

Université de Montréal

**Structure génétique des populations du  
charançon de la carotte (*Listronotus oregonensis*)  
en Amérique du Nord**

Par  
Marianne Bessette

Institut de recherche en biologie végétale  
Département de sciences biologiques  
Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté  
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.)  
en sciences biologiques

Mai, 2021

©Marianne Bessette, 2021

Université de Montréal

Département de sciences biologiques, Faculté des arts et des sciences

---

*Ce mémoire intitulé*

**Structure génétique des populations du charançon de la carotte (*Listronotus oregonensis*)  
en Amérique du Nord**

*Présenté par*

**Marianne Bessette**

*A été évalué par un jury composé des personnes suivantes*

**Colin Favret**  
Président-rapporteur

**Jacques Brodeur**  
Directeur de recherche

**Annie-Ève Gagnon**  
Codirectrice

**Annabelle Firlej**  
Membre du jury

## Résumé

Le charançon de la carotte (*Listronotus oregonensis*) s'avère un ravageur important des cultures d'apiacées en Amérique du Nord. Une recrudescence des dommages a été observée ces dernières années, et ce, malgré toutes les mesures de contrôle mises en place. Cette étude visait à déterminer la structure génétique des populations du charançon de la carotte en Amérique du Nord et d'évaluer le rôle de la distance géographique et de la plante hôte sur leur niveau de différenciation génétique. La préférence olfactive envers la plante hôte sur laquelle les charançons d'une même population s'y sont développés a aussi été analysée. La caractérisation de la structure génétique de *L. oregonensis* s'appuyait sur la discrimination des haplotypes (ADNmt COI) et des nucléotides (SNPs) par génotypage-par-séquençage (GBS). Dix-huit populations incluant 220 individus ont été échantillonnées au Québec, en Ontario, en Nouvelle-Écosse (Canada) et en Ohio (États-Unis). L'olfactométrie examinait la réponse olfactive de trois populations du Québec (195 femelles) en fonction de quatre plantes hôtes (carotte, céleri, céleri-rave et persil). Nos résultats ont montré que la distance géographique s'avère un facteur important de différenciation génétique entre les régions échantillonnées. Les analyses de GBS identifient la Nouvelle-Écosse comme étant la région la plus différenciée de toutes les populations analysées contrairement aux analyses de l'ADNmt COI qui suggèrent une différenciation récente. La plante hôte n'entraîne pas de signature génétique distincte chez le ravageur au Québec, et les trois populations testées n'ont pas présenté de préférence marquée pour une plante hôte, hormis la population issue du champ de carotte. Ces résultats suggèrent une capacité de dispersion limitée du charançon de la carotte à travers l'Amérique du Nord.

**Mots-Clés :** *Listronotus oregonensis*, génétique des populations, ADN mitochondrial COI, génotypage-par-séquençage, distance géographique, sélection d'hôte

## Abstract

The carrot weevil (*Listronotus oregonensis*) is a major pest of apiaceae crops in North America. An upsurge in damage has been observed in recent years, despite all the control measures deployed. This study aimed to determine the genetic structure of carrot weevil populations in North America and to assess the role of geographic distance and host plants on their level of genetic differentiation. The olfactory preference of carrot weevils for the host plant on which the populations were collected was also analyzed. The characterization of the genetic structure of *L. oregonensis* was based on the discrimination of haplotypes (COI mtDNA) and nucleotides (SNPs) by genotyping-by-sequencing (GBS). Eighteen populations including 220 individuals were sampled in Quebec, Ontario, Nova Scotia (Canada) and Ohio (United States). Olfactometry examined the olfactory response of three populations in Quebec (195 females) according to four host plants (carrot, celery, celeriac and parsley). Our results showed that geographic distance was an important factor in genetic differentiation between the regions sampled. GBS analyzes identify Nova Scotia as the most differentiated region of all populations, unlike COI mtDNA analyzes, which suggest recent differentiation. The host plant did not demonstrate a distinct genetic signature in Quebec, and the three populations tested did not show a marked preference for a host plant, apart from the carrot field population. Finally, these results suggest limited dispersal of the carrot weevil across North America.

**Keywords:** *Listronotus oregonensis*, genetic populations, mitochondrial DNA COI, genotyping-by-sequencing, geographic distance, host selection

# Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	iv
Liste des tableaux .....	vii
Liste des figures.....	viii
Liste des abréviations, sigles et symboles.....	x
Citation.....	xi
Remerciements.....	xii
Avant-propos.....	xiv
<b>1- Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
<b>Le charançon de la carotte .....</b>	<b>1</b>
<i>Mise en contexte .....</i>	<i>1</i>
<i>Phénologie et biologie.....</i>	<i>4</i>
<i>Lutte intégrée.....</i>	<i>6</i>
<b>Biologie moléculaire et séquençage.....</b>	<b>8</b>
<b>Structure génétique des populations .....</b>	<b>10</b>
<i>Distance géographique.....</i>	<i>11</i>
<i>Plante hôte.....</i>	<i>13</i>
<b>Préférences olfactives.....</b>	<b>14</b>
<b>Objectifs de l'étude.....</b>	<b>15</b>
<b>2. Genetic population structure of the carrot weevil (<i>Listronotus oregonensis</i>) in North America..</b>	<b>16</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>16</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>17</b>
<b>Materials and methods.....</b>	<b>18</b>
<i>Insect sampling .....</i>	<i>18</i>
<i>DNA extraction .....</i>	<i>20</i>
<i>DNA sequencing approaches.....</i>	<i>21</i>
<i>Mitochondrial DNA (COI) sequencing.....</i>	<i>21</i>
<i>Genotyping-by-sequencing (GBS) .....</i>	<i>22</i>
<i>COI and GBS analyses .....</i>	<i>22</i>
<b>Results .....</b>	<b>23</b>

<i>COI</i> .....	23
<i>GBS</i> .....	28
<b>Discussion</b> .....	29
<b>Acknowledgements</b> .....	32
<b>Authors Contribution</b> .....	32
<b>Supplementary material</b> .....	33
<b>Haplotype's diversity in COI analysis</b> .....	33
<b>Isolation by distance tests</b> .....	34
<b>Correlation between FST from COI and GBS</b> .....	35
<b>References</b> .....	35
<b>3. Préférence des charançons de la carotte (<i>Listronotus oregonensis</i>) à leur plante hôte d'origine.</b>	42
<b>Résumé</b> .....	42
<b>Introduction</b> .....	43
<b>Matériel et méthodes</b> .....	44
<i>Insectes</i> .....	44
<i>Plantes</i> .....	45
<i>Dispositif expérimental</i> .....	45
<i>Tests de préférence</i> .....	46
<i>Statistiques</i> .....	47
<b>Résultats</b> .....	47
<i>Tests en olfactomètre pour l'ensemble des populations</i> .....	47
<i>Charançons de la carotte provenant d'un champ de céleri-rave</i> .....	47
<i>Charançons de la carotte provenant d'un champ de carotte</i> .....	49
<i>Charançons de la carotte en élevage nourris sur carotte</i> .....	51
<b>Discussion</b> .....	52
<b>Références</b> .....	55
<b>4. Conclusion générale</b> .....	55
<b>Références générales</b> .....	63

## Liste des tableaux

<b>Table 2.1.</b> Description of sampling locations, host plants and sampling periods for <i>L. oregonensis</i> in North America, and numbers of individuals analyzed using either mitochondrial DNA sequencing (COI) or genotyping-by-sequencing (GBS).....	<b>20</b>
<b>Table 2.2.</b> Sample size ( <i>n</i> ), number of haplotypes ( <i>k</i> ), number of polymorphic sites (PS), haplotype diversity ( <i>H</i> ) ± SD, nucleotide diversity ( $\pi$ ) ± SD; results of Tajima's D and Fu's <i>F<sub>s</sub></i> neutrality tests with p-values for each <i>Listronotus oregonensis</i> population.....	<b>25</b>
<b>Table 2.3.</b> Results of the AMOVA analyses of 17 populations of <i>Listronotus oregonensis</i> collected from three Canadian provinces and one US State.....	<b>25</b>
<b>Table 2.4.</b> Pairwise <i>F<sub>ST</sub></i> values among 16 populations of <i>Listronotus oregonensis</i> in North America from COI sequences (below diagonal) and GBS analysis (above diagonal).....	<b>26</b>
<b>Table 2.5.</b> Results of the AMOVA analysis of 12 populations of <i>Listronotus oregonensis</i> collected on four different host plants (carrot, celery, celeriac and parsley) in the province of Québec.....	<b>26</b>
<b>Table A2.1</b> Haplotype diversity of <i>Listronotus oregonensis</i> from three Canadian provinces and one state in USA (Ohio).....	<b>33</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1.1</b> Charançon de la carotte <i>Listronotus oregonensis</i> (Le Conte).....	1
<b>Figure 1.2</b> Aire de répartition de <i>Listronotus oregonensis</i> en Amérique du Nord.....	2
<b>Figure 1.3</b> A) Galeries créés par l'alimentation des larves du charançon de la carotte. B) Dommages effectués par la première génération du ravageur (cicatrice d'une ancienne galerie qui s'est étirée avec la croissance de la racine) et deuxième génération (galeries récentes qui contiennent parfois des larves)....	3
<b>Figure 1.4</b> Cycle de vie du charançon de la carotte ( <i>Listronotus oregonensis</i> ), passant par la ponte, quatre stades larvaires, la pupaison et l'émergence des adultes.....	5
<b>Figure 1.5</b> Piège à appât de type Boivin pour dépister la présence de populations du charançon de la carotte .....	6
<b>Figure 2.1.</b> <i>Listronotus oregonensis</i> sampling locations across northeastern North America.....	19
<b>Figure 2.2.</b> Haplotype diversity of <i>Listronotus oregonensis</i> from A) three Canadian provinces and one state in USA (Ohio) and B) four host plants from Québec populations.....	27
<b>Figure 2.3 Ordination based analyses conducted on SNPs from 17 <i>Listronotus oregonensis</i> populations.</b> A) Principles component analysis (PCA) conducted in all localities: three Canadian provinces (Nova Scotia, Québec, Québec rearing colony and Ontario) and one state in United States (Ohio); B) PCA conducted on Québec populations only, without the rearing population; C) Discriminant analyses of principal components (DAPC) based on geographical regions and D) DAPC based on host plants in Québec populations.....	28
<b>Figure A2.1</b> Isolation by distance (IBD) tests for <i>L. oregonensis</i> with A) COI Fst and B) GBS Fst.....	34
<b>Figure A2.2</b> Correlation between Fst generated with GBS data and Fst from mitochondrial DNA (COI) haplotype analysis.....	35
<b>Figure 3.1</b> Olfactomètre passif en Y où le feuillage des plantes hôtes était inséré aux deux extrémités....	46
<b>Figure 3.2</b> Préférence en olfactomètre entre la plante hôte d'origine de <i>L. oregonensis</i> issu d'un champ de céleri-rave, les plantes alternatives (persil, céleri, carotte, témoin sans odeur) ainsi que l'absence de choix (aucun déplacement du charançon).....	48
<b>Figure 3.3</b> Tests de préférence en olfactomètre entre la plante hôte de <i>L. oregonensis</i> provenant d'un champ de céleri-rave et trois autres plantes hôtes.....	49



**Figure 3.4** Préférence en olfactomètre entre la plante hôte d'origine de *L. oregonensis* issu d'un champ de carotte, les plantes alternatives (persil, céleri, céleri-rave, témoin sans odeur) ainsi que l'absence de choix (aucun déplacement du charançon).....50

**Figure 3.5** Tests de préférence en olfactomètre entre la plante hôte de *L. oregonensis* provenant d'un champ de carotte et trois autres plantes hôtes.....50

**Figure 3.6** Préférence en olfactomètre entre la plante hôte d'origine de *L. oregonensis* issu d'un élevage, les plantes alternatives (persil, céleri, céleri-rave, racine de carotte, témoin sans odeur) ainsi que l'absence de choix (aucun déplacement du charançon).....51

