fir needles and the fact that *C. pinifoliae* scales were concentrated on the lower branches of fir trees (personal observation), microclimatic conditions could differ when temperatures plummet at sunset. This could partly account for the slight differences in the observed proportions of egg eclosion in the field when compared to what was predicted by the linear model and the average method (Table 3.5). Because proper identification of the pine needle scale is complex, due to its close proximity with *C. heterophyllae* (Philpott *et al.* 2009), the possibility of cryptic species (Gwiazdowski *et al.* 2011; Vea *et al.* 2012), and the existence of both sexual and parthenogenetic forms (Stimmann 1969; Luck and Dahlsten 1974), our development rate models for this scale may not apply generally to different populations. Further observations would be needed to determine if heat requirements vary among these forms/species.

The fact that all three species overwinter as eggs implies that the collection date is a crucial point in calculating the accumulation of physiological time in the field, assuming that the linear model is correct and that GDD accumulation for egg development is a constant. In this study, we assumed that eggs collected around mid-March had not yet accumulated GDD. Based on preliminary observations (2015 and 2016, unpublished data), we think that overwintering eggs had completed their diapause by this time and were thus ready to accumulate physiological time in our experiment. However, if eggs were collected either prior to diapause termination or after egg development had started, the models could have either overestimated or underestimated eclosion time in the field. This was indeed the case for eggs of *M. abietinus* and *O. ununguis* collected at the beginning of April 2016, since based on the observed development rates at most temperatures, those eggs had apparently

started to develop by that time (Figure 3.1A-B). However, for the 2017 experiment, we can assume that eggs had not started developing by mid-March when they were collected, or that prior development was negligible, based on temperature recordings in the plantation (data not shown here).

In conclusion, this study has provided more accurate and reliable information on the thermal requirements for postdiapause egg development of three foliage-feeding arthropod pests in commercial Christmas tree plantations of southern Québec. No development rate models were known for Québec populations of these species. The data support our hypothesis that the prediction tools, based on thermal requirements for other parts of North America or only from field observations, are not suited for accurate predictions of spring hatching for southern Québec populations, due probably in part to local adaptations to a cooler climate. The sequential pattern of field eclosion for each species can be predicted from egg development rates measured in the laboratory for temperatures within their tolerable range, which provided reliable estimates of eclosion time, based particularly on linearly-estimated lower development thresholds and thermal requirements (*i.e.*, K over T_{min} in GDD). For *M. abietinus*, egg development seems to be more closely linked to bud break phenology of its most suitable host tree, the balsam fir. Further validating these new development rate models for these pests is required for different populations throughout southern Québec in order to confirm their applicability to predict springtime egg eclosion. Also, testing a greater range of experimental temperatures, particularly near the low and high thresholds (*i.e.*, T_{min} and T_{max}), should increase the value of nonlinear models in predicting development rates and field egg eclosion, considering that these models do not depend on the unrealistic assumption that the effect of temperature on development rates remains linear over the whole range of viable and developmentally useful thermal conditions.

Acknowledgements

We thank William Champagne-Cauchon (Université Laval) for assistance in the field and in the laboratory. We also thank Martin Charest for his technical assistance with the growth chambers and consultant Aurélien Nicosia for his help in model and statistical

analyses (Université Laval). We are equally thankful towards Gérald Couture (Québec Balsams Export Inc.) for allowing us to sample in his Christmas tree plantations. This study was supported by the Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec - Programme Innov'Action agroalimentaire grant #IA113043 to Conrad Cloutier.

Table 3.1 Examples of previous estimates of physiological time required for egg eclosion of three arthropod species overwintering as diapause eggs on fir. GDD estimates assume that development rates increase linearly with temperature.

Species	Estimate of thermal constant over development threshold	Estimation method (source)
<i>Mindarus abietinus</i>	95 GDD over 2 °C	Field observations only (Deland <i>et al.</i> 1998)
<i>Oligonychus ununguis</i>	143.3 GDD over 7.1 °C	One experimental temperature tested (Richmond and Shetlar 1996)
<i>Chionaspis pinifoliae</i>	136.0 GDD over 10.8 °C ¹	Eight experimental temperatures tested (Burden and Hart 1989)

¹GDD model for *C. pinifoliae* egg development based solely on hatching time at a constant 18.5 °C (threshold estimated between 10.8 and 11.8 °C); first generation.

Table 3.2 Linear and three nonlinear models of development rate as a function of ambient temperature, which are among the most commonly used to estimate the biological temperature parameters (T_{min} , T_{opt} , T_{max} , and K). Empirical constants are a , b , d , and λ ; ψ represents the maximal development rate and ρ represents the development rate at T_{opt} . In the Lactin-2 and Hilbert and Logan models, ΔT is the range of temperatures above T_{opt} over which physiological breakdown becomes the overriding factor causing rapid development rate decline.

Model	Equation	Estimated parameters
Linear (growing degree day)	$R_{dev} = a + bT$	T_{min} and K_{GDD}
Hilbert and Logan (1983)	$R_{dev} = \psi \left(\left(\frac{(T - T_{min})^2}{(T - T_{min})^2 + d^2} \right) - e^{\left(\frac{-(T_{max} - (T - T_{min}))}{\Delta T} \right)} \right)$	T_{min} , T_{opt} , and T_{max}
Lactin-2 (Lactin <i>et al.</i> 1995)	$R_{dev} = e^{\rho T} - e^{\left(\rho T_{max} - \frac{T_{max} - T}{\Delta T} \right)} + \lambda$	T_{min} , T_{opt} , and T_{max}
Kontodimas-16 (Kontodimas <i>et al.</i> 2004)	$R_{dev} = a(T - T_{min})^2(T_{max} - T)$	T_{min} , T_{opt} , and T_{max}

Table 3.3 Mean development time and survival rates for postdiapause eggs of three species of Christmas tree herbivores reared in the laboratory under five experimental constant temperature regimes.

Species	Temperature (°C)	Initial number of eggs	Average development time \pm 95% CI (day)	Rate of survival (%) [95% CI ²]
<i>Mindarus abietinus</i>	11	52	17.9 \pm 0.5	78.8 [65.8 to 87.9]
	14	46	11.3 \pm 0.4	71.7 [57.4 to 82.8]
	17	45	9.3 \pm 0.4	84.4 [70.9 to 92.6]
	20	46	7.7 \pm 0.3	76.1 [61.9 to 86.2]
	23	46	6.2 \pm 0.3	65.2 [50.7 to 77.4]
<i>Oligonychus ununguis</i> ¹	14	31	20.6 \pm 0.8	87.1 [70.5 to 95.5]
	17	44	17.1 \pm 0.8	77.3 [62.8 to 87.3]
	20	39	13.4 \pm 0.5	89.7 [75.9 to 96.5]
	23	29	10.4 \pm 0.8	82.8 [65.0 to 92.9]
<i>Chionaspis pinifoliae</i>	11	97	144.9 \pm 12.9	33.0 [24.4 to 42.9]
	14	87	52.4 \pm 2.6	19.5 [12.5 to 29.2]
	17	122	35.6 \pm 1.2	29.5 [22.1 to 38.2]
	20	124	27.3 \pm 0.7	49.2 [40.6 to 57.9]
	23	125	21.1 \pm 0.7	64.0 [55.3 to 71.9]

¹Note that only four constant temperature regimes were tested for *O. ununguis*.

²95% confidence intervals for survivorship were estimated with the modified Wald method.

Table 3.4 Parametrisation of the linear and three nonlinear models for (A) *Mindarus abietinus*, (B) *Oligonychus ununguis*, and (C) *Chionaspis pinifoliae* postdiapause egg development rate, with goodness of fit statistics (MSE and R^2) and biological temperature parameters estimated directly (\pm 95% CI) or indirectly from the model.

Species	Model	Mean squared error	R^2	Biological temperature parameters			
				T_{min} ($^{\circ}\text{C}$)	T_{opt} ($^{\circ}\text{C}$)	T_{max} ($^{\circ}\text{C}$)	K^1 (GDD)
A	Linear	0.0002	0.99918	5.4 ± 0.1	n/a	n/a	105.9 ± 6.3
	Hilbert & Logan	0.0002	0.84014	-0.3 ± 3.0	25.7	25.7 ± 3.1	n/a
	Lactin-2	0.0002	0.99954	4.9	25.5	25.7 ± 0.0	n/a
	Kontodimas-16	0.0008	0.87843	7.7 ± 0.6	19.6	25.6 ± 0.2	n/a
B	Linear	0.0001	0.99221	7.1 ± 0.1	n/a	n/a	161.2 ± 16.6
	Lactin-2	0.0001	0.99817	6.8	25.6	25.8 ± 0.0	n/a
	Kontodimas-16	0.0002	0.89635	10.5 ± 0.6	20.5	25.5 ± 0.1	n/a
C	Linear	0.0000188	0.99986	9.3 ± 0.1	n/a	n/a	277.8 ± 11.2
	Hilbert & Logan	0.0000189	0.62942	6.7 ± 1.1	22.3	23.1 ± 1.1	n/a
	Lactin-2	0.0000188	0.99996	9.4	24.1	26.9 ± 1.3	n/a
	Kontodimas-16	0.0000284	0.58180	8.3 ± 0.7	23.3	30.9 ± 0.0	n/a

¹ K is the reciprocal of the slope parameter b in the linear model.

Table 3.5 Predicted eclosion time (date, dd-mm) for eggs of *Mindarus abietinus*, *Oligonychus ununguis*, and *Chionaspis pinifoliae* in Christmas tree plantations, with observed proportions of egg eclosion for 2015, 2016, and 2017. Predictions based on the linear model (summated with Equation 1) and the Lactin-2 model. See Table 3.2 for model equations.

Species	2015			2016			2017		
	Date (% egg hatch)	Linear model	Lactin-2 model	Date (% egg hatch)	Linear model	Lactin-2 model	Date (% egg hatch)	Linear model	Lactin-2 model
<i>M. abietinus</i>	5-V (~ 90%)	6-V	9-V	5-V (~ 75%)	5-V	12-V	28-IV (~ 75%)	28-IV	6-V
<i>O. ununguis</i> ¹	15-V (~ 40%)	17-V	25-V	-	22-V	28-V	-	18-V	25-V
<i>C. pinifoliae</i> ²	11-VI (~ 45%)	9-VI	22-VI	-	7-VI	26-VI	14-VI (~ 50%)	15-VI	24-VI

¹Due to very low population densities of *O. ununguis* in the field, accurate validation of the models based on field observations of egg eclosion in 2016 and 2017 was not possible.

²Due to insufficient sampling, model validation based on field observations of eclosion for *C. pinifoliae* in 2016 was not possible.

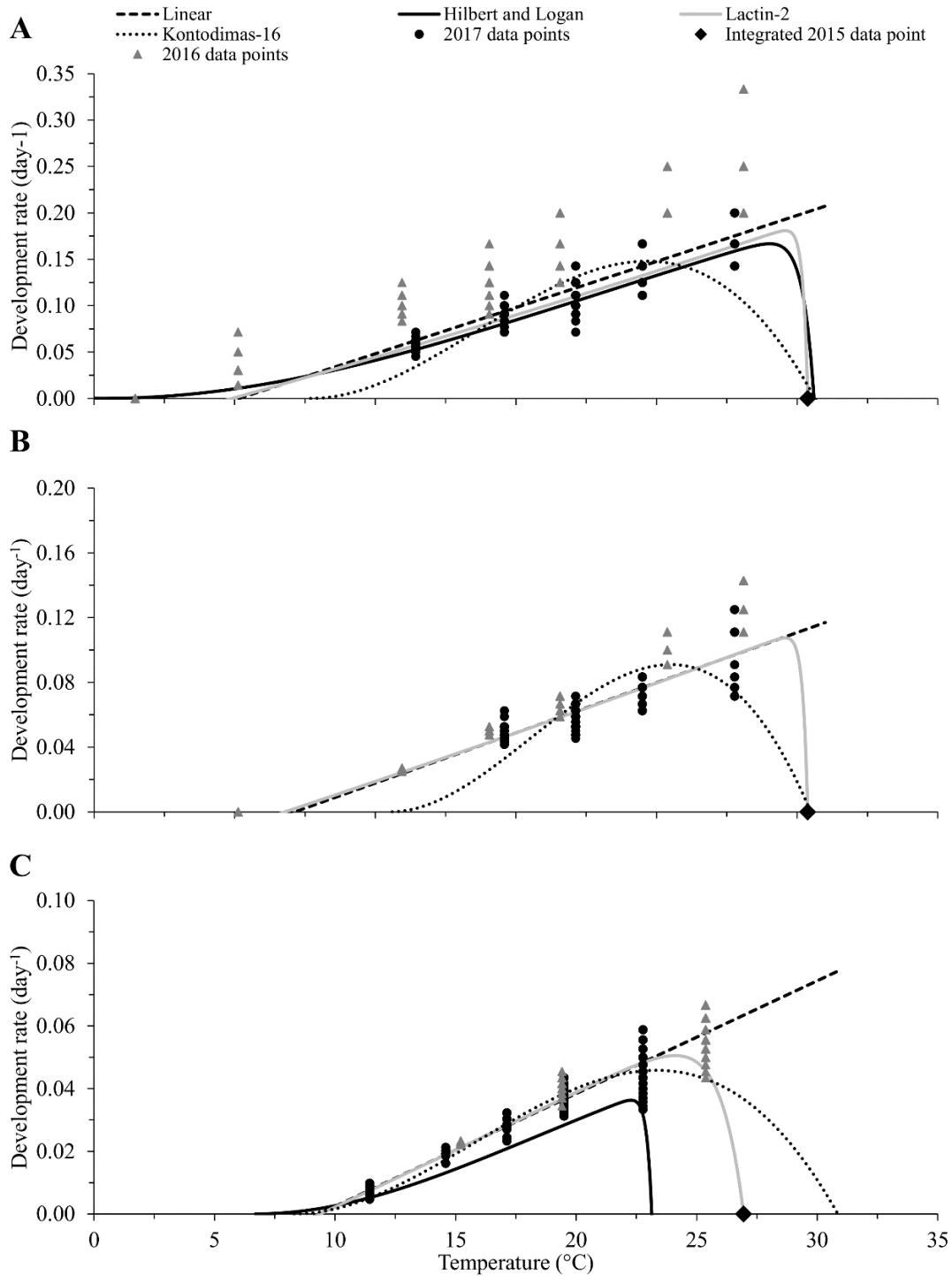


Figure 3.1 Observed eclosion of postdiapause eggs of (A) *Mindarus abietinus*, (B) *Oligonychus ununguis*, and (C) *Chionaspis pinifoliae* (data points), as a function of temperature, with the linear and three nonlinear development rate models fitted to the 2017 data. The 2016 data points (triangles) are shown for comparison and were not integrated into model fitting.