**Figure 3.7** Tests de préférence en olfactomètre entre la plante hôte de *L. oregonensis* provenant d'une population d'élevage nourrie sur de la carotte et trois autres plantes hôtes ainsi que la racine de carotte...52

## Liste des abréviations, sigles et symboles

ADN	Acide désoxyribonucléique / desoxyribonucleic acid (DNA)
ADNmt	ADN mitochondrial COI / mitochondrial DNA COI
ANOVA	Test paramétrique d'analyse de variance / variance analysis parametric test
bp	Paire de base / pair base
COI	Cytochrome oxydase sous-unité I / cytochrome oxidase subunit I
D	Test de neutralité de Tajima / Tajima's neutrality test
<i>et al.</i>	Et les autres ou et collaborateurs / and others ( <i>Et alii</i> )
Fst	Indice de fixation / fixation index
Fs	Test de neutralité de Fu / Fu's neutrality test
GBS	Génotypage par séquençage / genotyping-by-sequencing
PCR	Réaction en chaîne des polymérase / polymerase chain reaction
SD	Écart-type / standard deviation
SE	Erreur standard / standard error
%	Pourcentage / percentage
°C	Degrés Celsius / degree Celsius
<i>p</i>	Probabilité / probability (p-value)
<i>H</i>	Diversité des haplotypes / haplotype diversity
<i>K</i>	Nombre d'haplotypes / number of haplotypes
<i>PS</i>	Nombre de sites polymorphique / number of polymorphic sites
$\pi$	Diversité des nucléotides / nucleotide diversity



(Crédit : AAC, Saint-Jean-sur-Richelieu, 2018 et modifié par Marianne Bessette)

### Citation

*«I like to define biology as the history of the earth and all its life: past, present and future».*

— Rachel Carson, 1961

## Remerciements

Cette recherche n'aurait pas été possible sans la contribution financière d'Agriculture et Agroalimentaire Canada, grâce à une subvention interne (J-001750) du Centre de recherche et développement de Saint-Jean-sur-Richelieu.

Tout d'abord, j'aimerais remercier ma directrice de recherche Annie-Ève Gagnon qui en cru en moi depuis le début et qui m'a fait confiance pour mener à bien cette recherche totalement nouvelle et pleine de défis sur la génétique des populations du charançon de la carotte. Sa disponibilité, son écoute, son humanité, son sourire et ses encouragements m'ont permis d'avancer avec confiance dans mon projet de maîtrise. Je me sens extrêmement privilégiée d'avoir été accompagnée par la chercheuse Annie-Ève Gagnon et mon co-directeur Jacques Brodeur. Vous êtes d'une efficacité désarmante qui nous pousse à donner le meilleur de nous-même. Votre expérience et votre professionnalisme m'ont donné des outils précieux pour la suite de mon parcours comme biologiste. J'aimerais aussi remercier les membres du laboratoire de Jacques Brodeur et tous les collaborateurs qui prenaient part à nos réunions pour leurs conseils, leurs encouragements et le partage de nouvelles connaissances.

Je suis aussi très reconnaissante de l'aide reçue par les techniciennes au laboratoire d'Annie-Ève Gagnon. Danielle Thibodeau s'est avérée une mine d'informations sur le charançon de la carotte dû à ses nombreuses années d'expériences sur le sujet. Son énergie débordante était motivante et contagieuse. Julie Frenette aux doigts de fée m'a aidée avec le démantèlement des charançons et m'a transmise son savoir sur l'élevage des insectes au laboratoire. Un grand merci à tous les étudiants qui m'ont aidé avec la manipulation des charançons et les travaux en biologie moléculaire. Beaucoup de bons moments resteront gravés dans ma mémoire comme les séances de mots croisés et nos discussions durant les poses. J'ai été choyée d'avoir une équipe de travail aussi formidable sur qui je pouvais compter.

Merci à tous les collaborateurs pour l'échantillonnage des insectes à travers l'Amérique du Nord, soit le Consortium PRISME (Anne-Marie Fortier), Suzanne Blatt d'Agriculture et Agroalimentaire Canada en Nouvelle-Écosse, Elizabeth Long de l'Université de l'État de l'Ohio et Zachariah Telfer de l'Université de Guelph en Ontario ainsi que les producteurs d'apiacées qui ont collaborés au projet.

Agriculture et Agroalimentaire Canada a été un endroit extraordinaire pour apprendre. Ce lieu multidisciplinaire m'a permis de rencontrer des scientifiques dont la porte était toujours ouverte pour un conseil, de l'aide ou une collaboration. D'ailleurs, j'ai eu la chance de travailler avec le chercheur

Benjamin Mimee, un excellent pédagogue, qui a permis au projet sur la génétique des populations de voir le jour. Sans l'aide de son équipe et plus particulièrement Pierre-Yves Véronneau, Dave T. Ste-Croix et le support de Joël Lafond-Lapalme en bio-informatique, l'analyse des données n'aurait pas été possible.

Les magnifiques photos du charançon de la carotte présentées dans ce mémoire ont été réalisées grâce au matériel du laboratoire de macrophotographie de l'UQÀM, *La Science en Images*, et le soutien technique de Mathieu Lemieux.

J'aimerais aussi remercier ma famille de m'avoir encouragé et soutenu durant toutes ces années d'études. Plus particulièrement, je tiens à remercier Marc-Olivier, mon amoureux des 14 dernières années, ainsi que nos trois enfants, Zakary, Azaé et Ézékiel pour leur patience et leur amour inconditionnel. Ils ont été mon équilibre dans cette belle aventure.

## Avant-propos

Ces dernières années, les producteurs de carottes ont témoigné d'une hausse des dommages attribuables au charançon de la carotte, et ce, même en augmentant le nombre de traitements insecticides foliaires. Étant donné que les mesures de lutte intégrée ne permettent plus de contrôler efficacement ce ravageur, la structure génétique des populations s'avère un outil intéressant afin d'obtenir de nouvelles connaissances et une meilleure compréhension de ce système biologique. Cette approche peut répondre à des questions relatives à la capacité de dispersion et l'utilisation des ressources dans l'aire de répartition d'une espèce, des éléments clés dans le maintien d'un ravageur dans son environnement.

Ce mémoire, divisé en quatre chapitres, commence par une introduction générale comportant une revue de littérature sur le charançon de la carotte, la structure génétique des populations, les méthodes de séquençage utilisées, l'incidence de la distance géographique et la plante hôte sur les populations d'insectes ainsi que les tests olfactifs pour déterminer les préférences face à différentes plantes hôtes. Le chapitre 2, sous forme d'article scientifique, montre les résultats obtenus sur la structure génétique des populations du charançon de la carotte en Amérique du Nord en fonction de la distance géographique et de la plante hôte. Le chapitre 3, écrit sous forme de note scientifique, présente des résultats préliminaires obtenus sur la préférence des charançons de la carotte face à leur plante hôte d'origine. Ce chapitre se veut un complément du premier article afin d'observer s'il y a une corrélation entre la signature génétique et le comportement des charançons face à leur plante hôte d'origine. Le dernier chapitre concerne la conclusion générale du mémoire.

L'ensemble de l'étude a été conçue en collaboration avec mes directeurs de recherche, M. Jacques Brodeur et Mme Annie-Ève Gagnon. Les expériences ont été menées par moi-même au laboratoire d'Annie-Ève Gagnon chez Agriculture et Agroalimentaire Canada à Saint-Jean-sur-Richelieu. Les analyses des données de séquençage et les statistiques ont été réalisées par le laboratoire de M. Benjamin Mimee chez Agriculture et Agroalimentaire Canada à Saint-Jean-sur-Richelieu, Mme Annie-Ève Gagnon et moi-même. J'ai participé à la collecte des charançons de la carotte en collaboration avec le consortium PRISME du Québec, Suzanne Blatt d'Agriculture et Agroalimentaire Canada en Nouvelle-Écosse, Elizabeth Long de l'Université de l'État de l'Ohio et Zachariah Telfer de l'Université de Guelph. Dans un premier temps, j'ai rédigé l'ensemble des sections que comporte ce mémoire. Par la suite, le mémoire a été révisé et complété par M. Jacques Brodeur et Mme Annie-Ève Gagnon.

## 1- Introduction générale

### Le charançon de la carotte

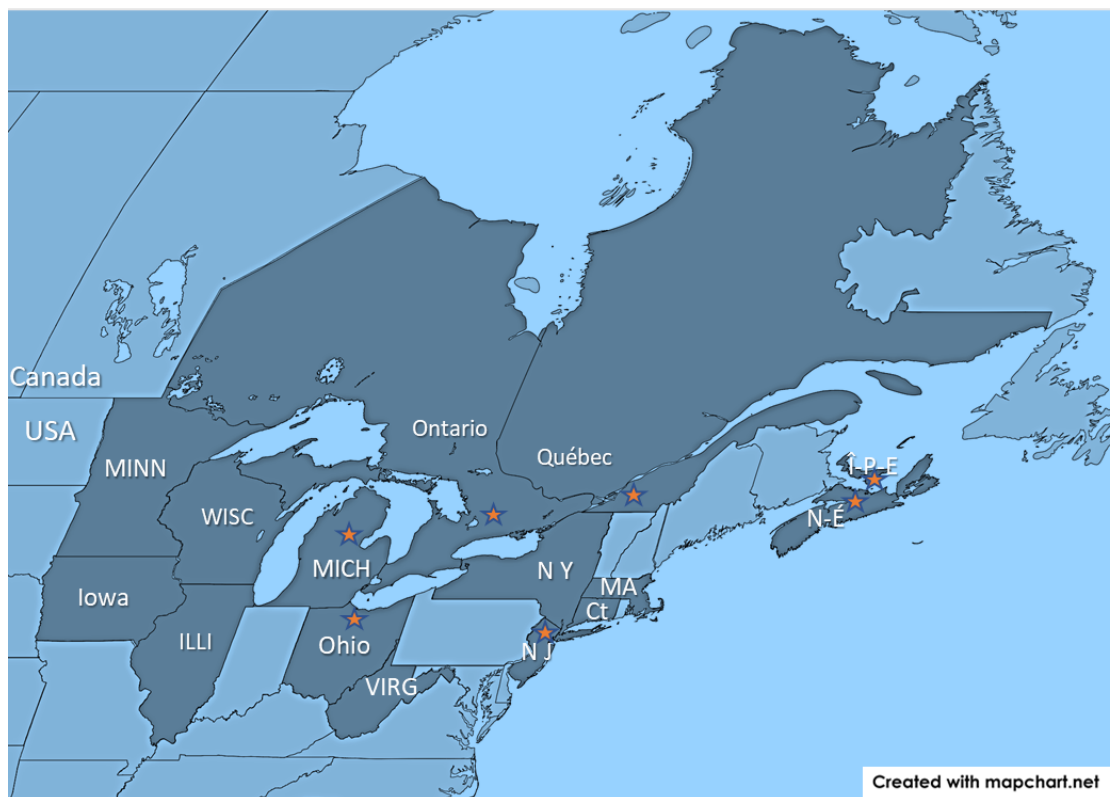
#### *Mise en contexte*

Le charançon de la carotte *Listronotus oregonensis* (Le Conte) est une espèce de coléoptère de la famille des curculionidés indigène de l'Amérique du Nord (Figure 1.1). Son aire de répartition couvre les provinces de l'Est telles que l'Île-du-Prince-Édouard, la Nouvelle-Écosse, le Québec et l'Ontario (Hooper *et al.*, 1996; Majka *et al.*, 2007) ainsi que dans plusieurs États aux États-Unis dont, l'Illinois, l'Iowa, l'Ohio, le Michigan, le New Jersey, le Massachusetts et New York (Harris, 1926; Pepper et Hagmann, 1938; Simonet et Davenport, 1981; Martel *et al.*, 1982) (Figure 1.2).



**Figure 1.1** Charançon de la carotte *Listronotus oregonensis* (Le Conte)

(Crédit: AAC, Saint-Jean-sur-Richelieu, 2018).