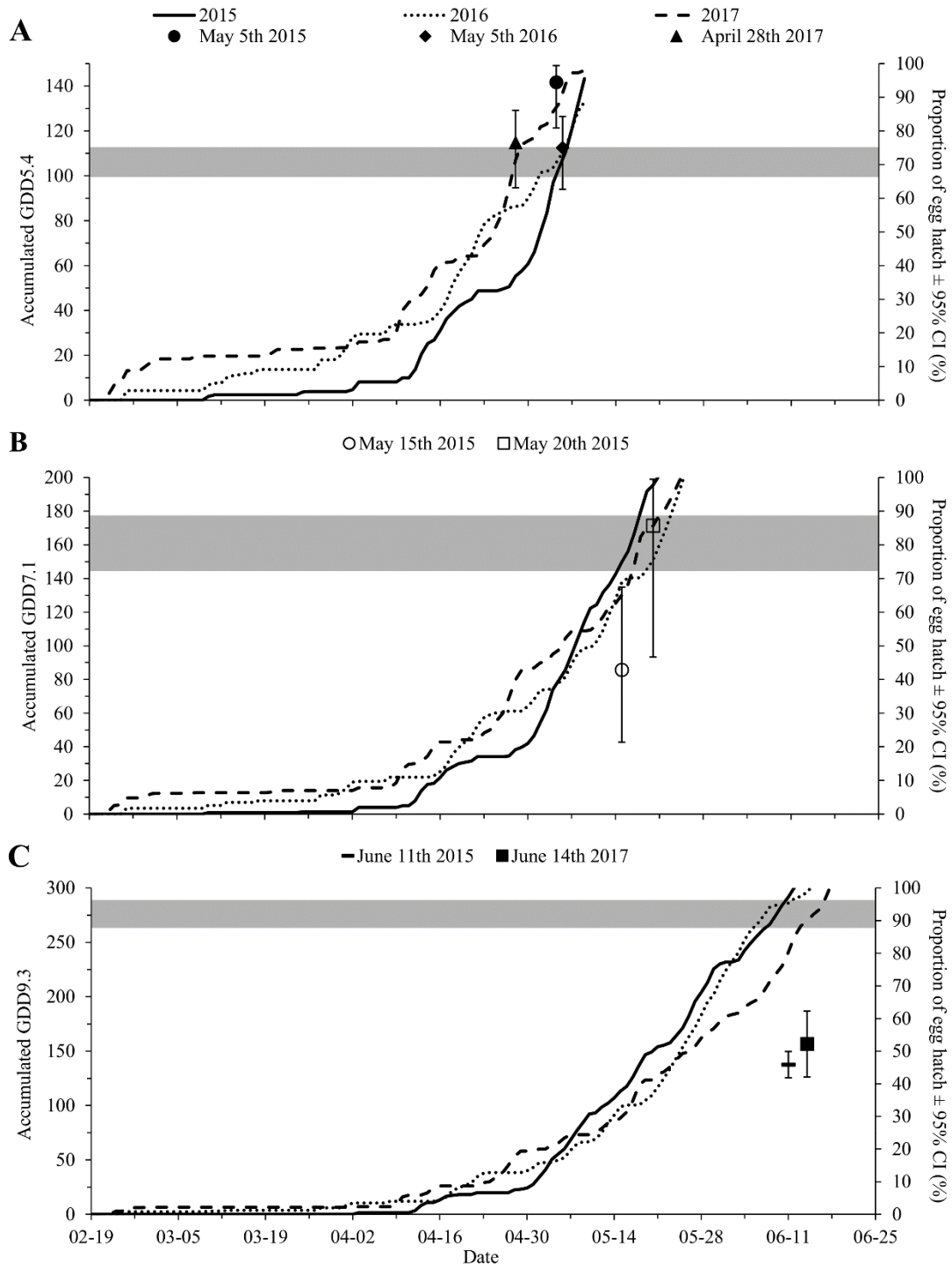


Figure 3.2 Cumulative field growing degree days (GDD) above threshold T_{min} (°C) (summed with Equation 1) based on the linear model, with the observed proportion of eggs hatched in the field \pm 95% CI (calculated with the modified Wald method) for (A) *Mindarus abietinus*, (B) *Oligonychus ununguis*, and (C) *Chionaspis pinifoliae*. Gray horizontal bands delimit the 95% confidence interval of the thermal constant K .

Chapitre 4 : Early springtime water absorption by overwintering eggs of *Mindarus abietinus* (Hemiptera: Aphididae): possible implications for cold hardiness and diapause termination

Résumé

Les œufs hivernants du puceron des pousses du sapin *Mindarus abietinus* Koch (Hemiptera : Aphididae) passent plusieurs mois en diapause obligatoire, qui se termine tôt au printemps, moment où reprend supposément l'embryogenèse de la fondatrice interrompue peu après la ponte. Des changements morphologiques importants des œufs échantillonnés à différentes dates ont été observés à la fin de l'hiver et au début du printemps, permettant leur classification en trois catégories : les œufs aplatis (C1), les œufs semi-aplatis (C2) et les œufs ronds et turgides (C3). En mesurant régulièrement la masse fraîche d'œufs hivernants durant leur longue période de dormance, il a été possible d'observer une augmentation progressive de la masse durant la transition de l'hiver au printemps, coïncidant avec le changement de la forme des œufs, de la catégorie C2 vers C3. Nos observations suggèrent que l'eau environnante sur les pousses de sapin est essentielle au développement des œufs de *M. abietinus* tôt au printemps, lors de la fonte des neiges. Elles suggèrent aussi l'hypothèse que le point de surfusion des œufs durant l'hiver est contrôlé par leur teneur en eau, et que l'eau environnante à la fin de l'hiver est un signal de terminaison de la diapause obligatoire et/ou de la poursuite de l'embryogenèse de la fondatrice.

Abstract

Eggs of the balsam twig aphid *Mindarus abietinus* Koch (Hemiptera: Aphididae) overwinter for several months in obligatory diapause, which terminates in early springtime when embryogenesis of the stem mother supposedly resumes. Important shape and size changes were observed on eggs collected at regular intervals during late winter and early spring. These observations led to the visual classification of eggs into three shape categories: flat eggs (C1), semi-flat eggs (C2), and round and turgid eggs (C3). Egg mass significantly increased with time during late winter and early spring, which coincided with the noticeable changes in morphological composition (*i.e.*, from C2 to C3). Our observations suggest that

free water surrounding eggs on fir shoots is essential for *M. abietinus* normal embryonic development during snowmelt. Also, reduced egg water content during winter could modify its supercooling point, and the renewed availability of water in springtime may signal diapause termination and/or initiate embryogenesis of the stem mother.

Introduction

The balsam twig aphid *Mindarus abietinus* Koch (Hemiptera: Aphididae) is found notably on balsam fir *Abies balsamea* (Linnaeus) Miller and Fraser fir *Abies fraseri* (Pursh) Poiret (Pinaceae) in commercial Christmas tree plantations of southern Québec, Canada, where its colonies can cause aesthetic damage to trees. Eggs of *M. abietinus* overwinter in an obligatory diapause, starting with their deposition by the oviparous sexual females onto fir shoots in early July (Deland *et al.* 1998; Fondren and McCullough 2003; Doherty *et al.* 2017). As an overwintering egg, *M. abietinus* spends approximately nine months in a dormant state, until the obligate diapause is terminated by the end of March or earlier, when embryogenesis is thought to resume and the development of the immature stem mother progresses further, ending with eclosion of the egg in late April or early May (Deland *et al.* 1998).

Freeze avoidance based on supercooling is a well-known overwintering strategy adopted predominantly by insects in cold climates (Turnock and Fields 2005), where winter deep frost periods are regularly encountered (Leather *et al.* 1993; Denlinger 2002; Danks 2007). Insect eggs usually have lower supercooling points than other life stages (*e.g.*, larvae and pupae), which could favour winter survival for northern insects overwintering as exposed eggs on tree branches such as *M. abietinus* (James and Luff 1982; Sømme 1982). Egg desiccation may decrease the supercooling point by concentrating cryoprotective body fluids such as polyols (Zachariassen 1985), which is a likely strategy in a very dry environment, presumably like the microhabitat surrounding *M. abietinus* overwintering eggs (Danks 2000). Here, we report data on late winter changes in form and water content of overwintering eggs of *M. abietinus*, collected in parallel to a recent study of early season phenology of this aphid in southern Québec (Doherty *et al.* 2017).

Material and methods

Overwintering eggs were collected in the late winter and early spring of 2015 in a commercial Christmas tree plantation (45.905°N, 71.036°W) near Courcelles, in the Estrie administrative region of Québec, during which morphological differences between eggs collected on different dates were noted. In late February, despite being otherwise intact, the majority of eggs were slightly flat in appearance, sometimes with a visible depression on their top, exposed surface. However, almost all of the eggs similarly collected later in early April were uniformly turgid and had taken the undepressed shape of a lemon. For all three collection dates in 2015, a small percentage of eggs were completely flat and were apparently dead, since no vitellus was contained within the relatively soft black eggshell. For observational purposes, egg shape was divided into three distinct categories: C1 eggs are completely flat and presumably nonviable; C2 eggs are semi-flat, sometimes with a slight depression on the top surface; C3 eggs are uniformly round and turgid (Figure 4.1). These preliminary observations led us to hypothesise the role of water content in egg shape change.

In order to document seasonal changes in egg mass and water content in the field during the entire overwintering period, eggs of *M. abietinus* in a commercial fir plantation were collected bimonthly from the period when they were deposited onto fir shoots in early July 2015, until just before egg eclosion in early May 2016. Around 20 eggs were collected on balsam fir shoots at intervals of about two weeks in the plantation described above. Eggs were visually categorised on the shoot shown in Figure 4.1, then were carefully removed and weighed on a XP2U Ultra Micro Balance (Mettler Toledo, Mississauga, Ontario, Canada). Starting in late November 2015, freshly collected eggs were heated at 70.0 ± 1.0 °C for 72 hours, after measuring fresh mass, in order to dehydrate them and measure dry mass. In early March 2016, supercooling points were determined for seven freshly collected eggs. They were fixed individually to thermocouples (CHROMEGA®/constantan Type E; OMEGA Environmental, Laval, Québec, Canada) inside a freezer which provided a mean cooling rate of 0.1 °C per minute around the eggs. When thermocouples measured the release of latent heat from crystallisation, the supercooling point was considered to be the lowest temperature measured just before (Lee 1991). Mean fresh egg mass was relatively stable during summer and fall 2015, but started to increase remarkably towards the end of January 2016. An

inflexion point was arbitrarily set at the 3rd of February 2016 collection date, in order to statistically model variation of fresh egg mass, before and after said point.

Data were analysed with SAS 9.4 (SAS Institute, Cary, North Carolina, United States of America) using PROC MIXED. Fixed effects were collection date, overwintering period (*i.e.*, before and after the inflexion point) and their interaction, with egg nested within date as random effects. In order to analyse the effect of dehydration, fixed effects were collection date, dehydration and their interaction, with egg nested within date as random effects. The relation between egg category and fresh egg mass was analysed with all eggs pooled together, regardless of collection date, with egg category as the fixed effect, and egg nested within date as random effects. Square root transformations were applied when required, in order to meet the normality criterion of residuals underlying linear regression analysis.

Results

The difference in rate of change of fresh egg mass before and after the 3rd of February 2016 (*i.e.*, the interaction collection date*overwintering period) was highly significant ($F_{1,297} = 24.78$, $P < 0.0001$), since fresh mass after the inflexion point increased very significantly ($t_{297} = 5.76$, $P < 0.0001$) over 12 times the rate estimated before said inflexion point ($t_{297} = 2.09$, $P = 0.0371$) (Figure 4.2). Collection date ($F_{1,297} = 37.33$, $P < 0.0001$) and the overwintering period ($F_{1,297} = 15.43$, $P = 0.0001$) were also significant. Dehydration at 70 °C had a highly significant overall effect on egg mass as expected ($F_{1,176} = 24.90$, $P < 0.0001$), with highly significant effects of collection date ($F_{1,176} = 110.04$, $P < 0.0001$) and their interaction ($F_{1,176} = 145.02$, $P < 0.0001$). Average water content (mean \pm 95% CI) increased gradually from $34.8 \pm 3.9\%$ in late November 2015 to $57.3 \pm 5.8\%$ by mid-April 2016 (Figure 4.2).

Egg shape assessed visually was highly significantly related to fresh egg mass, which very significantly differed between categories ($F_{2,331} = 359.84$, $P < 0.0001$) (Figure 4.3). The C2 eggs represented the majority of them until mid-February 2016, when C3 eggs became

predominant and mean fresh egg mass increased (Figure 4.2). The supercooling point for C2 eggs collected on 1 March 2016 ($n = 7$) was estimated at -40.7 ± 0.4 °C (mean \pm 95% CI).

Discussion

Overall, our data and observations suggest that *M. abietinus* diapause eggs laid in early July on new fir shoots have a relatively low water content, presumably to better survive both the mid to late summer high temperatures and the harsh coldest winter conditions, until they start to absorb water in February of the following year. Our categorisation of egg shape into three distinct groups of increasing mass is consistent with changes over the winter in egg condition and viability. C1 eggs were nonviable, with no apparent live content, and their smaller mass suggests that it is mainly the eggshell that was measured. The C2 eggs hypothetically represent the overwintering deep diapause state, with only slight variations in fresh mass throughout the summer, fall, and early winter, probably due to the rarity of water in their immediate surroundings on fir shoots (*e.g.*, rainfall and possibly ambient relative humidity). Finally, C3 eggs most likely represent the actively developing eggs that progressively absorb water, presumably after completing winter diapause (Moriarty 1969).

Interestingly, minimum temperatures below -25 °C were recorded in the plantation where eggs were collected during both years, although rarely so (data not shown). During this period, the persistent relatively low water content of eggs, followed by late winter and early spring absorption of extra water, could be part of the supercooling strategy here, since dehydrated eggs of some insect species are known to have lower supercooling points when water contents are relatively low (Gehrken and Sømme 1987; Qi *et al.* 2007), suggesting that a similar mechanism is possible for *M. abietinus* eggs.

When eggs were collected during March of both years, the accumulated snow that partially covered fir trees had started to melt, associated with frequent precipitation and bouts of snowmelt, resulting in fir branches being often drenched in water. Fir shoots usually retained part of the water runoff on branches, suggesting that liquid water persists on them during snowmelt, submerging any *M. abietinus* eggs present, as freshly-collected eggs were

generally covered with free water adhering to the shoot by surface tension. Additionally, warmer temperatures could have increased ambient humidity during this period, increasing the vapour pressure around eggs, thus hampering desiccation. These factors could explain why *M. abietinus* eggs increase in mass during the transition between winter and spring, when they are in close contact with water as the snow melts. However, further study would be needed to better understand how water is acquired in the spring by overwintering eggs.

It is possible that water, alongside photoperiod and temperature, could be part of a signal complex for egg diapause termination in *M. abietinus*, as for eggs of *Homichloda barkeri* (Jacoby) (Coleoptera: Chrysomelidae) (Nahrung and Merritt 1999). For this to happen, water absorption would begin before the start of embryogenesis. However, it is also possible that water absorption takes place after egg diapause is terminated and embryogenesis has resumed (Yoder and Denlinger 1992; Bethke and Redak 1996; Niikawa and Takeda 1996). In this case, water would be actively absorbed through the eggshell by the early developing embryo. In both scenarios, we hypothesize that water uptake is critical in *M. abietinus* diapause termination and/or subsequent egg development. Experimentally soaking C2 eggs in water before uptake occurs in the field could support this hypothesis. If water requirements for *M. abietinus* eggs are not met during this period, for example in years of low precipitation, lower survival of the overwintering eggs could occur and affect future population densities in the plantation.

Acknowledgements

We thank Martin Charest (Université Laval) for his help in measuring supercooling points, and Valérie Fournier (Université Laval) for allowing us to weigh and take pictures of *M. abietinus* eggs in her laboratory. We also thank Gérald Couture (Québec Balsams Export Inc.) for allowing us to sample in his plantations. This study was supported by the Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec - Programme Innov'Action agroalimentaire grant #IA113043 to Conrad Cloutier.

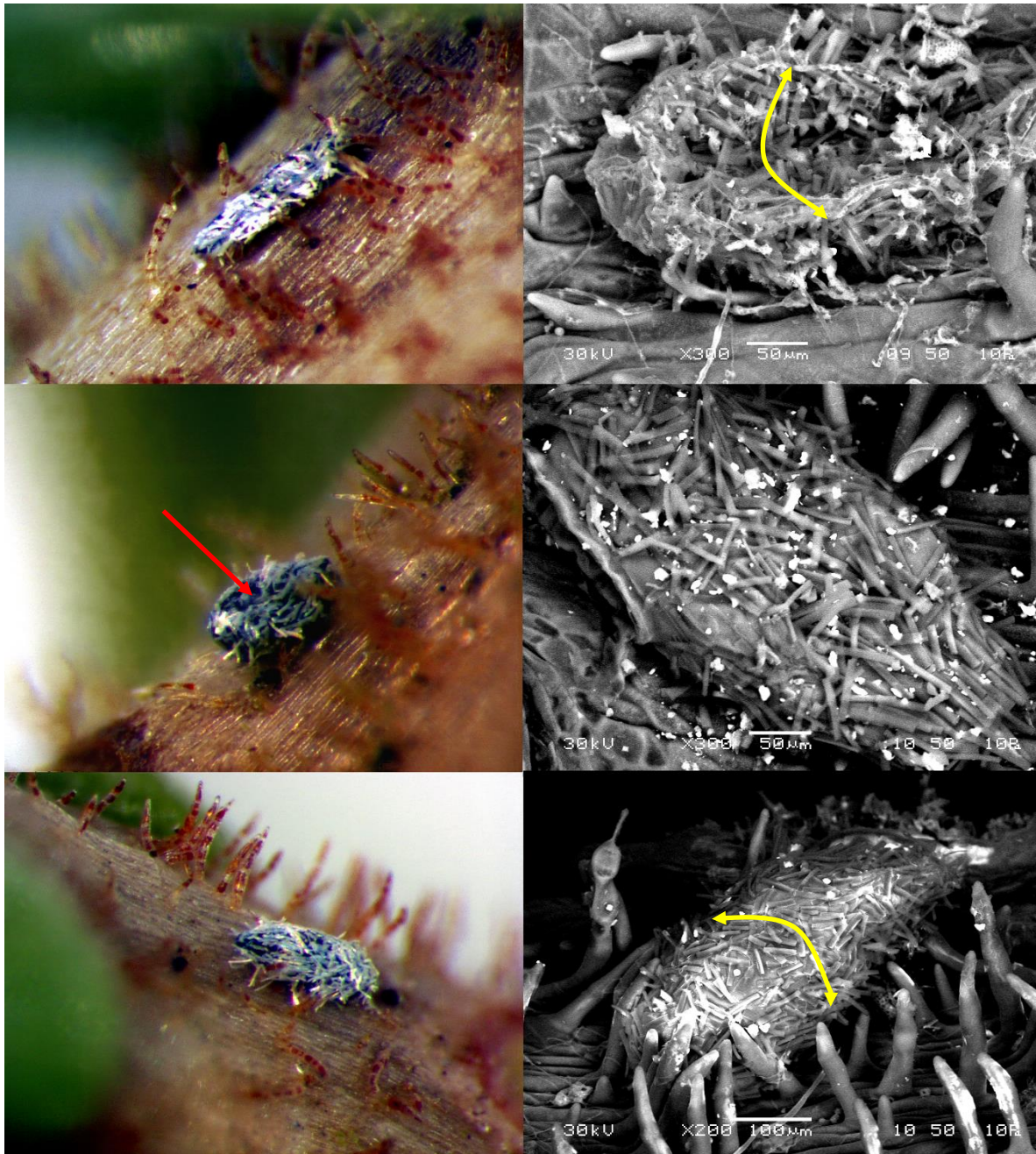


Figure 4.1 *Mindarus abietinus* overwintering eggs on balsam fir shoots. Eggs in left column pictured using a stereomicroscope ($\approx 120\times$) and eggs in right column with a scanning electron microscope (200x or 300x). From top to bottom: C1 (flat), C2 (semi-flat with depression, pointed by red arrow), and C3 (round and turgid) categories. Linear whitish structures on egg surface are wax fibres glued to eggs following oviposition by females. Trichomes are visible beside eggs on shoots. Yellow arrows were added to SEM images to better visualise the curved shape of top surface of eggs.

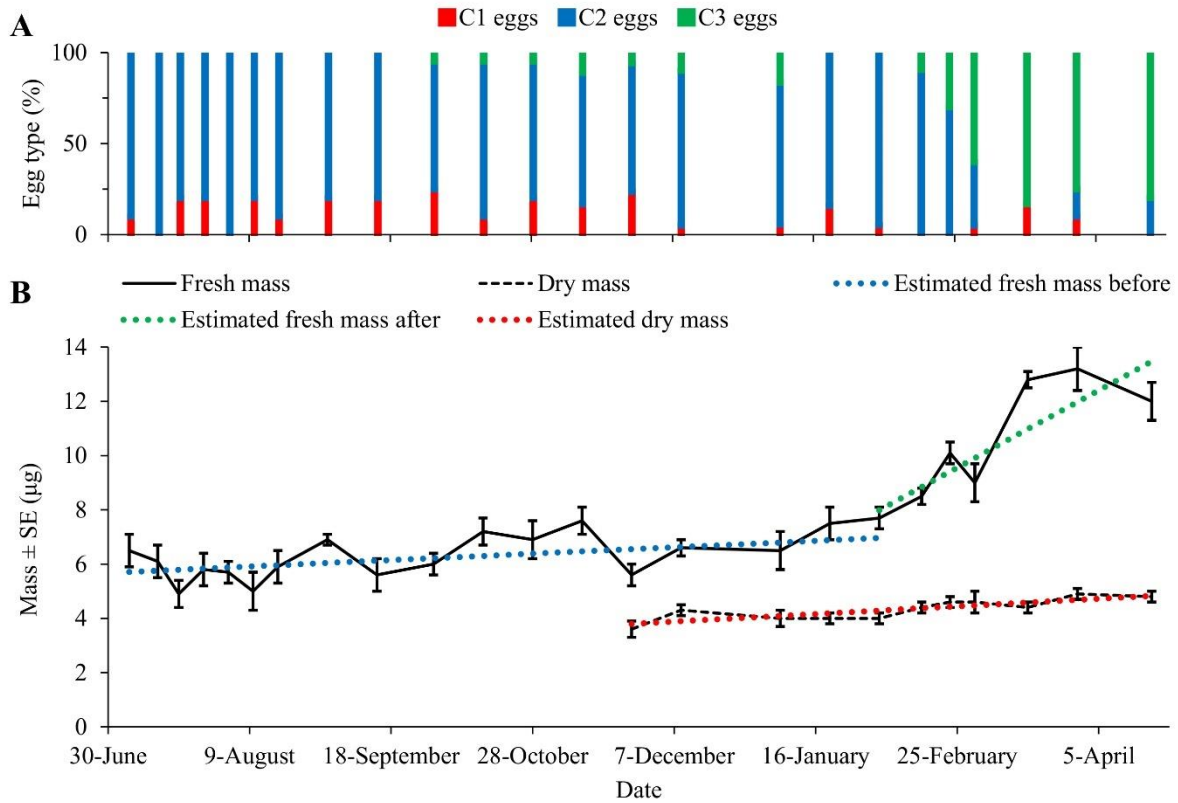


Figure 4.2 (A) *Mindarus abietinus* egg shape category composition at different collection dates ($n = 24$), where the C1 (flat), C2 (semi-flat), and C3 (round and turgid) eggs are present. (B) Fresh and dry mass (mean \pm SE) of *Mindarus abietinus* eggs throughout the overwintering stage from July 2015 to April 2016. Linear regressions were fitted to the fresh mass data to relate egg mass to date, before and after the 3rd of February 2016.

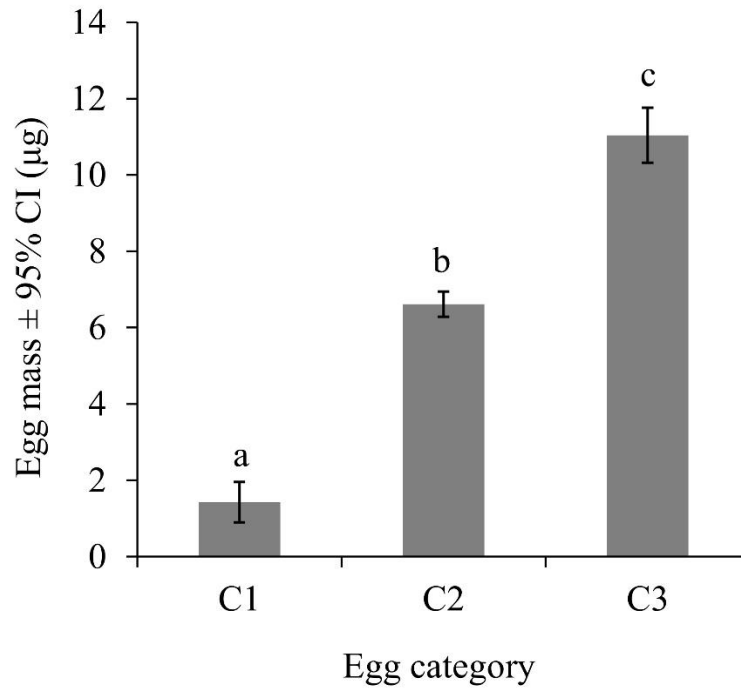


Figure 4.3 *Mindarus abietinus* fresh mass of C1 (flat), C2 (semi-flat) and C3 (round and turgid) eggs. Different letters indicate a highly significant difference between categories ($P < 0.0001$).

Chapitre 5 : Conclusion générale

Ces travaux ont permis une meilleure compréhension de l'écologie de deux ravageurs importants en plantation commerciale d'arbres de Noël au Québec. L'étude sur le terrain a confirmé l'impact potentiel du réchauffement climatique sur les populations locales de *M. abietinus* dans une plantation de sapins baumier (Figure 2.2). Aussi, nos observations régulières de ces colonies de pucerons durant la saison ont permis, pour la première fois, une séparation rigoureuse des deuxième et troisième générations de pucerons ailés. Cette distinction nous a mené à mieux comprendre l'impact des filles aptères de deuxième génération, produites par la fondatrice, sur la taille potentielle d'une colonie de *M. abietinus*, puisqu'elles peuvent produire autant de pucerons ailés sexupares que leur mère (Varty 1968). De plus, en séparant correctement les deux générations chevauchantes de filles ailées, nous avons pu observer une proportion beaucoup plus élevée de pucerons aptères que dans les études antérieures (Figure 2.3) (Varty 1968 ; Deland *et al.* 1998). Cette différence remarquable pourrait être expliquée par l'effet de groupe initial des jeunes fondatrices et/ou des jeunes pucerons de deuxième génération (Mehrpourvar *et al.* 2013). Par contre, il pourrait y avoir d'autres facteurs abiotiques, comme la température, qui joueraient un rôle décisif dans la proportion des filles aptères produites par la fondatrice (Müller *et al.* 2001), et mériteraient des travaux supplémentaires. Même si une température plus chaude a tendance à augmenter la proportion de filles aptères dans une colonie de pucerons (Liu 1994), cela ne semble pas être le cas pour *M. abietinus*. En effet, nous avons observé que la température plus chaude dans l'abri semi-protégé n'avait pas d'effet significatif sur la proportion de filles aptères produites par la fondatrice (Figure 2.3). Par contre, il se peut qu'un milieu plus froid favorise le développement d'une fondatrice de plus grande taille ayant une fécondité supérieure (Angilletta *et al.* 2004), ce qui pourrait ainsi affecter la proportion des deux morphes (Braendle *et al.* 2006). En fait, il faudrait étudier les effets de groupe et de la température, durant le développement des fondatrices et de leurs progénitures, sur la détermination des morphes ailé et aptère, ce qui pourrait influencer grandement la taille finale des colonies de *M. abietinus* et les dommages potentiels sur l'arbre-hôte.