**Figure 1.2** Aire de répartition de *Listronotus oregonensis* en Amérique du Nord.

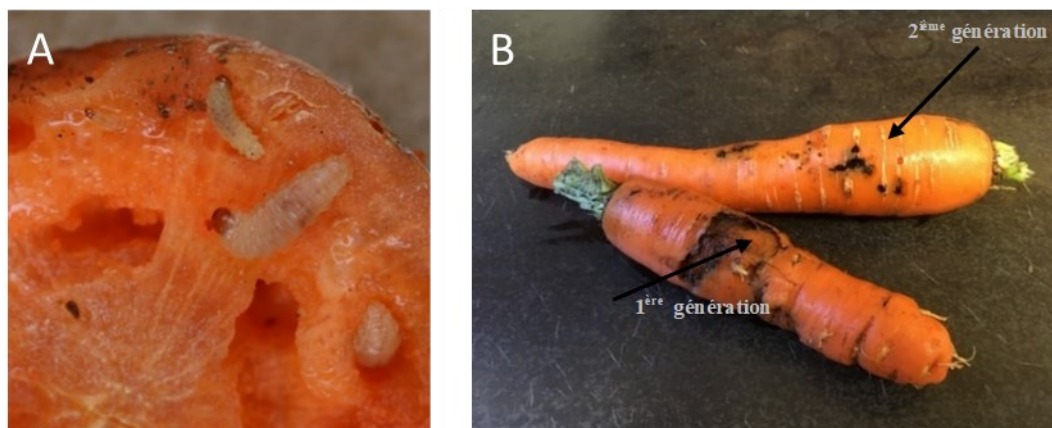
★ représente les endroits où le charançon de la carotte est un ravageur important

La première mention de cette espèce, alors nommée *Listronotus latiusculus* (Boheman), a été énoncée en Pennsylvanie en 1842 (Pepper et Haggmann, 1938). Puisque le charançon a été récolté pour la première fois sur la sagittaire *Sagittaria variabilis* W., il avait à l'époque le nom vernaculaire de charançon de la sagittaire *Sagittaria curculio* (Pepper et Haggmann, 1938). Au fil du temps, d'autres plantes sauvages sur lesquelles le charançon se développait ont été découvertes, telles que la carotte sauvage (*Daucus carota* L.), le plantain commun (*Plantago major* L.), le plantain à feuilles lancéolées (*Plantago lanceolata* L.), le panais sauvage (*Pastinaca sativa* L.) et plusieurs espèces de *Rumex* (ex. *Rumex patientia* L.) (Boyce, 1927; Pepper et Haggmann, 1938; Henderson, 1940; Pepper, 1942; Whitcomb, 1965; Ryser, 1975; Collins et Grafius, 1984; Boivin, 1994). Toutefois, l'augmentation au vingtième siècle des superficies de terres cultivées pour des apiacées ont probablement contribué à l'accroissement des populations du charançon de la carotte en Amérique du Nord. En 1902, aux États-Unis dans l'état de la Virginie, le charançon de la carotte a été signalé pour la première fois comme espèce ravageuse sur une culture de persil, *Petroselinum*



*crispum* L. (Chittenden, 1909). Depuis, des dommages associés à cette espèce ont été rapportés sur plusieurs autres plantes cultivées, telles que la carotte (*Daucus carota* subsp. *sativus*), le céleri (*Apium graveolens* L. var. *dulce*) et le céleri-rave (*Apium graveolens* L. var. *rapaceum*) (Boivin, 1999; Justus et Long 2019; RAP, 2019). Au Canada, le charançon de la carotte a été reconnu comme un important ravageur en 1969 en Ontario (Stevenson, 1976) et en 1970 au Québec (Perron, 1971). En Nouvelle-Écosse, c'est seulement en 1992 qu'il a été découvert dans des champs de carotte (LeBlanc et Boivin, 1993).

La culture des apiacées au Canada représente plus de 150 millions de dollars annuellement et les principales provinces productrices sont le Québec et l'Ontario (Statistique Canada, 2019). Aux États-Unis (Ohio, New Jersey, Michigan et New York), les cultures susceptibles au charançon de la carotte (carotte, céleri, persil) représentent une industrie de plus de 800 millions de dollars par année (USDA, 2019). Après la mouche de la carotte (*Psila rosae* F.) (Diptera : Psilidae), *L. oregonensis* s'avère le deuxième ravageur le plus important dans les cultures d'apiacées en Amérique du Nord (Simonet, 1981; Boivin, 1999). En l'absence d'interventions phytosanitaires, les dommages liés à ce ravageur peuvent atteindre entre 40 et 90 % de la récolte (Martel *et al.*, 1982). Les larves, en creusant des galeries dans les racines (Figure 1.3 A), rendent les légumes invendables (Boivin, 1994).



**Figure 1.3** A) Galeries créés par l'alimentation des larves du charançon de la carotte. B) Dommages effectués par la première génération du ravageur (cicatrice d'une ancienne galerie qui s'est étirée avec la croissance de la racine) et deuxième génération (galeries récentes qui contiennent parfois des larves) (Crédit : AAC).

## *Phénologie et biologie*

Chez le charançon de la carotte, on observe d'une à trois générations par année (Figure 1.4) selon la latitude (Boivin, 1999). Au Canada, une seule génération (population univoltine) par année s'observait jusqu'à la fin des années 90 (Boivin, 1999). Dans certains états américains dont l'Ohio (Simonet, 1981) et le Michigan (Grafius *et al.*, 1983), on observe une deuxième génération (population bivoltine) alors qu'une troisième génération (population trivoltine) s'observe en Iowa (Harris, 1926). Les températures élevées et la présence de plantes hôtes cultivées tôt en saison favorisent l'augmentation du nombre de générations en cours de saison (Boivin, 1999; Altermatt, 2010). Au Québec, un premier pic d'abondance du charançon de la carotte a lieu durant la mi-mai (Lamb et Boivin, 2017). Une deuxième génération (de plus faible abondance que la première génération, Figure 1.3 B) se présente vers la mi-août lorsque les conditions environnementales (photopériode et température) ne permettent pas d'induire la diapause reproductive (Lamb et Boivin, 2017). Les modèles climatiques actuels prédisent que la région de la Montérégie deviendra l'analogue climatique des États de l'Iowa, de l'Illinois, de l'Indiana, de l'Ohio et de la Pennsylvanie en 2041-2070 (Gagnon *et al.*, 2013), où les populations du charançon de la carotte sont actuellement multivoltines (Harris, 1926; Simonet, 1981). Le charançon de la carotte possède des ailes fonctionnelles mais ne vole que très rarement, seulement lors de conditions favorables caractérisées par des températures chaudes et venteuses (Boyce, 1927; Boivin, 1999). Les déplacements s'effectuent principalement en marchant (Boivin, 1999).

La figure 1.4 décrit le cycle de vie du charançon de la carotte. Les œufs de forme elliptique sont pondus dans une cavité créée par la femelle dans le pétiole ou la couronne de la plante et cette dernière bloque l'ouverture avec ses excréments (Martel *et al.*, 1976; Boivin, 1999). À l'éclosion, la larve commence à s'alimenter et se déplace du feuillage vers la racine où elle forme des galeries dans le premier tiers de la carotte (Boivin, 1999). Ces cavités peuvent atteindre de 5 à 8 mm de diamètre et plusieurs centimètres de long (Boivin, 1999). À la fin de son développement larvaire, le charançon de la carotte quitte la racine pour effectuer la nymphose dans le sol à 50-70 mm de profondeur et à environ 25 à 50 mm de la carotte (Martel *et al.*, 1976; Simonet et Davenport, 1981; Collins et Grafius, 1984). Le développement, de la ponte à l'adulte, dure environ 35 jours à 18°C et 22 jours à 27°C (Boivin, 1999).



**Figure 1.4** Cycle de vie du charançon de la carotte (*Listronotus oregonensis*), passant par la ponte, quatre stades larvaires, la pupaison et l'émergence des adultes.

Les adultes mesurent environ 6 mm de long et 2,2 mm de large (Martel *et al.*, 1976) et sont de couleur brun foncé et pâle aux reflets cuivrés. À l'automne, lorsque la température et la photopériode diminuent, les adultes entrent en diapause reproductive pour l'hiver, et ce, jusqu'au printemps (Grafius et Collins, 1986; Stevenson et Boivin, 1990). En milieu agricole, les charançons de la carotte peuvent se réfugier en bordure de champ (Boivin, 1999), dans les premiers 50 mm du sol ou dans les débris de surface des champs (Wright, 1953; Grafius et Collins, 1986).

## *Lutte intégrée*

Les recherches pour lutter contre le charançon de la carotte dans les années 1980 ont permis de développer des méthodes de dépistage et de contrôle des populations, telles que la mise au point d'un piège à appât de type Boivin (Figure 1.5) et d'un modèle phénologique basé sur l'accumulation de degrés-jours (Boivin, 1999). À cette époque, les dommages apparaissaient tôt en saison et il était possible de dépister efficacement les populations du charançon de la carotte en utilisant les pièges Boivin (Boivin, 1999). Cette méthode de détection précoce permettait d'éviter les dommages durant toute la saison de culture en ciblant des interventions phytosanitaires en début de saison. Toutefois, avec les températures plus chaudes des dernières années, le développement d'une seconde génération du charançon de la carotte s'observe maintenant autour de la mi-août (D. Thibodeau, comm. pers.). Cette situation complique la détection de mi-saison qui amorcerait de la ponte au champ puisque la présence d'un feuillage dense de plants de carotte crée de la compétition avec les pièges Boivin. Par ailleurs, les traitements insecticides effectués en milieu de saison sont souvent moins efficaces puisque le produit parvient difficilement à atteindre le charançon à la base des plants qui sont beaucoup plus fournis qu'en début de saison. Cette problématique engendre une hausse des dommages liés à ce ravageur plus tard en saison (RCRE, 2004; OMAFRA, 2017), pouvant aller à plus de 15% dans certains champs du Québec, et ce, même en augmentant le nombre de traitements insecticides (A.-M. Fortier, comm. pers.). Or, les producteurs ont un seuil de tolérance d'au plus 5% de pertes à la récolte (Collins et Grafius, 1984; Bélair et Boivin, 1995; Justus et Long, 2019). Pour le moment, la rotation des cultures s'avère le moyen le plus efficace pour réduire les populations du charançon de la carotte (Chaput, 1993; RAP, 2007). Cependant, lorsqu'une région cultive de façon intensive plusieurs espèces d'apiacée, cette mesure devient difficile à mettre en place (Boivin, 1994).



**Figure 1.5** Piège à appât de type Boivin pour dépister la présence de populations du charançon de la carotte (Crédit: AAC).

L'utilisation des insecticides foliaires fait partie des méthodes de lutte prédominantes dans le contrôle du charançon de la carotte (Justus et Long, 2019). Plusieurs produits sont recommandés au Canada dont deux de la famille des organophosphorés, cinq de la famille des pyréthroïdes et deux de la famille des benzoylurées (SAGE pesticides, 2021). Par ailleurs, on observe une diminution de leur efficacité probablement causée par une augmentation de la tolérance (AAC, 2017; OMAFRA, 2017, Telfer *et al.*, 2018). Une étude de Telfer *et al.* (2018) a démontré que seuls la clothianidine (néonicotinoïde) et le phosmet (organophosphoré) induisaient un taux de mortalité de plus de 50% des adultes du charançon de la carotte exposés. Cependant, ce taux de mortalité a été observé uniquement en quadruplant les doses recommandées par le fabricant (Telfer *et al.*, 2018).

La lutte biologique a aussi été envisagée pour contrer ce ravageur. Par exemple, plusieurs parasitoïdes d'œufs ont été répertoriés comme ennemis naturels du charançon de la carotte, tels que *Anaphes listronoti* Huber, *A. cotei* Huber et *A. victus* Huber (Hymenoptera : Mymaridae) (Huber *et al.*, 1997), qui peuvent causer un taux de mortalité d'environ 50 % dans les populations du Québec et du Michigan (Boivin, 1986; Collins et Grafius, 1986). Cependant, l'utilisation intensive d'insecticides foliaires diminue l'efficacité de ces agents de lutte biologique (Lemay *et al.*, 2018). Les nématodes entomopathogènes comme *Steinernema carpocapsae* Weiser (Nematoda : Steinernematidae) ont démontré un avenir prometteur comme agents de lutte contre le charançon de la carotte pouvant causer un haut taux de mortalité allant jusqu'à 82 % après 2 heures de contact en continu (Boivin, 1999; Blatt *et al.*, 2021). Récemment, Zeng *et al.* (2007) ont découvert un nématode castrateur, *Bradynema listronoti* Zeng (Nematoda : Allantonematidae) des femelles du charançon de la carotte (Gagnon *et al.*, 2019). Cependant, ces méthodes n'ont pas encore été éprouvées chez les producteurs. (Boivin, 1994).

Finalement, très peu d'outils sont disponibles pour lutter contre ce ravageur et il est impératif de mieux comprendre les raisons de l'augmentation des dommages liés au charançon de la carotte afin d'améliorer l'efficacité du programme de lutte intégrée (A.-M. Fortier, comm. pers.; Justus et Long, 2019).

## Biologie moléculaire et séquençage

Depuis les années 1970, une révolution est survenue dans le domaine du séquençage de l'ADN permettant ainsi de réduire le temps d'exécution et les coûts d'opération (Karp, 2010; Andrews *et al.*, 2016). Maintenant, des infrastructures centralisées effectuent le séquençage à l'aide de procédés permettant de traiter et d'analyser des centaines, voire des milliers d'échantillons par jour (Andrews *et al.*, 2016). Alors qu'auparavant les études se limitaient au séquençage de courtes régions de gènes (tel que les gènes mitochondriaux), il est maintenant possible d'étendre le séquençage sur des régions beaucoup plus grandes.

Le génome mitochondrial chez les animaux, contrairement au génome nucléaire, s'expose de façon limitée à la recombinaison génétique dû au manque d'introns et au mode d'héritabilité haploïde (Saccone *et al.*, 1999). Les gènes mitochondriaux, grandement conservés, permettent d'obtenir des segments spécifiques du génome mitochondrial d'une espèce et de l'identifier (Folmer *et al.*, 1994; Simmons et Weller, 2001). De plus, la section du gène mitochondrial cytochrome oxydase sous-unité I (COI) comporte deux avantages importants : les amorces universelles pour cette partie du gène sont robustes et permettent une plus grande couverture phylogénétique que les autres gènes mitochondriaux (Hebert *et al.*, 2003). Par ailleurs, les nucléotides situés à la troisième position du codon ayant des substitutions de bases peuvent mener à un taux d'évolution moléculaire trois fois plus grand que l'ADNr 12S ou 16S (Knowlton et Weigt, 1998). Le gène COI permet de remonter plus loin dans l'histoire de vie d'une espèce (Hebert *et al.*, 2003). La taille effective des populations étant plus petite avec l'ADNmt que l'ADN nucléaire, due à sa nature uniquement maternelle (Roderick, 1996), fait en sorte que l'ADNmt s'avère davantage sensible à l'effet fondateur (DeSalle et Giddings, 1986; Birky *et al.*, 1989; Avise, 1991). Également, une faible migration s'avère suffisante pour fixer des allèles parmi l'ensemble des populations (Takahata et Slatkin, 1984). Cependant, l'habileté relative des mâles et des femelles d'une même espèce à migrer et coloniser différents lieux peut différer chez les insectes (Denno *et al.*, 1991; Roderick et Caldwell, 1992) et pourrait contribuer à dresser un portrait erroné de la structure génétique d'une espèce (Roderick, 1996). L'étude de l'ADNmt en combinaison avec l'ADN nucléaire permet de considérer les deux sexes, de dresser un meilleur portrait de la diversité génétique des populations et ainsi éviter des erreurs d'interprétation (Birky *et al.*, 1989; Slatkin et Maddison, 1989). Par exemple, l'étude de Picq *et al.* (2017) sur la spongieuse *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera : Erebidæ) a révélé qu'il pouvait y avoir une surestimation d'un marqueur spécifique à une population asiatique en observant les haplotypes de l'ADN mitochondrial. Toutefois, l'utilisation de

la méthode du génotypage-par-séquençage a permis d'éviter les faux positifs et par le fait même, d'éviter des situations où l'entrée de navires au Canada ou aux États-Unis était refusée sous prétexte qu'il avait présence de la spongieuse asiatique (Picq *et al.*, 2017).

Le génotypage par séquençage (GBS), une technique simple et hautement multiplexée élaborée par Elshire *et al.* (2011), permet d'étudier la structure génétique des populations, le mode de reproduction et la phylogénie des traits de divers organismes. Ce type de séquençage de nouvelle génération utilise des sous-groupes génomiques ciblés par des enzymes de restrictions (Elshire *et al.*, 2011). Ainsi, les manipulations au laboratoire deviennent plus faciles, rapides, spécifiques et hautement reproductible (Elshire *et al.*, 2011). Cette technologie permet aussi d'établir des relations phylogénétiques avec des espèces similaires sans avoir recours à des génomes de références (Wagner *et al.*, 2013) et en observant les polymorphismes de nucléotides individuels ou SNPs (*single-nucleotide polymorphism*), des mutations situées dans l'ADN et très répandues dans le génome de plusieurs espèces (Morin *et al.*, 2004). Suite au génotypage de séquences d'ADN d'une espèce, les SNPs sont utilisés comme marqueurs moléculaires et permettent de révéler l'histoire de vie d'une population, les événements de spéciation et leur aire de répartition (Brumfield *et al.*, 2003). Ces marqueurs permettent d'étudier la phylogéographie des espèces en se basant sur la théorie de la coalescence qui identifie les événements où deux gènes dérivent d'un ancêtre commun (Roderick, 1996; Brumfield *et al.*, 2003). En plus d'avoir une grande couverture du génome, ils se retrouvent dans les régions codantes et non-codantes de celui-ci (Morin *et al.*, 2004). La fréquence des mutations des SNPs ( $10^{-8}$ - $10^{-9}$ ) varie moins que celle des microsatellites ( $10^{-4}$ ), ce qui permet de déterminer plus directement la diversité génomique et la biogéographie d'une espèce (Brumfield *et al.*, 2003). Puisque les SNPs ont la même échelle mutationnelle que l'ADNmt, une comparaison inter-génomique s'effectue facilement au sein d'une même étude (Brumfield *et al.*, 2003) et permet d'avoir une compréhension plus globale de la structure génétique d'une population (Xia *et al.*, 2018). Une étude sur la légionnaire bertha, *Mamestra configurata* Walker (Lepidoptere : Noctuidae) combinant les deux approches a permis de révéler l'origine de l'épidémie dans l'ouest de l'Amérique du Nord à l'aide de l'ADNmt COI, alors que l'ADNr (SNPs) a confirmé une absence de structure génétique entre les régions échantillonnées due à une grande capacité de dispersion de l'insecte (Erlandson *et al.*, 2019).

## Structure génétique des populations

Les études sur la structure génétique d'une population nous aident à répondre à des questions relatives à l'adaptation locale (Becquet et Przeworski, 2007), la recombinaison génétique (Butlin, 2005), l'origine géographique d'une espèce (Guillot *et al.*, 2015) et les routes d'invasion (Dieni *et al.*, 2016; Petkova *et al.*, 2016). La plupart du temps, les populations sont distribuées de façons irrégulières due à plusieurs facteurs, tels que la topographie, le type de sol et la présence ou l'absence de ressources (Erickson, 1945; Komdeur, 1992). Ces facteurs façonneront la structure génétique d'une espèce en modifiant le flux génétique entre les populations (Petkova *et al.*, 2016). La taille d'une population influence aussi la structure génétique d'une espèce (Conner et Hartl, 2004). Les populations de grandes tailles ayant un flux génétique important sont moins susceptibles à la dérive génétique (fixation aléatoire d'allèles et différenciation génétique entre sous-populations) et à la dépression consanguine (fixation d'allèles récessifs) (Conner et Hartl, 2004). Cependant, la dérive génétique peut aussi entraîner des effets positifs comme la purge d'allèles délétères (Crnokrak et Barrett, 2002).

Les variations phénotypiques permettant aux espèces de s'adapter rapidement aux changements environnementaux (Beaman *et al.*, 2016) sont communes chez les insectes (Hoffmann et Sgrò, 2011; Hoffmann, 2017) comme les modifications dans la phénologie, telles que le voltinisme et le temps de développement (Van Asch *et al.*, 2013; Hoffmann et Ross, 2018). Par l'expression de différents phénotypes, le génome peut intégrer les changements environnementaux par l'entremise de signaux externes sans changer la séquence d'ADN (Waterland et Jirtle, 2002; Massicotte *et al.*, 2011). Toutefois, une fixation allélique peut survenir lorsque l'environnement se stabilise ou favorise un phénotype en particulier. C'est ce qu'on appelle l'assimilation induite par une augmentation de la méthylation sur ce phénotype et par le fait même, une augmentation du taux de mutation (Thompson, 1998). Plus spécifiquement, par un processus de sélection naturelle, l'assimilation génétique amène un caractère facultatif à se fixer dans le génome ne nécessitant plus de stimulus pour se manifester (Pigliucci *et al.*, 2006). Ce caractère, de par son héritabilité, tend à augmenter au fil des générations (Thompson, 1998). Chez plusieurs insectes, lorsque l'aire de répartition d'une espèce se caractérise par des environnements très différents (paysage, cultures, etc.), ces conditions favorisent l'évolution d'adaptations locales (Kawecki et Ebert, 2004; Hereford, 2009), et ce, surtout en présence de différents régimes de températures (Hoffmann *et al.*, 2002; Aardema *et al.*, 2011). Par exemple, chez la piéride du navet, *Pieris napi* L. (Lepidoptera : Pieridae), la durée de la diapause augmente en fonction d'un gradient latitudinal



(Posledovich *et al.*, 2015) et des adaptations locales peuvent s'observer par une différenciation génétique entre les populations (Pruisscher *et al.*, 2021). Les différenciations spatiales liées à la diapause reproductive ont aussi été détectées chez la drosophile *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera : Drosophilidae) ayant des fréquences alléliques distinctes à travers son aire de répartition (Sezgin *et al.*, 2004).

D'autre part, une forte pression de sélection peut amener des différenciations génétiques. Par exemple, Silverman et Bieman (1993) ont remarqué un changement de comportement chez la blatte germanique, *Blattella germanica* L. (Orthopteroidea : Blattodea) au fil des années. Le contrôle de cet insecte dans les années 1980 s'effectuait à l'aide de pièges qui combinaient un insecticide ainsi que du glucose comme attractif alimentaire. Au fil du temps, due à une forte pression de sélection sur cette espèce, un nouveau comportement adaptatif et héritable est apparu, soit une aversion pour le glucose transmise génétiquement à leurs progénitures. Cette aversion pour le glucose est le résultat de mutations qui affectent les neurones impliqués dans les récepteurs gustatifs et qui a amené une préférence pour le goût amer (Wada-Katsumata *et al.*, 2013). Bref, cette mutation a rendu inefficace le piège-appât contre cet insecte nuisible (Silverman et Bieman, 1993).

### *Distance géographique*

La distance géographique (Wright, 1943; Peterson et Denno, 1998), la capacité de dispersion (Waples, 1987; Renault, 2020) et la fragmentation de l'habitat (King, 1987; Roderick, 1996) sont des facteurs qui vont fortement influencer la migration des gènes à travers l'aire de répartition d'une espèce (Peterson et Denno, 1998). Traditionnellement, les méthodes de terrain comme le marquage et la recapture permettaient d'évaluer la capacité de dispersion d'une espèce, mais elles s'avèrent plus difficile à mettre en pratique chez des organismes plus petits comme les insectes (James *et al.*, 2015). Maintenant, la structure génétique des populations permet d'estimer plus précisément la fréquence et l'intensité de dispersion d'une espèce à travers son aire de répartition (Broquet et Petit, 2009).