Afin de caractériser l'effet d'un milieu plus chaud sur le taux de croissance des colonies de *M. abietinus*, des abris semi-protégés ont été déployés dans une plantation de sapins

baumier. Le réchauffement expérimental des colonies a grandement influencé leur taille et leur taux de croissance durant les périodes normales de développement en début de saison (Figure 2.2). En effet, un milieu plus chaud (c.-à-d. entre 1 °C et 3 °C de différence globale) favorise des colonies de plus grande taille, en comparaison avec des colonies naturelles dans la plantation, et accélère leur taux de croissance, ce qui pourrait augmenter localement les dommages sur les pousses et diminuer l'apparence esthétique des sapins. Cette expérience en abri semi-protégé nous a par ailleurs permis d'observer le potentiel de contrôle biologique par les larves de syrphes. Ces insectes prédateurs, qui sont naturellement présents en milieu forestier près des plantations commerciales d'arbres de Noël (Fondren *et al.* 2004), pourraient jouer un rôle important dans le maintien des populations de *M. abietinus* à faible densité dans les plantations. Il serait intéressant de promouvoir leur présence avec des aménagements favorables (p. ex. l'ajout de bandes florales entre les rangées de sapin) dans la plantation afin d'étudier leur impact, en tant qu'ennemi naturel, sur le contrôle biologique de *M. abietinus*.

Les faibles densités de *M. abietinus* dans les plantations commerciales de sapins qui prévalaient, sans doute explicables par un contrôle efficace par les insecticides et potentiellement les ennemis naturels (Deland *et al.* 1998 ; Berthiaume *et al.* 2001a), ont rendu difficile la tâche d'étudier les dynamiques entre ces pucerons et leur arbre-hôte. Il est de croyance populaire parmi les producteurs d'arbres de Noël que les colonies de *M. abietinus* infestent plus le sapin baumier que le sapin Fraser (Dominique Choquette, MAPAQ-Estrie, communication personnelle), ce qui pourrait être expliqué par le débourrement tardif des bourgeons du sapin Fraser (Figure 2.5), une caractéristique spécifique qui empêcherait le déplacement synchronisé des fondatrices immatures sur les nouvelles pousses susceptibles (DeHayes 1981). Dans cette étude, il fut possible d'observer une légère tendance (statistiquement non significative) sur le taux de croissance des colonies de *M. abietinus* en lien avec l'espèce-hôte. La taille des colonies semblaient croître plus rapidement sur le sapin baumier que sur le sapin Fraser et la variété Canaan du sapin baumier. Un débourrement relativement hâtif des bourgeons du sapin baumier pourrait augmenter sa susceptibilité envers les fondatrices prêtes à migrer vers les nouvelles pousses, qui auraient conséquemment un accès précoce aux aiguilles en croissance. Alors, il est possible que *M. abietinus* soit mieux adapté au sapin baumier qu'au sapin Fraser, puisque ce dernier est

naturellement isolé dans les hautes altitudes du sud-est des Appalaches (Farjon 1990), suggérant une phénologie différente du sapin baumier (Figure 2.5). Donc, le débourrement tardif des bourgeons du sapin Fraser semblerait le protéger davantage contre les ravages potentiels des colonies de *M. abietinus*, ce qui semble déjà être le cas pour le sapin baumier de différentes populations génétiquement distinctes (DeHayes 1981 ; Edwards *et al.* 2016). Afin de valider ces observations, il serait intéressant d'étudier directement l'impact de l'espèce-hôte sur le taux de croissance des colonies de *M. abietinus*, dans un milieu où les densités de population de ce puceron sont beaucoup plus élevées.

Nos expériences en conditions contrôlées portant sur l'effet de la température sur le taux de développement de *M. abietinus*, d'*O. ununguis* et de *Chionaspis pinifoliae* dans l'œuf hiverné postdiapausant ont permis la paramétrisation de nouveaux modèles linéaires prévisionnels de l'éclosion des œufs en début de saison pour chaque espèce. Ces modèles estiment le seuil de développement et les besoins en temps physiologique (c.-à-d. la constante thermique, mesurée en degrés-jours de croissance) nécessaire pour le développement embryonnaire à l'intérieur de l'œuf, après que la diapause hivernale soit terminée, jusqu'à leur éclosion (Figures 3.1 et 3.2). Bien que le modèle linéaire soit non réaliste sur l'ensemble des températures tolérables pour les trois espèces, il permet néanmoins de caractériser le taux de développement pour des températures qui se situent entre le seuil de développement, qu'il permet d'estimer, et la température optimale. Pour *M. abietinus*, le seuil de développement est estimé à $5,4 \pm 0,1$ °C et la constante thermique à $105,9 \pm 6,3$ degrés-jours. Le seuil de développement estimé pour *O. ununguis* est de $7,1 \pm 0,1$ °C, avec une constante thermique de $161,2 \pm 16,6$ degrés-jours. Pour *C. pinifoliae*, on a estimé un seuil de développement de $9,3 \pm 0,1$ °C et une constante thermique de $277,8 \pm 11,2$ °C. Cela a confirmé le besoin d'avoir des modèles mieux adaptés pour les populations locales du sud du Québec, puisque les besoins en énergie et la capacité de se développer à des températures relativement basses peuvent varier par rapport aux populations ayant évolué plus au sud (Burden and Hart 1989 ; Richmond et Shetlar 1996 ; Fondren et McCullough 2003).

En ce qui concerne la date d'éclosion moyenne des œufs hivernants, nos observations sur le terrain durant les trois années d'observation ont validé adéquatement les prédictions

du modèle linéaire pour les trois ravageurs. Un taux de développement relativement plus faible pour une température donnée chez *O. ununguis* (voir Figure 3.1) expliquerait pourquoi la date d'éclosion des œufs hivernés a été observée quasiment deux semaines plus tard que les œufs de *M. abietinus*. Aussi, un seuil de développement supérieur à celui de *M. abietinus* d'environ 2 °C expliquerait en partie l'éclosion des œufs d'*O. ununguis* tardive vers la mi-Mai (Table 3.4). Pour *C. pinifoliae*, un temps de développement encore plus long qu'*O. ununguis* expliquerait pourquoi son éclosion arrive vers la mi-juin (Table 3.3). Avec ces nouveaux modèles prévisionnels pour les trois ravageurs étudiés, il sera possible de mieux prédire l'arrivée des stades vulnérables (c.-à-d. les fondatrices immatures, les larves de tétranyques et le stade mobile I des cochenilles) afin de cibler les périodes optimales de contrôle par des pesticides. Une application synchronisée pourrait minimiser l'impact des pesticides chimiques sur l'environnement, tout en offrant un contrôle efficace sur les populations de *M. abietinus* et d'*O. ununguis*. À plus grande échelle, il serait pertinent de valider les modèles prévisionnels développés dans ce projet pour les populations éloignées venant de différentes régions dans le sud du Québec. En fait, il est probable que ces populations aient des besoins très similaires en temps physiologique pour l'éclosion des œufs postdiapausants, puisque les tendances climatiques sont relativement stables pour cette partie de la province (Ouranos 2015).

Nos observations préliminaires sur les œufs hivernants de *M. abietinus* ont mené à de nouvelles connaissances sur les interactions de l'œuf avec l'eau et sa capacité de tolérer les conditions de températures extrêmes de l'hiver. On a pu classer les œufs hivernants en trois catégories morphologiques distinctes (Figure 4.1) : les œufs aplatis et non viables (C1), les œufs semi-aplatis (C2) et les œufs gonflés ou turgides (C3). Chaque catégorie avait une masse très significativement différente des autres, allant de la plus petite (C1) à la plus grande (C3) (Figure 4.3). De plus, on a observé que les œufs hivernants C2, vers la mi-Février, auraient fort probablement absorbé l'eau qui les entourait sur les rameaux, afin de gonfler et devenir les œufs C3 (Figure 4.2). Ce phénomène, rarement étudié chez les œufs d'insecte en diapause, a probablement deux explications. Premièrement, la faible teneur en eau des œufs C2 pourrait abaisser la température de surfusion de l'œuf, ce qui réduirait les risques de mortalité par le gel du contenu de l'œuf (Gehrken and Sømme 1987). Deuxièmement, l'eau pourrait jouer un

rôle essentiel dans la levée de la diapause des œufs hivernants de *M. abietinus* et/ou contribuer au développement de la jeune fondatrice dans l'œuf, après que la diapause soit terminée (Bethke and Redak 1996 ; Nahrung and Merritt 1999). Dans les deux cas, la teneur en eau jouerait sans doute un rôle très important dans la survie des œufs durant les périodes de froid extrême de l'hiver et sur le développement subséquent des jeunes fondatrices au printemps. Afin de mieux comprendre ces observations préliminaires, il serait très intéressant de voir l'effet d'un milieu sec versus un milieu saturé d'eau sur la capacité des œufs hivernants de *M. abietinus* de tolérer le froid extrême et sur leur taux d'éclosion au printemps.

Avec les nouvelles connaissances obtenues durant ce projet de recherche, la grande question posée en guise d'objectif général à la page 21 reste toujours difficile à répondre. Les conséquences exactes des changements climatiques sur l'environnement sont difficiles à prévoir, car on prévoit globalement une augmentation non négligeable des températures ambiantes pour le sud du Québec pendant les prochaines décennies (Romero-Lankao *et al.* 2014 ; Ouranos 2015). À cet égard, les changements attendus vont-ils favoriser les populations locales de *M. abietinus* et *O. ununguis* dans les plantations commerciales d'arbres de Noël dans le sud du Québec et renforcer leur statut de ravageur du sapin ? Pour le puceron, il est probable qu'un printemps plus chaud favorise des colonies de plus grande taille, ce qui augmenterait en même temps les dommages esthétiques sur le sapin et son statut de ravageur important. Mais, des températures printanières relativement élevées pourraient affecter le développement embryonnaire des fondatrices, tout en diminuant le taux d'éclosion potentiel des œufs hivernants, qui doivent récupérer une certaine quantité d'eau environnante afin de se développer normalement. Considérant toutes les autres interactions dynamiques que l'environnement pourrait avoir avec les œufs hivernants, le développement des fondatrices et la croissance des colonies subséquentes, la question demeure extrêmement difficile à répondre clairement. Pour le tétranyque, on peut s'attendre à ce que des périodes estivales chaudes et humides limitent leur développement et la fécondité des femelles. Une augmentation considérable des averses durant l'été, ce qui est tout à fait probable selon les prédictions (Ouranos 2015), pourrait nuire aux populations et réduire leur statut de ravageur important du sapin. Par contre, la capacité d'estivation pour les œufs d'été pourrait protéger les populations d'*O. ununguis* durant les conditions défavorables de température et

d'humidité. Comme le puceron, les nombreuses interactions entre *O. ununguis* et son environnement pendant l'année complète rendent difficile la tâche d'évaluer les impacts potentiels d'un climat en changement sur les populations de cet acarien.

En guise de conclusion, ce projet de recherche, mené pendant trois étés de travail sur le terrain et des études de longue durée sur les œufs hivernants, a contribué considérablement à la compréhension de la phénologie, surtout celle de *M. abietinus*, et des interactions entre le taux de développement de trois arthropodes ravageurs et la température. Avec les changements climatiques en cours, cette étude a aussi permis de mieux comprendre l'impact d'un climat chaud sur les populations locales de *M. abietinus* et les dommages potentiels sur leur hôte principal, le sapin baumier qui est l'espèce la plus commune en plantations commerciales au Québec. Cet approfondissement des connaissances pourrait alors contribuer à un contrôle plus raisonné et mieux justifié de ces ravageurs en plantations commerciales d'arbres de Noël.

Annexe A : Données de l'été 2014

Durant l'été 2014, nous avons échantillonné dans quatre plantations autour de la municipalité de Courcelles, qui sont décrites à la page 27, tout en utilisant la même méthodologie qu'en 2015. Les figures présentant les tendances saisonnières de l'été 2014 se trouvent dans les pages suivantes pour *Mindarus abietinus* et *Oligonychus ununguis*. Ces données sont présentées en annexe afin d'offrir une comparaison entre deux années consécutives d'échantillonnage, surtout pour *M. abietinus*. Dans l'ensemble, les densités de population pour les deux ravageurs étaient plus élevées durant cette première année d'échantillonnage.

Pour *M. abietinus*, ce sont les données de l'été 2014 qui nous ont amené à la conclusion qu'une seconde génération de pucerons ailés, produite par les pucerons aptères G2, arrive probablement durant la deuxième semaine de juin, puisqu'on peut y voir une augmentation remarquable dans la proportion de jeunes pucerons de premier stade (Figures A1 et A2). Cette réalisation explique pourquoi nous avons échantillonné sur une période de cinq jours consécutifs au début juin 2015, afin de pouvoir observer directement l'arrivée de cette deuxième génération de pucerons ailés.

Pour *O. ununguis*, les densités relativement faibles dans les plantations en 2014 n'ont pas permis d'illustrer de façon claire les tendances saisonnières de cet acarien. Par contre, comme les densités de population en 2015 étaient quasiment nulles avec notre effort d'échantillonnage, nous avons illustré les données de l'été 2014 de même manière que pour *M. abietinus* afin d'observer leur phénologie. Durant le mois de juin 2014, on peut remarquer une absence d'*O. ununguis* sur les pousses échantillonnées pendant deux à quatre semaines, selon la plantation (Figures A5 et A7). Ceci est peut-être causé par une baisse de la densité globale de tétranyques dans la plantation, non détectable par notre effort d'échantillonnage. Par contre, il est hypothétiquement possible que la fécondité des femelles chute drastiquement en conditions défavorables et que les œufs pondus à cette période entrent en quiescence estivale avant de reprendre leur activité vers le début juillet 2014 (Cordell *et al.* 1989).

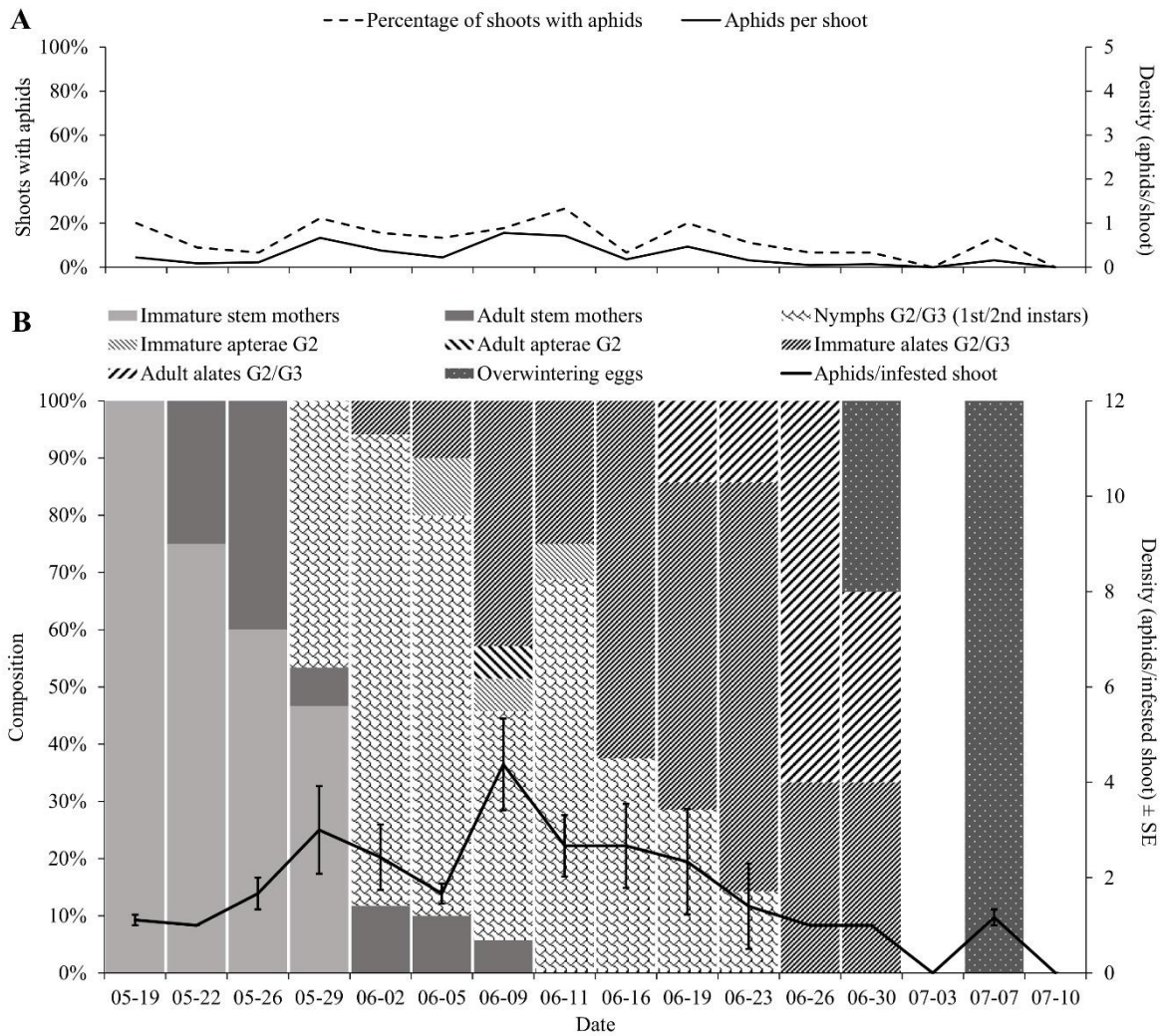


Figure A1. (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle F de sapin Fraser en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 pucerons ; (B) composition saisonnière (morphes, groupe d'âge) pour les colonies de *Mindarus abietinus* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage.

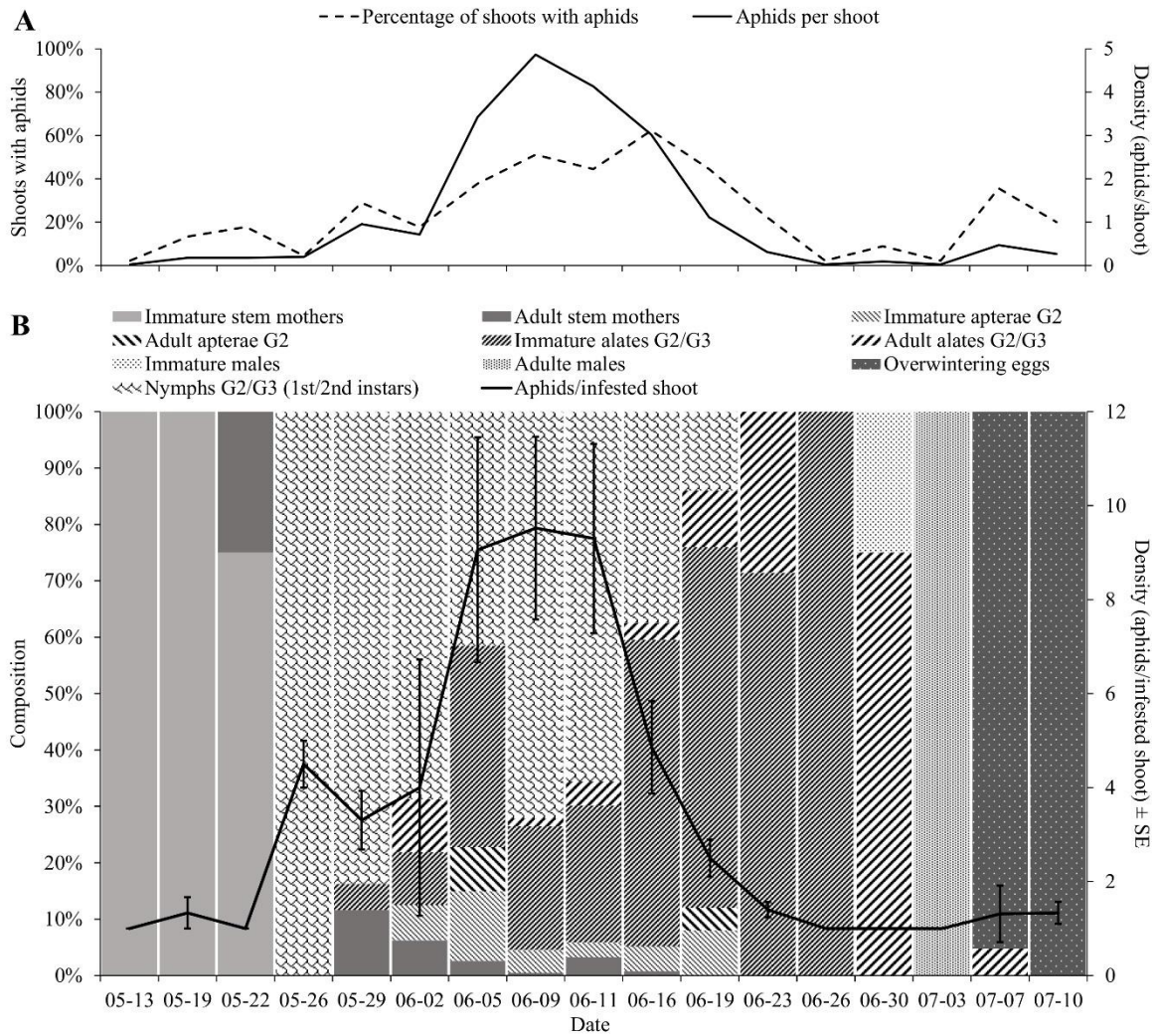


Figure A2. (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle B1 de sapin baumier en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 pucerons ; (B) composition saisonnière (morphes, groupe d'âge) pour les colonies de *Mindarus abietinus* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage.

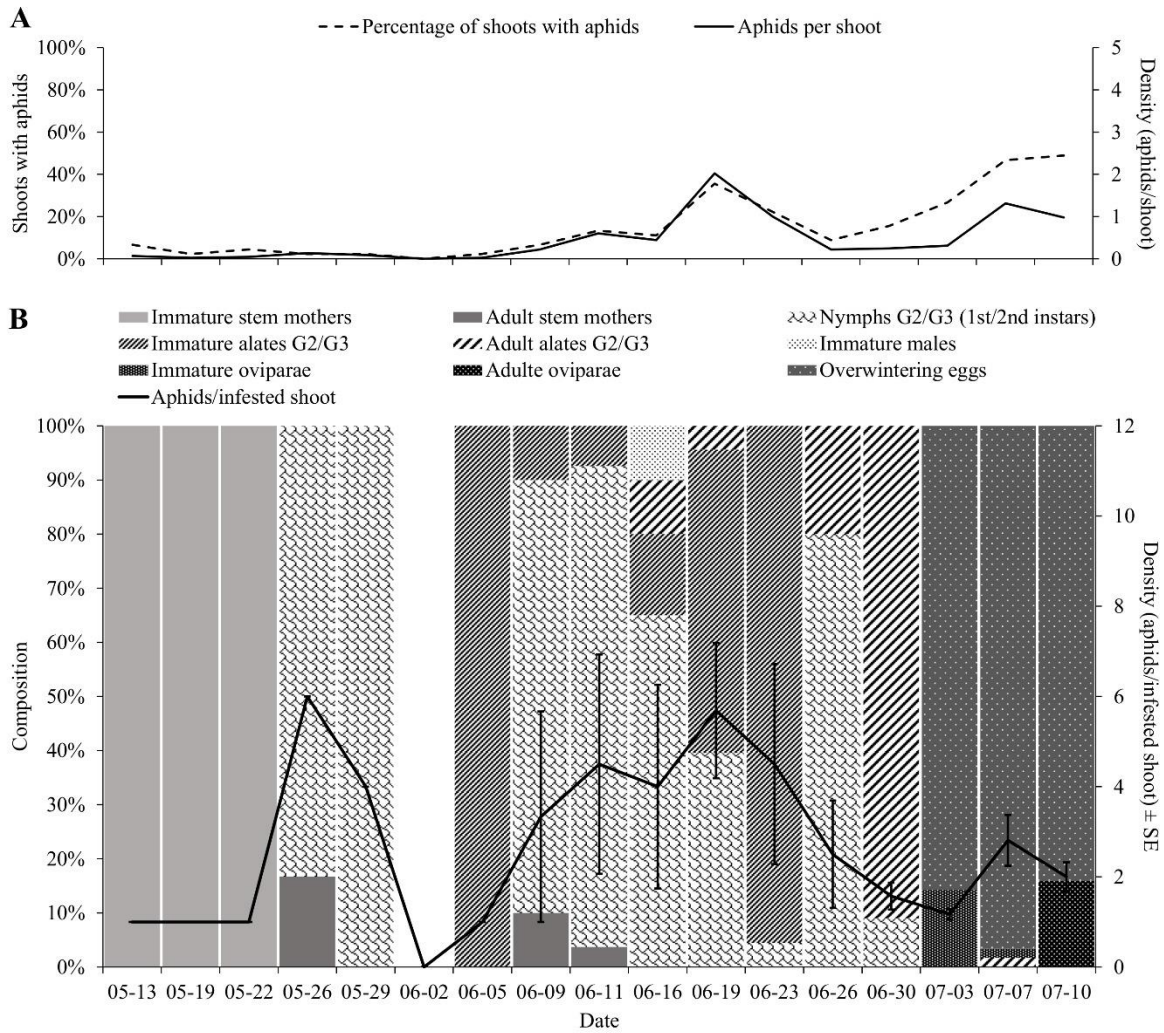


Figure A3. (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle B2 de sapin baumier en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 pucerons ; (B) composition saisonnière (morph, groupe d'âge) pour les colonies de *Mindarus abietinus* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage.

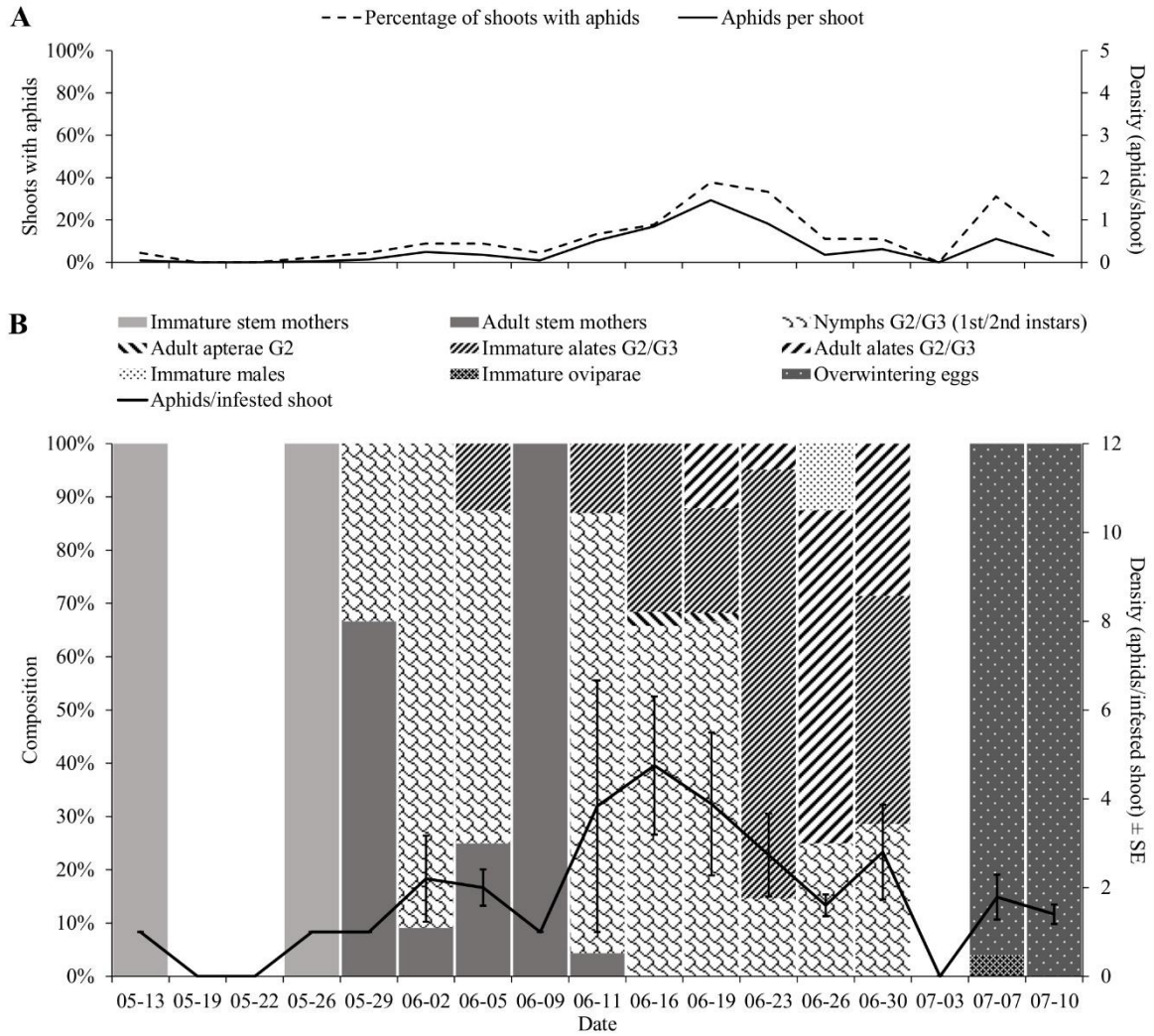


Figure A4. (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle C de sapin Canaan en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 pucerons ; (B) composition saisonnière (morph, groupe d'âge) pour les colonies de *Mindarus abietinus* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage.