Le modèle d'isolement par la distance (IBD) explique les variations génétiques liées aux composantes géographiques et environnementales (Bohonak, 2002; Meirmans, 2012) en utilisant des indices de différenciation génétique tels que le  $F_{ST}$  (Slatkin, 1981). Le  $F_{ST}$  permet d'observer la différenciation allélique dans une population à partir du polymorphisme génétique (Meirmans et Hedrick,

2011). Une valeur entre 0 et 1, où 0 indique aucune différence entre les populations et 1 représente la fixation des allèles dans une population (Meirmans et Hedrick, 2011) permet d'évaluer la fréquence de l'hétérozygotie des allèles (Conner et Hartl, 2004). La capacité de dispersion d'une espèce peut également être influencée par des facteurs tels que la disponibilité des ressources, la reproduction, le climat, la photopériode et le paysage (Renner et Zohner, 2018; Grez et Villagran, 2000). La réduction du flux génétique entre les populations due à l'isolement géographique est souvent associée à une faible capacité de dispersion chez les insectes induisant ainsi des différenciations génétiques (Peterson et Denno, 1998), tandis qu'une homogénéisation de la signature génétique entre les populations suggère une grande migration des individus à travers leur aire de répartition (Erlandson *et al.*, 2019). Dans certains cas, un organisme peut s'adapter lorsqu'il fait face à des conditions environnementales différentes (Kawecki et Ebert, 2004) comme l'arpenreuse de la pruche *Lambdina fiscellaria fiscellaria* Guénée (Lepidoptera : Geometridae), où l'on observe une variation dans le nombre de stades larvaires à travers son aire de distribution (Hébert *et al.*, 2006), suggérant l'existence de biotypes géographiques (Drès et Mallet, 2002).

La dispersion peut aussi être affectée par la densité des populations (ex. compétition et disponibilité des ressources et augmentation de la prédation) (Poethke *et al.*, 2010). Ce phénomène a été découvert chez plusieurs espèces d'aphididés comme le puceron noir de la fève, *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera : Aphididae), où le nombre de descendants ailés augmente lorsque la densité de la population s'intensifie (Shaw, 1970; Harrison, 1980). Également, la capacité de dispersion de la tordeuse des bourgeons de l'épinette *Choristoneura fumiferana* Clemens (Lepidoptera : Tortricidae) dépend de plusieurs facteurs, tels que les conditions atmosphériques (Sturtevant *et al.*, 2013), la densité de la population locale (Royama, 1984) et le niveau de défoliation des arbres hôtes (Régnière et Nealis, 2007). Cet insecte ravageur défoliateur du sapin baumier (*Abies balsamea* L. Miller) et de plusieurs espèces d'épinettes (*Picea* spp.) des forêts boréales en Amérique du Nord (Royama, 1984) peut se disperser facilement, et ce, sur de longues distances (entre 20 et 450 km) (Greenbank *et al.*, 1980). L'utilisation de la biologie moléculaire a permis de comprendre la façon dont les populations sont structurées (résidents vs migrants) et le rôle de la dispersion dans la synchronisation spatiale (James *et al.*, 2015). De plus, le moment de la collecte des données (ex. pics d'abondances), de l'emplacement et de la dispersion étaient pris en compte afin de caractériser plus finement la dynamique des populations de la tordeuse des bourgeons de l'épinette (James *et al.*, 2015).

## Plante hôte

Chez certains insectes herbivores et sessiles, la plante hôte devient un agent de spéciation (Edmunds et Alstad, 1978; Unruh et Luck, 1987; Cobb et Whitham, 1993; Hanks et Denno, 1994). Lorsque des insectes se spécialisent sur une plante hôte, ils deviennent génétiquement isolés (Martel *et al.*, 2003; Machado *et al.*, 2008) et prédisposés à l'isolement reproducteur (Drès et Mallet, 2002). Donc, la réduction du flux génétique deviendra un prérequis aux adaptations locales (Kawecki et Ebert, 2004). La plasticité phénotypique est un avantage pour les espèces mais lorsque celles-ci font face à des contraintes qui perdurent dans leur environnement, une spéciation ou une adaptation peut survenir au fil du temps (Van Tienderen, 1997). Par exemple, la mouche de la pomme *Rhagoletis pomonella* Walsh (Diptera : Tephritidae) a développé une préférence pour le pommier domestique (*Malus pumila* Miller), alors que cette espèce s'alimentait historiquement sur l'aubépine duveteuse ancestrale (*Crataegus mollis* Torrey et Gray). Cette situation a mené vers des races d'hôtes au sein des populations (Bush, 1969 ; Feder *et al.*, 2003).

De plus, il a été démontré que les habitudes alimentaires au stade larvaire de certains insectes peuvent influencer la sélection de la plante hôte une fois rendus adultes (Petit *et al.*, 2015). Selon le principe de sélection de l'hôte de Hopkins, une mémoire du substrat d'alimentation de la larve peut être transférée chez l'adulte lors de la métamorphose (Hopkins, 1916). Par exemple, une population de papillons polyphages *Sesamia nonagrioides* Lefebvre (Lepidoptera : Noctuidae) exposée à une nouvelle diète enrichie de vanilline durant deux générations a dorénavant une préférence envers ce signal olfactif (Petit *et al.*, 2015). Cependant, malgré qu'un insecte ait développé une préférence envers une plante hôte, une femelle pourrait pondre ses œufs sur une plante hôte alternative afin d'assurer la survie de l'espèce lorsque son environnement se modifie (Zhang *et al.*, 2007 ; Anderson et Anton, 2014). D'ailleurs, une variabilité envers le choix de la plante hôte peut aussi différer entre les individus d'une même espèce (Knolhoff et Heckel, 2014).

Parfois, l'effet de la plante hôte sur les structures génétiques n'est pas un facteur prépondérant entre les populations. Par exemple, l'étude sur la chenille d'automne *Hyphantria cunea* Drury (Lepidoptera : Erebidae) de Vidal *et al.* (2019) a démontré que même si la distance géographique et la plante hôte étaient des facteurs significatifs de différenciation génétique, la distance géographique représentait jusqu'à trois fois plus la variation génétique que la plante hôte. Dans certains cas, comme chez la tordeuse orientale du pêcher, *Grapholita molesta* Busck (Lepidoptera : Tortricidae), la distance

géographique s'avère être le facteur principal de différenciation génétique entre les populations, et ce, même si elles proviennent de plantes hôtes différentes (Silva-Brandão *et al.*, 2015).

## Préférences olfactives

La détection d'une plante hôte potentielle peut être déclenchée par des signaux visuels (ex. la couleur et la taille) et olfactifs (Knolhoff et Heckel, 2014). Chez les insectes, le sens olfactif joue un rôle important dans leurs comportements afin de localiser la nourriture, les partenaires sexuels et les sites d'ovipositions (Hoffman et Parsons, 1984). De plus, la plasticité olfactive a permis aux insectes de s'adapter dans un environnement en constante évolution (Gadenne *et al.*, 2016). L'olfactomètre en Y est largement utilisé afin d'évaluer le choix d'un insecte en fonction de deux composés volatils en milieu contrôlé (Bruce et Pickett, 2011 ; Knolhoff et Heckel, 2014). Une période de temps est allouée afin de déterminer la présence ou l'absence de choix ainsi que le moment de la journée et/ou de l'année qui favoriserait ou non le choix l'attractif (Geier et Boechh, 1999 ; Abuzid *et al.*, 2014 ; Park *et al.*, 2019). Par exemple, le charançon noir de la vigne *Otiorhynchus sultacus* F. (Coleoptera : Curculionidae) s'avère plus actif de deux à trois heures après le coucher du soleil (Van Tol *et al.*, 2002). Ce genre d'étude permet d'observer l'apparition de changements d'hôtes au sein d'une même espèce (Linn *et al.*, 2003), le niveau d'attractivité de certains composés volatils (ex. plantes, huiles essentielles, phéromones) qui pourraient être utilisés comme pièges-appâts (Szendrei *et al.*, 2011 ; Dacey, 2020) ou la sélection d'odeurs répulsives comme moyen de lutte intégrée (Maia et Moore, 2011). Par exemple, des tests en olfactomètre ont démontré que le charançon de la graine du chou *Ceutorhynchus assimilis* Paykull (Coleoptera : Curculionidae), un ravageur dans la culture du canola (*Brassica napus* L.), était davantage attiré par les fleurs du navet (*Brassica rapa* L.) que du canola (Cook *et al.*, 2006). Cette découverte a permis d'utiliser cette plante hôte comme culture piège afin de lutter contre le charançon de la graine du chou. Puisque le navet fleurit plus tôt que le canola, ce ravageur peut être maintenu sur le navet au-delà du stade de croissance susceptible aux dommages (Cook *et al.*, 2006).

## Objectifs de l'étude

Dans le but de gérer efficacement les populations du charançon de la carotte, l'utilisation de la biologie moléculaire permettra d'approfondir nos connaissances sur ce ravageur afin d'améliorer le programme de lutte intégrée. Par exemple, les connaissances sur le flux génétique entre les populations permettront d'anticiper la dispersion de l'espèce à travers son aire de répartition et la transmission d'allèles conférant un avantage adaptatif, tel que la résistance aux insecticides (Arias *et al.*, 2019). En outre, le maintien d'une grande diversité génétique entre les populations pourrait les rendre plus résilients à leur environnement (ex. la purge d'allèles délétères) (Crow et Kimura, 1970). D'autre part, il sera possible d'identifier les différenciations génétiques en fonction d'une plante hôte (Forbes *et al.*, 2017) ou d'une phénologie différente (Biron *et al.*, 2002) permettant de mieux cibler les interventions phytosanitaires (cultures et périodes de l'année spécifiques).

Cette étude vise à déterminer 1) si la distance géographique influence le niveau de différenciation génétique entre les populations du charançon de la carotte en Amérique du Nord, 2) si la plante hôte (carotte, persil, céleri ou céleri-rave) influence la structure génétique des populations du charançon de la carotte au Québec et 3) si les populations du charançon de la carotte développent des préférences olfactives envers la plante hôte sur laquelle plusieurs générations d'une même population s'y sont développées. En raison de la faible capacité de dispersion de l'espèce, notre hypothèse de départ s'attend à ce que la structure génétique des populations du charançon de la carotte en Amérique du Nord s'avère grandement différenciée en fonction de la distance géographique. De plus, sachant que la plante hôte peut s'avérer un agent de spéciation chez les insectes, la deuxième hypothèse soutient que la plante hôte (persil, carotte, céleri ou céleri-rave) puisse influencer la structure génétique des populations du charançon de la carotte. Par le fait même, lorsque plusieurs générations d'une même population se seront développées sur une plante hôte spécifique, les femelles du charançon de la carotte développeront une préférence olfactive envers celle-ci.

## 2. Genetic population structure of the carrot weevil (*Listronotus oregonensis*) in North America

Marianne Bessette<sup>1,2</sup>, Jacques Brodeur<sup>2</sup>, Benjamin Mimee<sup>1</sup>, Annie-Ève Gagnon<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Saint-Jean-sur-Richelieu Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada

<sup>2</sup> Institut de recherche en biologie végétale, Département de sciences biologiques, Université de Montréal

### Abstract

The carrot weevil *Listronotus oregonensis* is a major pest of several apiaceous crops in North America. Following an increase in crop damages in recent years, understanding the genetic structure of *L. oregonensis* has become an essential step to better manage pest populations. This study focuses on geographic distance and host plant selection as potential determinants of genetic differentiation. To facilitate genetic studies on this species, we assembled the first whole genome sequence for *L. oregonensis*, a resource that will be very useful to the research community. Then, we used both haplotype discrimination with mitochondrial DNA (mtDNA) and genome scan using a genotyping-by-sequencing approach (GBS) to characterize the genetic population structure. A total of 220 individuals were sampled from 17 localities in the provinces of Quebec, Ontario, Nova Scotia (Canada) and the state of Ohio (USA). Our results showed significant genetic differences between distant populations across North America, indicating that geographic distance represents a significant factor of differentiation for the carrot weevil. Furthermore, the GBS analysis revealed more different clusters than COI analyses between Quebec and Nova Scotia populations, suggesting a recent differentiation in the latter province. In contrast, we found no evidence of population structure associated to the four cultivated apiaceous plants tested (carrot, parsley, celery and celeriac) using populations from Quebec. This first characterization of the genetic structure of the carrot weevil contributes to a better understanding of the gene flow of the species and will help to adapt local pest management measures to better control this agricultural pest.

**Key words:** genetic structure, carrot weevil, geographic distance, apiaceous host plants, mtDNA COI, genotyping-by-sequencing

## Introduction

Agronomic practices such as crop selection, tillage or pesticide applications cause strong ecological disturbances on insect pest populations (Brust and King, 1994; Wezel, 2014). These conditions favor the selection of adapted individuals that may eventually lead to failure of pest management strategies (Gould, 1991; Corrêa *et al.*, 2019). In agroecosystems, natural selection may act locally and generate different patterns of geographic variation in life history traits of herbivorous insects including developmental rate, phenology (Renner and Zohner, 2018), host plant specificity (Jiggins and Bridle, 2004), insecticide resistance (Ffrench-Constant *et al.*, 2000), or dispersal capacity (Mazzi and Dorn, 2012). Knowledge of the genetic structure of insect pest populations can thus contribute to the design and implementation of locally, better adapted pest management strategies (Rollins *et al.*, 2006; Anderson *et al.*, 2016).

Genetic variations within and among populations result from a number of evolutionary drivers: mutation, gene flow, genetic drift and selection (Coyne, 1992; Pinho and Hey, 2010). For herbivorous insects, their capacity to disperse and colonize new habitats is a major determinant leading to divergent genetic population structure (Mazzi and Dorn, 2012). Efficient dispersal capacity facilitates gene flow between regions, thereby reducing genetic structuring (Roderick, 1996; Bohonak, 1999; Broquet and Petit, 2009; Kim and Sappington, 2013). In contrast, the genetic diversity of species having poor dispersal capacity is often limited to the diversity associated with a single or a few events of colonization (bottleneck and founder effects) and further reduced following strong genetic drift. Such a pattern can result in significant population structuring (Slatkin, 1987; Hanks and Denno, 1994). Abiotic factors such as climate and landscape also affect the dispersal capacity of insects and trigger isolation (Grez and Villagran, 2000). Although geographic distance represents one of the most important factors in genetic differentiation of populations, host suitability and availability can also lead to host-associated genetic differentiation (Antwi *et al.*, 2015; Angelella *et al.*, 2019; Hood *et al.*, 2020). This evolutionary pathway constitute a continuum of differentiation that can generate genetic changes across populations leading to reproductive isolation, leading to sympatric speciation (Drès and Mallet, 2002, Forbes *et al.*, 2017). The host plant can act as the main determinant of population differentiation alone (Groman and Pellmyr, 2000; Silva-Brandão *et al.*, 2018) or in combination with geographic isolation (Agosta, 2006). From an applied perspective, pest species having distinct genotypes associated to different host plants or cultivars may differ in their vulnerability to pest control methods (Shufran *et al.*, 2000; Martel *et al.*, 2003; Machado *et al.*, 2008).

Native to North America, the carrot weevil, *Listronotus oregonensis* (Le Conte), is mainly distributed in the Great Lakes region (Justus and Long, 2019). This pest attacks Apiaceae, notably carrot (*Daucus carota* L. subsp. *sativus*), parsley (*Petroselinum crispum* L.) and celery (*Apium graveolens* L.) (Chandler, 1926). Distribution across its range is very fragmented and appears to follow the regions where its host plants are cultivated. The carrot weevil performs one to three generations per year depending on the latitude (Boivin, 1999), but climate warming tends to increase the voltinism in some regions (Boivin, 2013; Telfer *et al.*, 2018). Adults have a low dispersal capacity, moving mainly by walking despite being winged (Wright and Decker, 1957). Females lay their eggs on petioles and larvae typically burrow into roots. Significant damage can be observed, reaching up to 90% in the absence of control strategies (Boivin, 1999). Carrot weevil management is mainly based on insecticide applications and crop rotations (Boivin, 1999; Justus and Long, 2019). However, the level of damage associated with the carrot weevil appears to have increased recently across North America, suggesting a change in pest phenology or local adaptation of populations that could disrupt pest control interventions (Telfer *et al.*, 2018).

The main objective of this study was to investigate the genetic structure of *L. oregonensis* populations across its range in North America. More specifically, we focused on the role of geographic distance and host plant selection in the genetic differentiation among populations. We predict that carrot weevil populations are genetically differentiated by geographic distance and local host plant availability. Two complementary approaches were used to characterize genetic population structures: haplotype discrimination with mitochondrial DNA (mtDNA) and genome scan using a genotyping-by-sequencing approach (GBS).

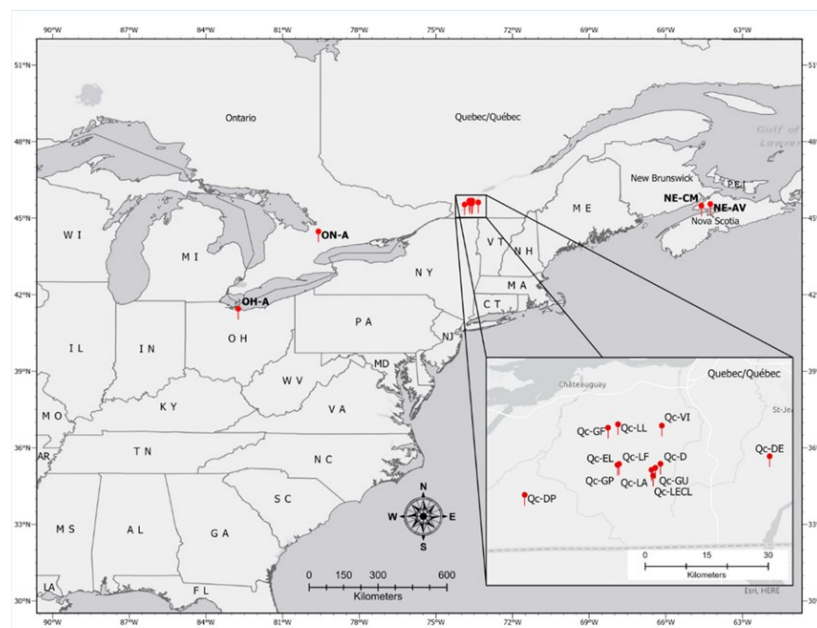
## **Materials and methods**

### *Insect sampling*

In 2018 and 2019, carrot weevil adults were collected across eastern Canada and in Ohio, USA (Figure 2.1) four crops of the apiaceous family: carrot (*Daucus carota* L. var. *sativus*), celery (*Apium graveolens* L. var. *dulce*), parsley (*Petroselinum crispum* L.) and celeriac (*Apium graveolens* L. var. *rapaceum*), using carrot-bait traps (Boivin, 1985) placed at the edge of commercial fields. This sampling technique is recommended for all apiaceae crops, whether growing carrot, celery or parsley (Boivin 1985; Justus and Long, 2019). Sampling sites were chosen according to (i) their geographic location across the range of the carrot weevil, (ii) their history of infestation by *L. oregonensis* and (iii) species of host plant (Table 2.1).



In the province of Quebec, a finer geographic scale analysis was carried out focusing sampling efforts on weevils from various host plants. We also tested individuals from a rearing colony established at Saint-Jean-sur-Richelieu Research and Development center of Agriculture and Agri-Food Canada, where specimens were first collected at the experimental farm located at Sainte-Clotilde-de-Chateauguay. This laboratory population is maintained on carrots and has never been restocked with other field collected individuals for 15 years. A total of 220 individuals were sampled from 17 localities distanced by a maximum of 2 000 km, from Ohio to Nova Scotia. Adult weevils were preserved in 1.5 ml Eppendorf-type vials with 95% ethanol until DNA extraction. Sampling was carried out from May to June, except for three fields in Quebec that were sampled in August (Table 2.1). Voucher specimens were deposited to the Ouellet-Robert Entomological Collection of the University of Montreal, Quebec, Canada: QMOR57165 to QMOR57181.



**Figure 2.1.** *Listronotus oregonensis* sampling locations across northeastern North America.

**Table 2.1.** Description of sampling locations, host plants and sampling periods for *L. oregonensis* in North America, and numbers of individuals analyzed using either mitochondrial DNA sequencing (COI) or genotyping-by-sequencing (GBS).

Code	City, Province/State, Country	Spatial coordinates		Geog. regions	Host plant	Sampling period	N of ind. analyzed	
		Latitude	Longitude				COI	GBS
NE-A	Glenholme, Nova Scotia, Canada	45.4396	-63.5421	Nova Scotia	Carrot	May-June-July, 2018	0	6
NE-AV	Avonport, Nova Scotia, Canada	45.1145	-64.2572	Nova Scotia	Carrot	June, 2019	6	9
NE-CM	Cambridge, Nova Scotia, Canada	45.0517	-64.6082	Nova Scotia	Carrot	May-June-July, 2019	7	11
OH	Homerville, Ohio, USA	41.0108	-82.7345	Ohio	Parsley	March, 2019	4	5
ON	Guelph, Ontario, Canada	44.2310	-79.3551	Ontario	Carrot	May, 2019	3	9
QC-CLO2	Sainte-Clotilde, Quebec, Canada	45.1621	-73.6735	Quebec	Carrot	August, 2018	0	9
QC-D	Sherrington, Quebec, Canada	45.1645	-73.5792	Quebec	Carrot	May-June, 2018	16	9
QC-DE	Napierville, Quebec, Canada	45.1811	-73.3402	Quebec	Carrot	May, 2019	8	9
QC-DP	Franklin, Quebec, Canada	45.0963	-73.8765	Quebec	Celeriac	May, 2019	16	9
QC-GF	Saint-Isidore, Quebec, Canada	45.2436	-73.6944	Quebec	Celery	May, 2019	19	9
QC-GP	Sainte-Clotilde, Quebec, Canada	45.1621	-73.6735	Quebec	Carrot	May, 2019	20	9
QC-GP2	Sainte-Clotilde, Quebec, Canada	45.1621	-73.6735	Quebec	Carrot	August, 2019	7	9
QC-GU	Sherrington, Quebec, Canada	45.1557	-73.5905	Quebec	Carrot	May, 2019	15	9
QC-LA	Sherrington Quebec, Canada	45.1478	-73.5905	Quebec	Carrot	June-July, 2019	12	9
QC-LE	Sherrington, Quebec, Canada	45.1387	-73.5952	Quebec	Carrot	August, 2019	26	9
QC-LF	Sainte-Clotilde, Quebec, Canada	45.1640	-73.6699	Quebec	Parsley	May-June-July, 2019	16	9
QC-LL	Saint-Rémi, Quebec, Canada	45.2512	-73.6722	Quebec	Celery	May-June, 2019	8	9
QC-REARING	Saint-Jean-sur-Richelieu, Quebec, Canada	45.1621	-73.6735	N/A	N/A	2018-2019	20	10
QC-VI	Saint-Rémi, Quebec, Canada	45.2482	-73.5763	Quebec	Celeriac	May-June, 2019	2	0

### *DNA extraction*

A DNA extraction protocol was adapted from the DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen). For each individual, the six legs were removed from the body and frozen at -80°C for at least one hour to facilitate tissue grinding. Legs were then crushed directly into the 1.5 ml Eppendorf tube using a pestle (Ultident Scientific). Samples were incubated in extraction buffer overnight at 56°C. DNA was eluted in 100 µl of

distilled water and stored at -20 °C. Concentration and purity of extracted DNA were analysed with a NanoDrop 2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific) and a Qubit fluorometer (Invitrogen). DNA amount per sample was normalized to between 100-500 ng/μl for mitochondrial DNA (COI) sequencing and to 2 ng/μl for the genotyping-by-sequencing approach.