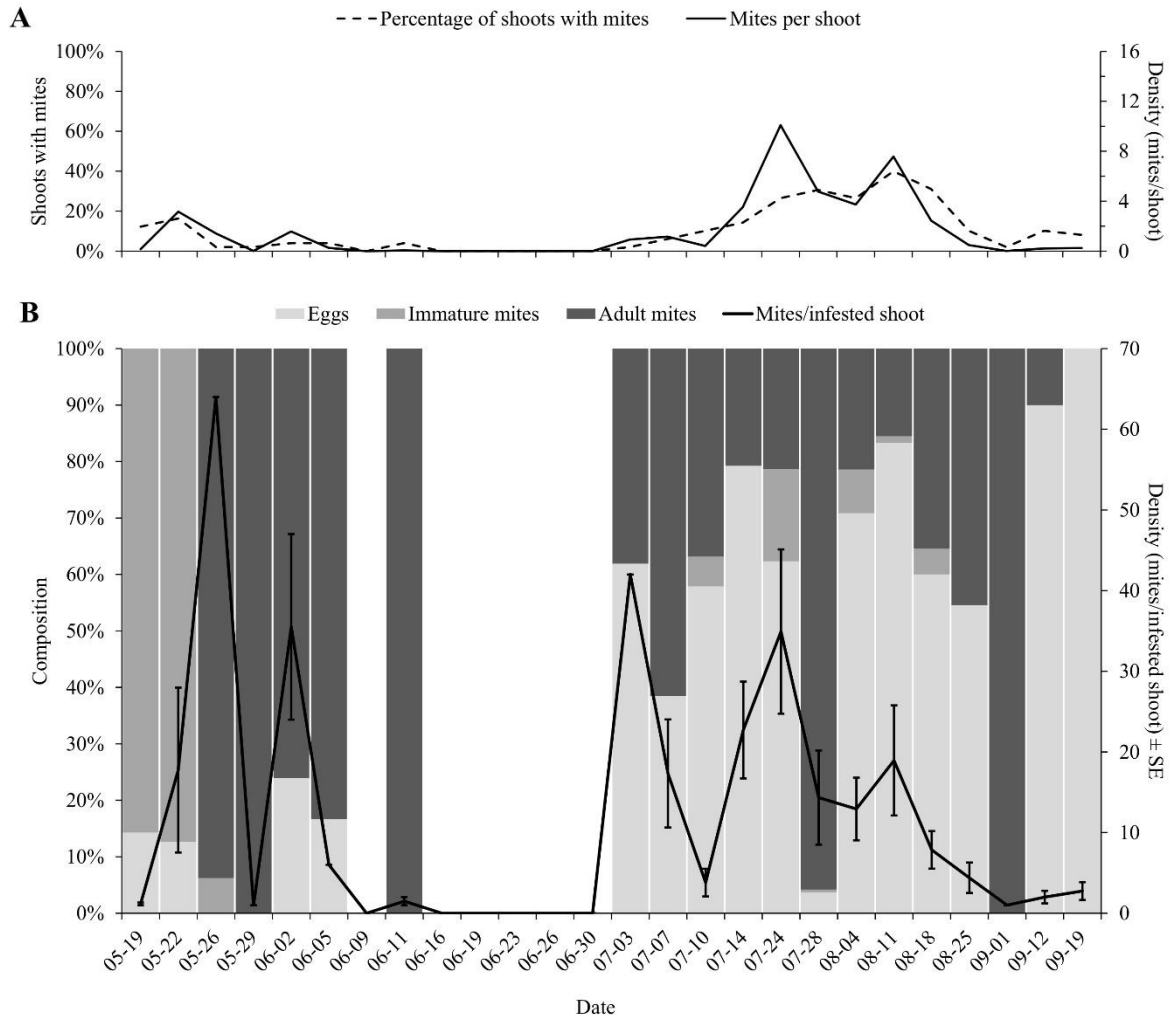


Figure A5. (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle F de sapin Fraser en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 tétranyques ; (B) composition saisonnière (morphe, groupe d'âge) pour les colonies d'*Oligonychus ununguis* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage.

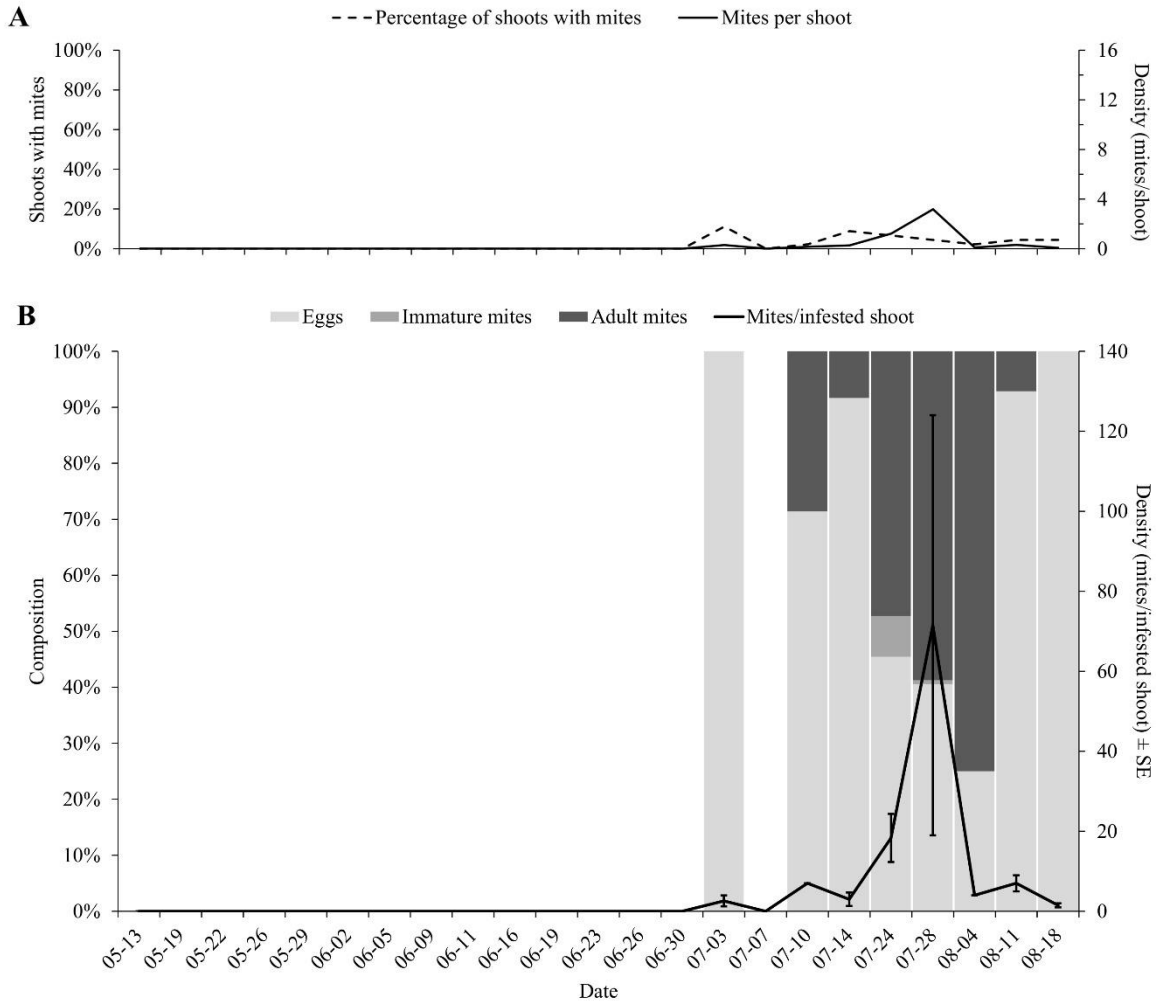


Figure A6. (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle B1 de sapin baumier en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 tétranyques ; (B) composition saisonnière (morphe, groupe d'âge) pour les colonies d'*Oligonychus ununguis* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage.

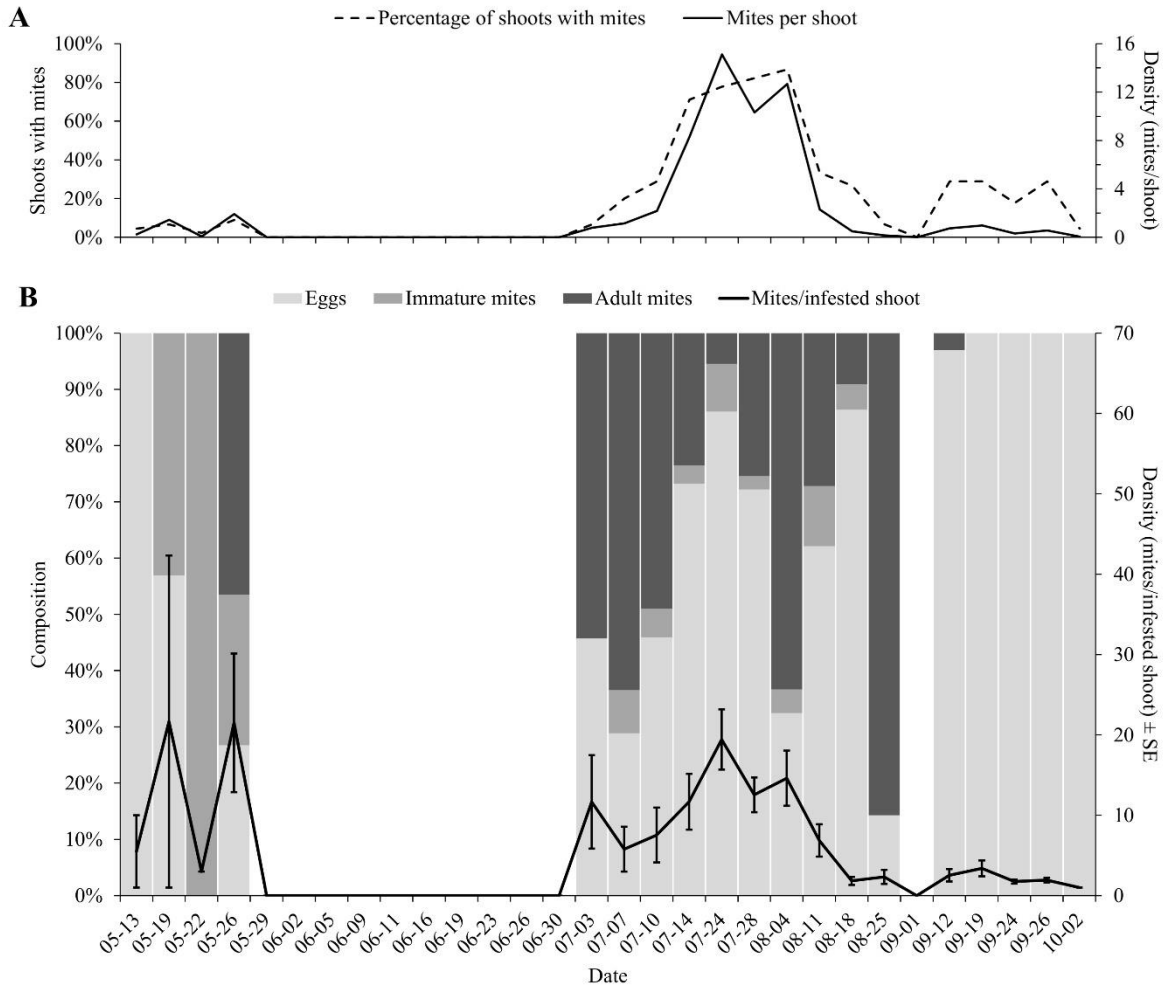


Figure A7. (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle B2 de sapin baumier en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 tétranyques ; (B) composition saisonnière (morphes, groupe d'âge) pour les colonies d'*Oligonychus ununguis* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage.

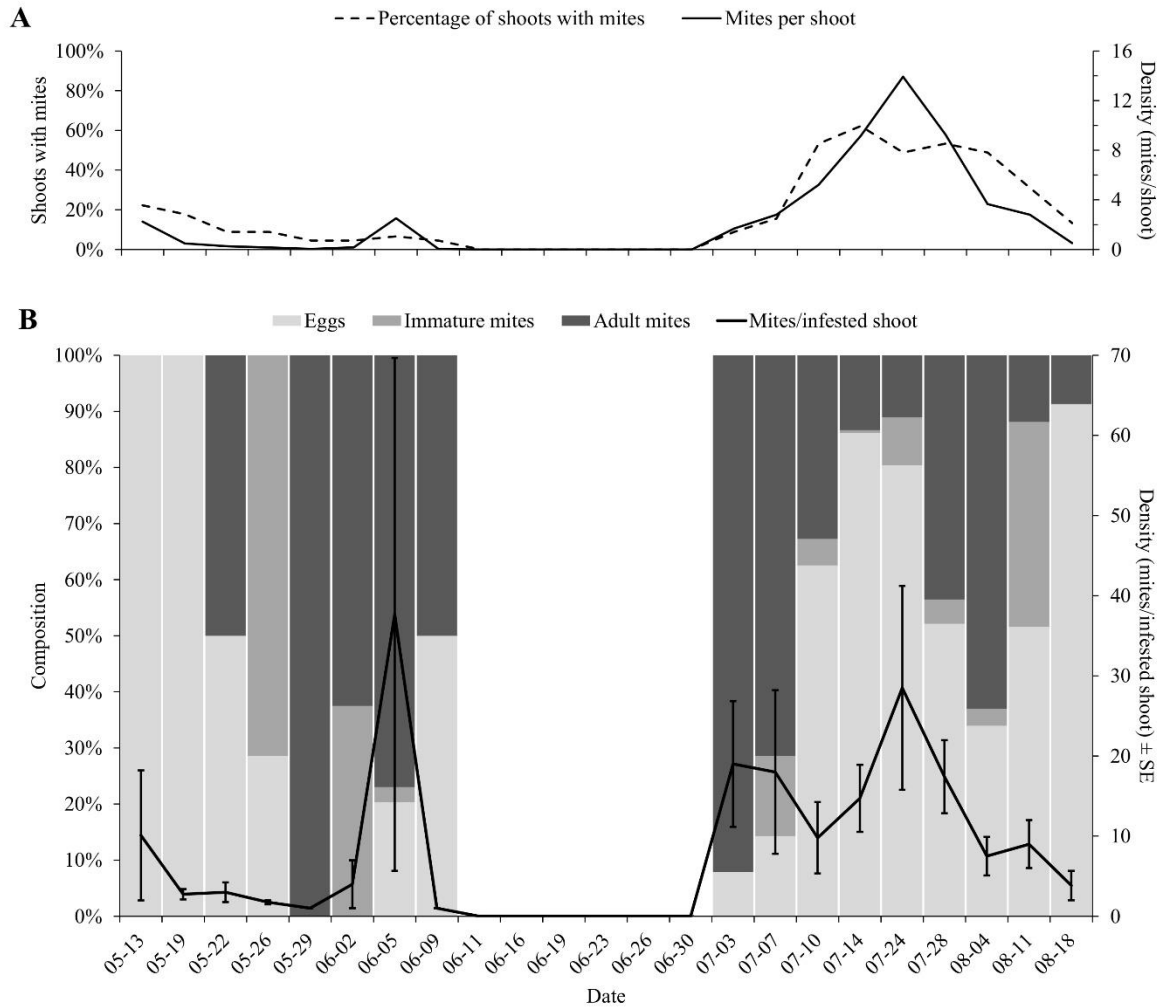


Figure A8. (A) Variations de la densité moyenne par pousse ($n = 45$) dans la parcelle C de sapin Canaan en 2014, avec le pourcentage des pousses ayant ≥ 1 tétranyques ; (B) composition saisonnière (morphologie, groupe d'âge) pour les colonies d'*Oligonychus ununguis* et leur taille moyenne \pm l'écart type (SE). Noter : l'axe des x n'est pas continu et représente seulement les dates d'échantillonnage.