### *DNA sequencing approaches*

Haplotype discrimination with mitochondrial DNA (mtDNA) COI and genome scan using a genotyping-by-sequencing (GBS) approach were used as two complementary approaches in this study to characterize genetic population structures of the carrot weevil. These sequencing methods, analyzed together, contribute to a more global comprehension of the genetic population structure by the different DNA origin that allow two-time scales (Xia *et al.*, 2018). GBS analyses show more recent genetic changes from single-nucleotide polymorphisms (SNPs) on nuclear DNA and COI mitochondrial DNA may go much further back in the evolution time scale (Avise, 1991; Brumfield *et al.*, 2003). Moreover, mitochondrial DNA, transmitted only by the mother, is not subjected to genetic recombination, has a mutation rate faster than nuclear DNA and is more sensitive to founder effects (DeSalle and Giddings, 1986; Birky *et al.*, 1989; Avise, 1991). By using these two approaches, we aimed to assess the genetic differences between populations of the carrot weevil and to estimate whether these differences occurred on a more distant or recent timescale.

### *Mitochondrial DNA (COI) sequencing*

Partial sequence of the mitochondrial Cytochrome C oxydase subunit I (COI) was amplified by PCR using the universal primers LCO1490 (5' - GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3') and HCO2198 (5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3') (Folmer *et al.*, 1994). PCRs were performed in a 25 μl volume containing 2.5 units of *Taq* DNA polymerase, 1 × Qiagen Buffer (containing 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>), 0.5 μl of dNTP (10 mM), 1.5 μl of 10 μM forward and reverse primers, 0.5 μl of MgCl<sub>2</sub> (25 μM) and 2 μl of template DNA. PCRs were realized using a Mastercycler® thermo-cycler (Eppendorf) with the following cycler conditions: 94°C during 3 minutes (initial denaturation); 5 cycles at 94°C for 30 seconds (denaturation), 45°C for 30 seconds (annealing) and 72°C for 30 seconds (extension); followed by 35 cycles at 94°C for 30 seconds (denaturation), 48°C for 30 seconds (annealing) and 72°C for 30 seconds (extension); and 72°C for 10 minutes (final extension). PCR products were separated by

electrophoresis on a 1.5% agarose gel (BioShop). The amplified PCR fragments were sequenced with a 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems) at the Genome Quebec Innovation Center and McGill University (Montréal, Quebec, Canada). Then, forward and reverse sequences were assembled and edited to 685 bp using CLC Main Workbench V20.0 (Qiagen). Sequence alignment was performed on MEGA X, using MUSCLE with the default options (Kumar *et al.*, 2018). A total of 205 individuals from 17 localities were analyzed.

### *Genotyping-by-sequencing (GBS)*

Each carrot weevil individual was genotyped by the genotyping-by-sequencing (GBS) method developed by Elshire *et al.* (2011). Sample preparation and sequencing were done by the Institut de Biologie Intégrative et des Systèmes (IBIS) at Université Laval (Quebec City, Quebec, Canada). Two restriction enzymes (PstI/MspI) designed by Poland *et al.* (2012) were used to digest previously extracted DNA and reduce the complexity of the genome. A GBS library was prepared from 158 individuals being distributed in 18 localities. A total of five to ten individuals by localities were sequenced on five Ion Proton chips.

### *COI and GBS analyses*

Measures of overall haplotype ( $H$ ) and nucleotide ( $\pi$ ) diversity were generated using ARLEQUIN v3.1 (Excoffier *et al.*, 2005). Tajima's D (Tajima, 1989) and Fu's FS (Fu, 1997) neutrality tests were performed to determine if populations presented cases of enlargement or a bottleneck of their genetic diversity. The fixation indices ( $F_{ST}$ ) were calculated to compare each pair of populations based on haplotype frequency. Networks to depict relationships among haplotypes were also produced using PopArt with a statistical parsimony network (TCS network) (Clément *et al.*, 2002). In addition, to investigate for genetic differences between carrot weevil populations from different regions or host plants, AMOVAs were performed using ARLEQUIN v3.1 (Excoffier *et al.*, 2005). Finally, we tested for correlations between the genetic ( $F_{ST}$ ) and the geographic distance using the Mantel test with 1,000 permutations in Arlequin.

GBS sequencing reads were processed using the software Stacks v.2.54 (Catchen *et al.*, 2013). Raw sequences were demultiplexed and filtered for quality using the process\_radtags function (parameters set to -r -c and -q). The reads were then aligned to *L. oregonensis* draft reference genome (GenBank: JAHBCN000000000) using BWA (Li, 2013). Sequence polymorphisms were called and attributed to each

population using the function `gstacks (-m)`, with the parameters set to tolerate a maximum of 10% missing data per locus (`- R 0.9`), a minimum minor allele frequency of 5% (`-min-maf 0.05`) and a minimum minor allele count of 3 (`-min-mac 3`). Genetic statistics were computed using the `populations` program in `Stacks`. Genomic diversity was estimated according to the observed heterozygosity (HO), expected heterozygosity (HE), nucleotide diversity ( $\pi$ ), and the inbreeding coefficients (FIS). The fixation indices (FST) were calculated using the `fstats` function to compare each pair of populations for each variable site (Meirmans and Hedrick, 2011). A Fisher's exact test was also computed for each FST value. Admixture and genetic partition were examined in R (Team, 2013) using the function `snapclust` from the package `adegenet` (Jombart, 2008). Finally, genetic differentiation between and among populations was visualized using a discriminant analysis of principal components (DAPC) with the function `dapc` from the `adegenet` package (Jombart *et al.*, 2010). Correlation between the genetic (FST) and the geographic distance using the Mantel test with 1,000 permutations was performed using `adegenet` package.

## Results

### COI

We obtained 206 sequences of 685 bp of the partial COI from 17 populations of *L. oregonensis* collected from Quebec, Ontario, Nova Scotia and Ohio. Fourteen samples were withdrawn from analysis due to poor DNA quality. All individuals from Ontario and Nova Scotia samples from 2018 were merged into their respective regions (ON, NE-AV and NE-CM; Table 2.1) due to the small number of individuals and their geographic proximity. DNA sequence data and specimen collection information were deposited in the Barcode of Life Database (BOLD), under the project "Carrot weevil population genetics" (CAWE001-20–CAWE206-20). Corresponding Genbank accession numbers are as follows: MW471412 to MW471617.

A total of 23 haplotypes were identified (Hap1 to Hap23) across carrot weevil populations (Fig. 2.2A; see Table A2.1 for detailed haplotype information from each site). Hap12 and Hap4 were the most frequent haplotypes shared by 16 populations. From all individuals sampled, ten unique haplotypes were identified, with eight occurring as singletons and the remaining two being identified more than once. Sites in Nova Scotia were those having the most different haplotypes compared to any other populations, with five unique haplotypes.

Eighteen polymorphic sites ( $S$ ) were observed, with a haplotype diversity ( $H$ ) ranging between 0.562 and 1.000 (Table 2.2). The haplotype diversity was high in each population, except for samples collected in Ohio having the same unique haplotype. The nucleotide diversity ( $\pi$ ) ranges from 0.001 to 0.007, with samples from Quebec being the least diverse compared to the other geographic regions.

The rearing population shared several haplotypes with other field populations of Quebec. Ontario and Ohio were the most genetically distant from Quebec and Nova Scotia populations, Nova Scotia being genetically closer to Quebec than to other populations. Only Hap 10 and Hap12 are shared by all populations, except Ohio. Populations of Quebec showed a greater diversity of haplotypes, certainly explained by a more exhaustive sampling effort ( $N=184$ ) compared to other provinces or state. The AMOVA analysis detected a significant population structure where most of the total genetic variability in carrot weevils was among geographic regions (45.55%) and within populations (sampling locations; 53.60%; Table 2.3). No clear haplotype partition was observed among the plant species in the province of Quebec (Fig. 2.2B). Haplotypes 4, 12 and 15 were the most common and shared by the four host plants. Accordingly, no genetic structure inferred by a AMOVA (Table 4) was detected among host plants ( $p = 0.752$ ); most of genetic variations (98.80%) being observed within sampling locations.

For tests of neutrality, Tajima's  $D$  and Fu's  $F_s$  showed several negative values (Table 2.2), suggesting an excess of rare alleles resulting from a recent expansion of these populations, as shown more particularly by QC-GU ( $D = -1.74$ ;  $p = 0.031$ ), QC-DE ( $F_s = -2.31$ ;  $p = 0.020$ ) and QC-LL ( $F_s = -4.36$ ;  $p = 0.002$ ).

Pairwise comparisons of  $F_{ST}$  values in COI were low and non-significant in the majority of the Quebec sampling, indicating low genetic differentiation, excepted for QC-DE ( $F_{ST} = [0.000-0.232]$ ) (Table 2.5). The population of Ohio showed the highest  $F_{ST}$  values compared to populations located in Quebec ( $F_{ST} = [0.704-0.961]$ ), followed by Nova Scotia ( $F_{ST} = [0.147-0.595]$ ) and Ontario ( $F_{ST} = [0.121-0.316]$ ). The rearing population was found to be similar to the field populations in Quebec, as also shown by the network analysis (Fig. 2.2A). Isolation by distance (IBD) tests were significant ( $r^2 = 0.7682$ ;  $p = 0.01$ ; Fig. A2.1).

**Table 2.2.** Sample size ( $n$ ), number of haplotypes ( $k$ ), number of polymorphic sites (PS), haplotype diversity ( $H$ )  $\pm$  SD, nucleotide diversity ( $\pi$ )  $\pm$  SD; results of Tajima's  $D$  and Fu's  $F_s$  neutrality tests with  $p$ -values for each *Listronotus oregonensis* population.

Population	$n$	$k$	PS	$H$	$\pi$	Tajima's		Fu's	
						$D$	$p$	$F_s$	$p$
NE-AV	6	4	4	0.800 $\pm$ 0.172	0.003 $\pm$ 0.002	0.15	0.604	-0.69	0.188
NE-CM	9	5	5	0.750 $\pm$ 0.112	0.003 $\pm$ 0.002	0.63	0.739	0.51	0.597
OH	4	1	0	-(*)	-	-	-	-	-
ON	3	3	7	-	-	-	-	-	-
QC-D	16	4	4	0.692 $\pm$ 0.074	0.002 $\pm$ 0.001	0.40	0.718	0.44	0.613
QC-DE	7	3	3	0.714 $\pm$ 0.127	0.002 $\pm$ 0.001	-1.49	0.051	<b>-2.31(**)</b>	<b>0.020</b>
QC-DP	16	5	5	0.717 $\pm$ 0.095	0.002 $\pm$ 0.002	-0.30	0.349	0.26	0.494
QC-GF	19	6	5	0.749 $\pm$ 0.086	0.002 $\pm$ 0.001	-0.04	0.524	-0.29	0.435
QC-GP	18	6	6	0.758 $\pm$ 0.070	0.002 $\pm$ 0.002	-0.24	0.453	-1.52	0.131
QC-GP2	7	5	5	0.857 $\pm$ 0.137	0.002 $\pm$ 0.002	-0.49	0.344	-1.29	0.158
QC-GU	15	5	8	0.562 $\pm$ 0.143	0.002 $\pm$ 0.001	<b>-1.74</b>	<b>0.031</b>	-0.88	0.216
QC-LA	12	5	5	0.788 $\pm$ 0.090	0.003 $\pm$ 0.002	0.13	0.587	-0.59	0.317
QC-LE	26	7	8	0.745 $\pm$ 0.058	0.002 $\pm$ 0.002	-0.76	0.260	-1.42	0.218
QC-LF	16	6	7	0.717 $\pm$ 0.099	0.002 $\pm$ 0.002	-0.96	0.178	-1.42	0.135
QC-LL	8	7	7	0.964 $\pm$ 0.077	0.003 $\pm$ 0.002	-1.05	0.205	<b>-4.36</b>	<b>0.002</b>
QC-Rearing	21	6	7	0.810 $\pm$ 0.048	0.003 $\pm$ 0.002	-0.16	0.461	-0.53	0.351
QC-VI	2	2	1	-	-	-	-	-	-

\* Indices were calculated only on populations with a sample size  $>$  5 individuals

\*\* Values in bold are significant ( $p < 0.05$ )

**Table 2.3.** Results of the AMOVA analyses of 17 populations of *Listronotus oregonensis* collected from three Canadian provinces and one US State.