Bibliographie

- Amarasekare, P. and Savage, V. 2012. A framework for elucidating the temperature dependence of fitness. *The American Naturalist*, **179**: 178-191.
- Analytis, S. 1981. Relationship between temperature and development times in phytopathogenic fungus and in plant pests: a mathematical model. *Agricultural Research (Athens)*, **5**: 133-159.
- Angilletta, M.J., Steury, T.D., and Sears, M.W. 2004. Temperature, growth rate, and body size in ectotherms: fitting pieces of a life-history puzzle. *Integrative and Comparative Biology*, **44**: 498-509.
- Bakke, A. 1963. Studies on the spruce-cone insects *Laspeyresia strobilella* (L) (Lepidoptera: Tortricidae), *Kaltenbachiola strobe* (Winn.) (Diptera: Itonididae) and their parasites (Hymenoptera) in Norway. Report of the Norwegian Forest Research Institute, **67**: 1-151.
- Bell, J.R., Alderson, L., Izer, D., Kruger, T., Parker, S., Pickup, J., Shortall, C.R., Taylor, M.S., Verrier, P., and Harrington, R. 2015. Long-term phenological trends, species accumulation rates, aphid traits and climate: five decades of change in migrating aphids. *Journal of Animal Ecology*, **84**: 21-34.
- Bergant, K. and Trdan, S. 2006. How reliable are thermal constants for insect development when estimated from laboratory experiments. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **120**: 251-256.
- Berthiaume, R., Hébert, C., and Cloutier, C. 2000. Predation on *Mindarus abietinus* infesting balsam fir grown as Christmas trees: the impact of coccinellid larval predation with emphasis on *Anatis mali*. *BioControl*, **45**: 425-438.
- Berthiaume, R., Hébert, C., and Cloutier, C. 2001a. Le puceron des pousses du sapin. Information leaflet CFL-29, Natural Resources Canada, Québec City, Québec, Canada.
- Berthiaume, R., Hébert, C., and Cloutier, C. 2001b. *Podabrus rugosulus* (Coleoptera: Cantharidae), an opportunist predator of *Mindarus abietinus* (Hemiptera: Aphididae) in Christmas tree plantations. *The Canadian Entomologist*, **133**: 151-154.
- Berthiaume, R., Hébert, C., and Cloutier, C. 2007. Comparative use of *Mindarus abietinus* (Homoptera: Aphididae) by two coccinellids (Coleoptera: Coccinellidae), the native *Anatis mali* and the exotic *Harmonia axyridis*, in a Christmas tree plantation. *Environmental Entomology*, **36**: 319-328.
- Berthiaume, R., Hébert, C., Pelletier, G., and Cloutier, C. 2016. Seasonal natural history of aphidophagous Syrphidae (Diptera) attacking the balsam twig aphid in balsam fir (Pinaceae) Christmas tree plantations. *The Canadian Entomologist*, **148**: 466-475.
- Bethke, J.A. and Redak, R.A. 1996. Temperature and moisture effects on the success of egg hatch in *Trirhabda geminate* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Ecology and Population Biology*, **89**: 661-666.
- Blackman, R.L. and Eastop, V.F. 2000. Aphids on the world's crops: an identification and information guide. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, United States of America.
- Bonsal, B.R., Zhang, X., Vincent, L.A., and Hogg, W.D. 2000. Characteristics of daily and extreme temperatures over Canada. *Journal of Climate*, **14**: 1959-1976.

- Boyne, J.V. and Hain, F.P. 1983. Effects of constant temperature, relative humidity, and simulated rainfall on development and survival of the spruce spider mite (*Oligonychus ununguis*). *The Canadian Entomologist*, **115**: 93-105.
- Bradbury, R.L. and Osgood, E.A. 1986. Chemical control of balsam twig aphid, *Mindarus abietinus* Koch (Homoptera: Aphididae). Technical bulletin 124, Maine Agricultural Experiment Station, University of Maine, Orono, Maine, United States of America.
- Bradshaw, W.E. and Holzapfel, C.M. 2007. Evolution of animal photoperiodism. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **38**: 1-25.
- Braendle, C., David, G.K., Brisson, J.A., and Stern, D.L. 2006. Wing dimorphism in aphids. *Heredity*, **97**: 192-199.
- Brière, J.-F., Pracros, P., Le Roux, A.-Y., and Pierre, J.-S. 1999. A novel rate model of temperature-dependent development for arthropods. *Environmental Entomology*, **28**: 22-29.
- Burden, D.J. and Hart, E.R. 1989. Degree-day model for egg eclosion of the pine needle scale (Hemiptera: Diaspididae). *Environmental Entomology*, **18**: 223-227.
- CIPRA, Computer Centre for Agricultural Pest Forecasting Crop Guide. 2013. Agriculture and Agri-Food Canada, St-Jean-sur-Richelieu, Québec, Canada.
- Cloutier, C., Roy, M., and Boudreault, S. 2009. Développement d'outils en lutte intégrée contre le tétranyque de l'épinette. Final report, Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, Québec City, Québec, Canada.
- Cordell, C.E., Anderson, R.L., Hoffard, W.H., Landis, T.D., Smith, R.S., and Toko, H.V. 1989. Forest nursery pests. Handbook 680, United States Department of Agriculture, Forest Service, Washington, D.C., United States of America.
- Cumming, M.E.P. 1953. Notes on the life history and seasonal development of the pine needle scale, *Phenacaspis pinifoliae* (Fitch), (Diaspididae: Homoptera). *The Canadian Entomologist*, **85**: 347-352.
- Danks, H.V. 2000. Dehydration in dormant insects. *Journal of Insect Physiology*, **46**: 837-852.
- Danks, H.V. 2007. The elements of seasonal adaptations in insects. *The Canadian Entomologist*, **139**: 1-44.
- DeHayes, D.H. 1981. Genetic variation in susceptibility of *Abies balsamea* to *Mindarus abietinus*. *Canadian Journal of Forest Research*, **11**: 30-35.
- Deland, J.-P., Berthiaume, R., Hébert, C., and Cloutier, C. 1998. Programme alternatif de protection du sapin de Noël contre le puceron des pousses dans le contexte d'une saine gestion des ressources environnementales. Final report, Ministère de l'environnement et de la faune, Québec City, Québec, Canada.
- Delisle, J., Royer, L., Bernier-Cardou, M., Bauce, E., and Labrecque, A. 2009. The combined effect of photoperiod and temperature on egg dormancy in an island and a mainland population of the hemlock looper, *Lambdina fiscellaria*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **133**: 232-243.
- Denlinger, D.L. 2002. Regulation of diapause. *Annual Review of Entomology*, **47**: 93-122.
- Desrosiers, N. 1998. Influence de la fertilisation azotée et de la date de débournement sur les populations du puceron des pousses *Mindarus abietinus* Koch (Homoptère : Aphididae). Mémoire de maîtrise, Université Laval, Québec City, Québec, Canada.
- Deutsch, C.A., Tewksbury, J.J., Huey, R.B., Sheldon, K.S., Ghalambor, C.K., Haak, D.C., and Martin, P.R. 2008. Impacts of climate warming on terrestrial ectotherms across latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105**: 6668-6672.

- Doherty, J.-F., Guay, J.-F., and Cloutier, C. 2017. Temperature-manipulated dynamics and phenology of *Mindarus abietinus* (Hemiptera: Aphididae) in commercial Christmas tree plantations in Québec, Canada. *The Canadian Entomologist*, *in press*.
- Draper, N.R. and Smith, H. 1998. Applied regression analysis. John Wiley & Sons, Inc., New York City, New York, United States of America.
- Edwards, S., Jesson, L.K., Quiring, D., Weng, Y., Johns, R., and Park, Y.S. 2016. Genetically-based resistance of balsam fir (Pinaceae) to damage from balsam twig aphid (Hemiptera: Aphididae). *The Canadian Entomologist*, **148**: 426-433.
- Eidt, D.C. and MacGillivray, H.G. 1972. Resistance of seven fir species to spruce budworm and other insects. *Bi-Monthly Research Notes*, **28**: 2-3.
- Farjon, A. 1990. Pinaceae: drawings and descriptions of the genera *Abies*, *Cedrus*, *Pseudolarix*, *Keteleeria*, *Nothotsuga*, *Tsuga*, *Cathaya*, *Pseudotsuga*, *Larix* and *Picea*. Koeltz Scientific Books, Oberreifenberg, Hesse, Germany.
- Flores-Mejia, S., Fournier, V., Cloutier, C. 2014. Temperature responses of a plant-insect system using a food-web performance approach. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **153**: 142-155.
- Fondren, K.M. and McCullough, D.G. 2002. Biology and management of balsam twig aphid. Extension bulletin E-2813, Michigan State University, East Lansing, Michigan, United States of America.
- Fondren, K.M. and McCullough, D.G. 2003. Phenology and density of balsam twig aphid, *Mindarus abietinus* Koch (Homoptera: Aphididae) in relation to bud break, shoot damage, and value of fir Christmas trees. *Journal of Economic Entomology*, **96**: 1760-1769.
- Fondren, K.M. and McCullough, D.G. 2005. Phenology, natural enemies, and efficacy of horticultural oil for control of *Chionaspis pinifoliae* (Homoptera: Diaspididae) on Christmas tree plantations. *Journal of Economic Entomology*, **98**: 1603-1613.
- Fondren, K.M., McCullough, D.G., and Walter, A.J. 2004. Insect predators and augmentative biological control of balsam twig aphid (*Mindarus abietinus* Koch) (Homoptera: Aphididae) on Christmas tree plantations. *Environmental Entomology*, **33**: 1652-1661.
- Gehrken, U. and Sømme, L. 1987. Increased cold hardiness in eggs of *Arcynopteryx compacta* (Plecoptera) by dehydration. *Journal of Insect Physiology*, **33**: 987-991.
- Gwiazdowski, R.A., Vea, I.M., Anderson, J.C., and Normark, B.B. 2011. Discovery of cryptic species among North American pine-feeding *Chionsaspis* scale insects (Hemiptera: Diaspididae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **104**: 47-62.
- Hahn, D.A. and Denlinger, D.L. 2011. Energetics of insect diapause. *Annual Review of Entomology*, **56**: 103-121.
- Hanover, J.W. 1975. Physiology of tree resistance to insects. *Annual Review of Entomology*, **20**: 75-95.
- Heinrich, B. 1974. Thermoregulation in endothermic insects. *Science*, **185**: 747-756.
- Helle, W. and Sabelis, M.W. 1985. Spider mites: their biology, natural enemies and control. Elsevier, Amsterdam, North Holland, Netherlands.
- Hermes, D.A. 2013. Integrated pest management of Midwest landscapes: tactics and tools for integrated pest management. University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, United States of America.
- Hilbert, D.W. and Logan, J.A. 1983. Empirical model of nymphal development for the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes* (Orthoptera: Acrididae). *Environmental Entomology*, **12**: 1-5.

- Hodek, I. 2003. Role of water and moisture in diapause development (a review). *European Journal of Entomology*, **100**: 223-232.
- Hodek, I. and Hodková, M. 1988. Multiple role of temperature during insect diapause: a review. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **49**: 153-165.
- Hoffmann, A.A. 2010. Physiological climatic limits in *Drosophila*: patterns and implications. *Journal of Experimental Biology*, **213**: 870-880.
- Ikemoto, T. and Takai, K. 2000. A new linearized formula for the law of total effective temperature and the evaluation of line-fitting methods with both variables subject to error. *Environmental Entomology*, **29**: 671-682.
- Izzo, V.M., Armstrong, J., Hawthorne, D., and Chen, Y. 2014. Time of the season: the effect of host photoperiodism on diapause induction in an insect herbivore, *Leptinotarsa decemlineata*. *Ecological Entomology*, **39**: 75-82.
- James, B.D. and Luff, M.L. 1982. Cold-hardiness and development of eggs of *Rhopalosiphum insertum*. *Ecological Entomology*, **7**: 277-282.
- Johnson, B. 1965. Wing polymorphism in aphids II, interaction between aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **8**: 49-64.
- Johnson, P.C. 1958. Spruce spider mite infestations in northern Rocky Mountain Douglas-fir forests. Research paper 55, Intermountain Forest and Range Experiment Station, United States Department of Agriculture, Ogden, Utah, United States of America.
- Johnson, W.T. and Lyon, H.H. 1991. Insects that feed on trees and shrubs. Cornell University Press, Ithaca, New York, United States of America.
- Joschinski, J., Hovestadt, T., and Krauss, J. 2015. Coping with shorter days: do phenology shifts constrain aphid fitness? *PeerJ*, **3**: e1103. doi:10.7717/peerj.1103.
- Kielczewski, B. 1966. Common mite species of forest biotypes occurring on trees and accompanying certain insects. *Zeszyty Problemowe Nauk Postępów Rolniczych*, **65**: 217-223.
- Kleintjes, P.K., Lemoine, E.E., Schroeder, J., and Solensky, M.J. 1999. Comparison of methods for monitoring *Mindarus abietinus* (Homoptera: Aphididae) and their potential damage in Christmas tree plantations. *Journal of Economic Entomology*, **92**: 638-643.
- Kontodimas, D.C., Eliopoulos, P.A., Stathas, G.J., and Economou, L.P. 2004. Comparative temperature-dependent development of *Nephus includens* (Kirsch) and *Nephus bisignatus* (Boheman) (Coleoptera: Coccinellidae) preying on *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera: Pseudo-coccidae): evaluation of a linear and various non-linear models using specific criteria. *Environmental Entomology*, **33**: 1-11.
- Koštál, V. 2006. Eco-physiological phases of insect diapause. *Journal of Insect Physiology*, **52**: 113-127.
- Kramer, D.A. and Hain, F.P. 1989. Effect of constant-humidity and variable-humidity and temperature regimes on the survival and developmental periods of *Oligonychus ununguis* (Acarina: Tetranychidae) and *Neoseiulus fallacis* (Acarina: Phytoseiidae). *Environmental Entomology*, **18**: 741-746.
- Lactin, D.J., Holliday, N.J., Johnson, D.L., and Craigen, R. 1995. Improved rate model of temperature-dependent development by arthropods. *Environmental Entomology*, **24**: 68-75.
- Lamb, R.J. 1992. Developmental rate of *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: Aphididae) at low temperatures: implications for estimating rate parameters for insects. *Environmental Entomology*, **21**: 10-19.

- Leather, S.R., Walters, K.F.A., and Bale, J.S. 1993. The ecology of insect overwintering. Cambridge University Press, New York City, New York, United States of America.
- Lee, R.E. 1991. Principles of insect low temperature tolerance. *In* Insects at Low Temperature. *Edited by* R.E. Lee, Jr. and D.L. Denlinger. Chapman and Hall, London, United Kingdom. Pp. 17-46.
- Lees, A.D. 1967. The production of the apterous and alate forms in the aphid *Megoura viciae* Buckton, with special reference to the role of crowding. *Journal of Insect Physiology*, **13**: 289-318.
- Lester, J.D. and Irwin, J.T. 2012. Metabolism and cold tolerance of overwintering adult mountain pine beetles (*Dendroctonus ponderosae*): evidence of facultative diapause? *Journal of Insect Physiology*, **58**: 808-815.
- Liu, S. 1994. Production of alatae in response to low temperature in aphids: a trait of seasonal adaptation. *In* Insect Life-Cycle Polymorphism. *Edited by* H.V. Danks. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. Pp. 245-261.
- Logan, J.A., Wollkind, D.J., Hoyt, S.C., and Tanigoshi, L.K. 1976. An analytical model for description of temperature dependent rate phenomena in arthropods. *Environmental Entomology*, **5**: 1133-1140.
- Löyttyniemi, K. 1971. Influence of damage caused to needles of Norway spruce by spider mite, *Oligonychus ununguis* (Jacobi), on seedling growth. *Silva Fennica*, **5**: 32-35.
- Marquardt, D.V. 1963. An algorithm for least squares estimation of nonlinear parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics*, **11**: 431-441.
- Marshall, V.G. 1986. Spruce spider mite in British Columbia. Forest pest leaflet 33, Pacific Forestry Centre, Agriculture Canada, Victoria, British Columbia, Canada.
- Martel, P. and Sharma, M.L. 1968. Quelques précisions sur la biologie et l'écologie de la cochenille, *Phenacaspis pinifoliae* (Fitch), (Homoptera : Diaspididae), dans le Québec. Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada.
- Martineau, R. 1984. Insects harmful to forest trees. Forestry technical report 32, Canadian Forestry Service, Ottawa, Ontario, Canada.
- McKinley, C.R. 1995. Trees for Christmas trees [online]. Available from <http://www.realchristmastrees.org/Education/Tree-Varieties> [accessed 26 December 2016].
- McMaster, G.S. and Wilhelm, W.W. 1997. Growing degree-days: one equation, two interpretations. *Agricultural and Forest Meteorology*, **87**: 291-300.
- Mehrpourvar, M., Zytynska, S.E., and Weisser, W.W. 2013. Multiple cues for winged morph production in an aphid metacommunity. *PLoS ONE*, **8**: e58323. doi:10.1371/journal.pone.0058323.
- Miller, D.R. and Davidson, J.A. 2005. Armored scale insect pests of trees and shrubs (Hemiptera: Diaspididae). Cornell University Press, Ithica, New York, United States of America.
- Moore, J.L. and Remais, J.V. 2014. Developmental models for estimating ecological responses to environmental variability: structural, parametric, and experimental issues. *Acta Biotheoretica*, **62**: 69-90.
- Moriarty, F. 1969. Egg diapause and water absorption in the grasshopper *Chorthippus brunneus*. *Journal of Insect Physiology*, **15**: 2069-2074.
- Müller, C.B., Williams, I.S., and Hardie, J. 2001. The role of nutrition, crowding and interspecific interactions in the development of winged aphids. *Ecological Entomology*, **26**: 330-340.

- Nahrung, H.F. and Merritt, D.J. 1999. Moisture is required for the termination of egg diapause in the chrysomelid beetle, *Homichloda barkeri*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **93**: 201-207.
- Nechols, J.R., Tauber, M.J., Tauber, C.A., and Masaki, S. 1999. Adaptations to hazardous seasonal conditions: dormancy, migration, and polyphenism. *In Ecological entomology. Edited by C.B. Huffaker and A.P. Gutierrez.* John Wiley & Sons, Inc., Toronto, Ontario, Canada. Pp. 174-181.
- Nettleton, W.A. and Hain, F.P. 1982. The life history, foliage damage, and control of the balsam twig aphid, *Mindarus abietinus* (Homoptera: Aphididae), in Fraser fir Christmas tree plantations of western North Carolina. *The Canadian Entomologist*, **114**: 155-165.
- Nielsen, D.G. and Johnson, N.E. 1973. Contribution to the life history and dynamics of the pine needle scale, *Phenacaspis pinifoliae*, in central New York. *Annals of the Entomological Society of America*, **66**: 34-43.
- Niikawa, K. and Takeda, M. 1996. Water absorption by diapause and nondiapause eggs in two *Velarifictorus* species (Orthoptera: Gryllidae). *Applied Entomology and Zoology*, **31**: 105-110.
- Osawa, A., Shoemaker, C.A., and Stedinger, J.R. 1983. A stochastic model of balsam fir bud phenology utilizing maximum likelihood parameter estimation. *Forest Science*, **29**: 478-490.
- Ouranos. 2015. Vers l'adaptation : synthèse des connaissances sur les changements climatiques au Québec. Ouranos-Montréal, Montréal, Québec, Canada.
- Paaijmans, K.P., Heinig, R.L., Seliga, R.A., Blanford, J.I., Blanford, S., Murdock, C.C., and Thomas, M.B. 2013. Temperature variation makes ectotherms more sensitive to climate change. *Global Change Biology*, **19**: 2373-2380.
- Patch, E.M. 1910. Four rare aphid genera from Maine. Bulletin 182, Maine Agricultural Experiment Station, University of Maine, Orono, Maine, United States of America.
- Philpott, D.E., Berlocher, S.H., Mitchell, R.F., and Hanks, L.M. 2009. Molecular validation of a morphological character for distinguishing between the armored scale insects *Chionaspis pinifoliae* and *Chionaspis heterophyllae* (Hemiptera: Diaspididae). *Annals of the Entomological Society of America*, **102**: 381-385.
- Pope, R.D. 1983. Some aphid waxes, their form and function (Homoptera: Aphididae). *Journal of Natural History*, **17**: 489-506.
- Powell, G.R. 1982. Shoot and bud development in balsam fir: implications for pruning of Christmas trees. *The Forestry Chronicle*, **58**: 168-172.
- Qi, X.-L., Wang, X.-H., Xu, H.-F., and Kang, L. 2007. Influence of soil moisture on egg cold hardiness in the migratory locust *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae). *Physiological Entomology*, **32**: 219-224.
- Régnière, J. and Turgeon, J.J. 1989. Temperature-dependant development of *Zeiraphera canadensis* and simulation of its phenology. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **50**: 185-193.
- Richmond, D.S. and Shetlar, D.J. 1996. Eclosion time and spatial distribution of overwintering spruce spider mite (Acari: Tetranychidae) eggs on Colorado spruce. *Journal of Economic Entomology*, **89**: 447-452.
- Romero-Lankao, P., Smith, J.B., Davidson, D.J., Diffenbaugh, N.S., Kinney, P.L., Kirshen, P., *et al.* 2014. North America. *In Climate change 2014: impacts, adaptation, and vulnerability. Part B: regional aspects, contribution of working group ii to the fifth*

- assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. *Edited by* V.R. Barros, C.B. Field, D.J. Dokken, M.D. Mastrandrea, K.J. Mach, T.E. Bilir, *et al.* Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom. Pp. 1439–1498.
- Roy, M., Brodeur, J., and Cloutier, C. 2002. Relationship between temperature and developmental rate of *Stethorus punctillum* (Coleoptera: Coccinellidae) and its prey *Tetranychus mcdanieli* (Acarina: Tetranychidae). *Environmental Entomology*, **31**: 177-187.
- Saito, Y. 1995. Sociobiological aspects of spider mite life types. *Journal of the Acarological Society of Japan*, **4**: 55-67.
- Saito, Y. 2009. Plant mites and sociality: diversity and evolution. Springer, New York City, New York, United States of America.
- Sandhu, H.S., Nuessly, G.S., Webb, S.E., Cherry, R.H., and Gilbert, R.A. 2010. Temperature-dependent development of *Elasmopalpus lignosellus* (Lepidoptera: Pyralidae) on sugarcane under laboratory conditions. *Environmental Entomology*, **39**: 1012-1020.
- Schaefers, G.A. and Judge, F.D. 1971. Effects of temperature, photoperiod, and host plant on alary polymorphism in the aphid, *Chaetosiphon fragaefolii*. *Journal of Insect Physiology*, **17**: 365-379.
- Sharratt, B.S., Sheaffer, C.C., and Baker, D.G. 1989. Base temperature for the application of the growing-degree-day model to field-grown alfalfa. *Field Crop Research*, **21**: 95-102.
- Sømme, L. 1982. Supercooling and winter survival in terrestrial arthropods. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **73**: 519-543.
- Speight, M.R., Hunter, M.D., and Watt, A.D. 2008. *Ecology of insects: concepts and applications*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, United States of America.
- Stimmann, M.W. 1969. Seasonal history of a unisexual population of the pine needle scale, *Phenacaspis pinifoliae*. *Annals of the Entomological Society of America*, **62**: 930-931.
- Stone, G.N. and Schönrogge, K. 2003. The adaptive significance of insect gall morphology. *Trends in Ecology and Evolution*, **18**: 512-522.
- Strong, D.R. 1979. Biogeographic dynamics of insect-host plant communities. *Annual Review of Entomology*, **24**: 89-119.
- Tanaka, S. 1986. Uptake and loss of water in diapause and non-diapause eggs of crickets. *Physiological Entomology*, **11**: 343-351.
- Tang, J., Körner, C., Muraoka, H., Piao, S., Miaogen, S., Thackeray, S.J., and Yang, X. 2016. Emerging opportunities and challenges in phenology: a review. *Ecosphere*, **7**: e01436. doi:10.1002/ecs2.1436.
- Tauber, M.J., Tauber, C.A., and Masaki, S. 1986. *Seasonal adaptations of insects*. Oxford University Press, New York City, New York, United States of America.
- Taylor, F. 1981. Ecology and evolution of physiological time in insects. *The American Naturalist*, **117**: 1-23.
- Trudgill, G.L., Honek, A., Li, D., and van Straalen, N.M. 2005. Thermal time - concepts and utility. *Annals of Applied Biology*, **146**: 1-14.
- Turnock, W.J. and Fields, P.G. 2005. Winter climates and coldhardiness in terrestrial insects. *European Journal of Entomology*, **102**: 561-576.
- van Baaren, J., Le Lann, C., and van Alphen, J.J.M. 2010. *Aphid biodiversity under environmental change: patterns and processes*. Springer, Dordrecht, South Holland, Netherlands.

- Varty, I.W. 1966. The seasonal history and population trends of the balsam twig aphid, *Mindarus abietinus* Koch, in New Brunswick. Internal report M-12, Forest Research Laboratory, Canada Department of Forestry, Fredericton, New Brunswick, Canada.
- Varty, I.W. 1968. The seasonal history and population trends of the balsam twig aphid, *Mindarus abietinus* Koch, in New Brunswick: polymorphism, rates of development and seasonal distribution of populations. Internal report M-24, Forest Research Laboratory, Canada Department of Forestry, Fredericton, New Brunswick, Canada.
- Vea, I.M., Gwiazdowski, R.A., and Normark, B.B. 2012. Corroborating molecular species discovery: four new pine-feeding species of *Chionaspis* (Hemiptera, Diaspididae). *ZooKeys*, **270**: 37-58.
- Visser, M.E. and Holleman, L.J.M., 2001. Warmer springs disrupt the synchrony of oak and winter moth phenology. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, **265**: 1867-1870.
- Wernegreen, J.J. 2012. Mutualism meltdown in insects: bacteria constrain thermal adaptation. *Current Opinion in Microbiology*, **15**: 255-262.
- Yagouti, A., Boulet, G., Vincent, L., Vescovi, L., and Mekis, E. 2008. Observed changes in daily temperature and precipitation indices for southern Québec, 1960-2005. *Atmosphere-Ocean*, **46**: 243-256.
- Yoder, J.A. and Denlinger, D.L. 1992. Water vapour uptake by diapausing eggs of a tropical walking stick. *Physiological Entomology*, **17**: 97-103.
- Zachariassen, K.E. 1985. Physiology of cold tolerance in insects. *American Journal of Physiology*, **65**: 799-832.
- Zahiri, B., Fathipour, Y., Khanjani, M., Moharramipour, S., and Zalucki, M.P. 2010. Preimaginal development response to constant temperatures in *Hypera postica* (Coleoptera: Curculionidae): picking the best model. *Environmental Entomology*, **39**: 177-189.
- Zhou, X., Harrington, R., Woiwod, I.P., Perry, J.N., Bale, J.S., and Clark, S.J. 1995. Effects of temperature on aphid phenology. *Global Change Biology*, **1**: 303-313.
- Zhou, X.-R., Gao, J.-C., and Pang, B.-P. 2016. Effects of temperature on the termination of egg diapause and post-diapause embryonic development of *Galeruca daurica* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environmental Entomology*, **45**: 1076-1080.