Source of variation	$d.f.$	Sum of squares	Variance components	Variation (%)	Fixation indices*	$P$ value**
Among groups (geographical regions)	3	28.487	0.650 Va	45.55	<b><math>\Phi_{CT}</math>, 0.456</b>	<b>0.002</b>
Among populations within groups	13	11.034	0.012 Vb	0.85	$\Phi_{SC}$ , 0.016	0.170
Within populations	168	128.473	0.765 Vc	53.60	<b><math>\Phi_{ST}</math>, 0.464</b>	<b>&lt;0.001</b>
Total	183	188.029	1.430			

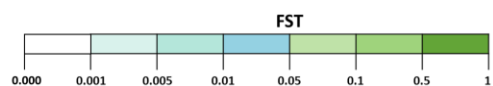
\*Va, Vb, and Vc are the associated variance components and  $\Phi_{CT}$ ,  $\Phi_{SC}$ , and  $\Phi_{ST}$  are the fixation indices.

\*\*Fixation indices in bold are significant ( $p < 0.05$ )

**Table 2.4.** Pairwise FST values among 16 populations of *Listronotus oregonensis* in North America from COI sequences (below diagonal) and GBS analysis (above diagonal).

	QC-D	QC-DE	QC-DP	QC-GF	QC-GP2	QC-GP	QC-GU	QC-LA	QC-LE	QC-LF	QC-LL	QC-REAR	NE-AV	NE-CM	OH	ON
QC-D		0.007	0.010	0.007	0.003	0.010	0.004	0.002	0.012	0.005	0.007	0.058	0.146	0.158	0.083	0.029
QC-DE	0.232		0.012	0.011	0.013	0.010	0.009	0.005	0.010	0.010	0.011	0.065	0.127	0.137	0.090	0.023
QC-DP	0.060	0.015		0.011	0.008	0.008	0.010	0.008	0.011	0.007	0.008	0.062	0.179	0.156	0.168	0.093
QC-GF	0.068	0.056	0.000		0.008	0.004	0.011	0.007	0.016	0.007	0.004	0.067	0.158	0.168	0.087	0.035
QC-GP2	0.008	0.016	0.000	0.000		0.001	0.006	0.000	0.001	0.004	0.007	0.054	0.154	0.165	0.076	0.026
QC-GP	0.000	0.144	0.000	0.023	0.000		0.003	0.000	0.010	0.003	0.000	0.067	0.160	0.173	0.083	0.035
QC-GU	0.049	0.046	0.002	0.000	0.000	0.015		0.000	0.011	0.005	0.007	0.068	0.153	0.164	0.087	0.033
QC-LA	0.000	0.084	0.000	0.002	0.000	0.000	0.011		0.006	0.000	0.001	0.059	0.147	0.160	0.076	0.025
QC-LE	0.000	0.173	0.029	0.053	0.021	0.000	0.034	0.000		0.011	0.013	0.071	0.152	0.164	0.087	0.036
QC-LF	0.017	0.061	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000		0.0024	0.066	0.156	0.170	0.088	0.033
QC-LL	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007	0.000		0.065	0.159	0.171	0.089	0.038
QC-REAR	0.044	0.007	0.000	0.021	0.000	0.013	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000		0.197	0.213	0.136	0.087
NE-AV	0.370	0.225	0.338	0.331	0.275	0.340	0.247	0.323	0.325	0.265	0.239	0.148		0.006	0.196	0.134
NE-CM	0.324	0.180	0.288	0.277	0.212	0.300	0.209	0.281	0.300	0.228	0.213	0.150	0.000		0.208	0.142
OH	0.785	0.842	0.771	0.777	0.804	0.763	0.785	0.752	0.744	0.756	0.727	0.704	0.788	0.692		0.078
ON	0.295	0.140	0.255	0.256	0.134	0.269	0.192	0.224	0.279	0.200	0.121	0.134	0.000	0.000	0.456	

\* values in bold are significant ( $p < 0.05$ )

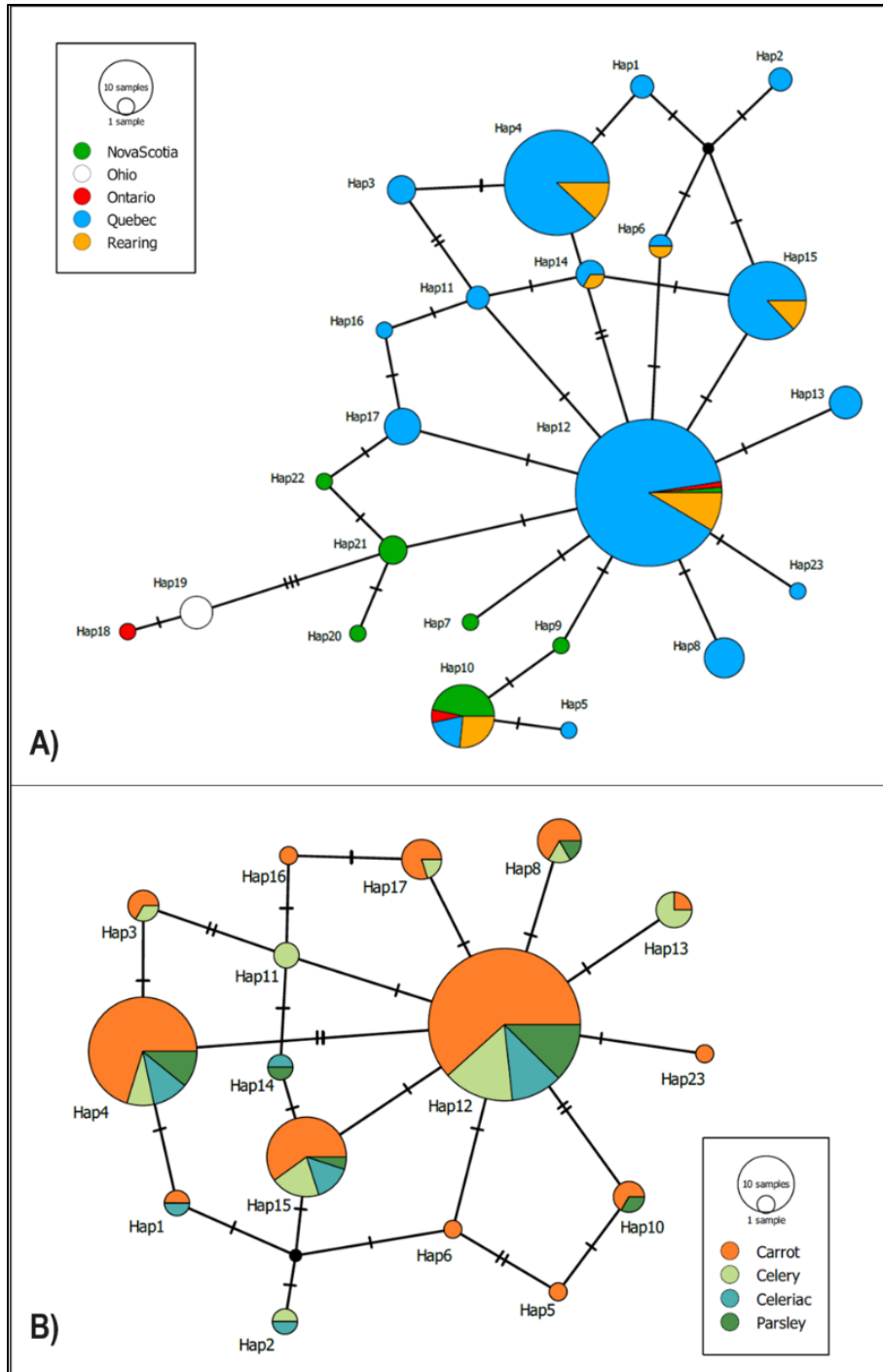


**Table 2.5.** Results of the AMOVA analysis of 12 populations of *Listronotus oregonensis* collected on four different host plants (carrot, celery, celeriac and parsley) in the province of Quebec.

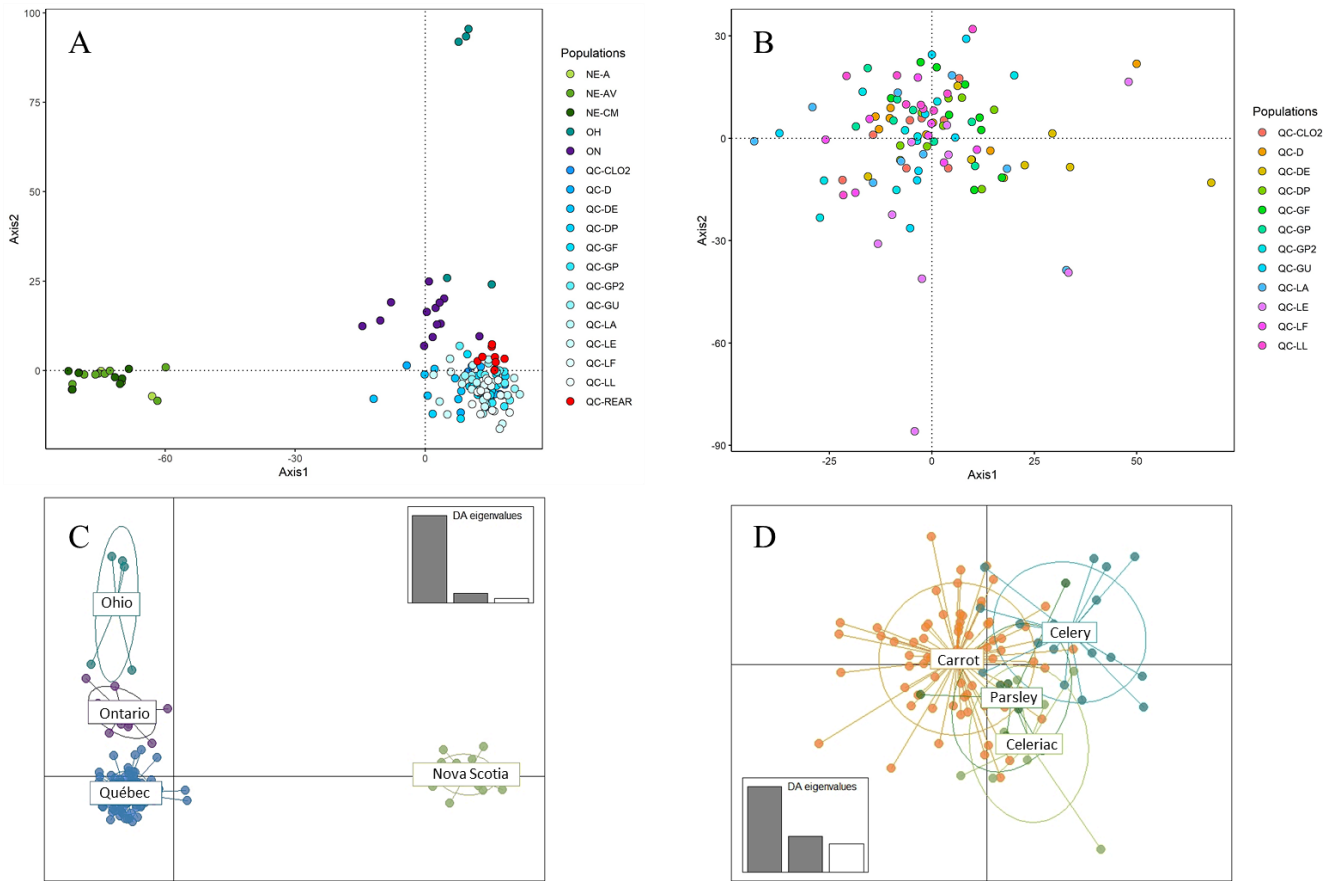
Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Variation (%)	Fixation indices*	P value
Among groups (host plants)	3	1.880	-0.017 Va	-2.30	$\Phi_{CT}$ , -0.023	0.751
Among populations within groups	8	8.499	0.026 Vb	3.50	$\Phi_{SC}$ , 0.034	0.075
Within populations	150	110.862	0.739 Vc	98.80	$\Phi_{ST}$ , 0.012	0.157
Total	161	188.029	0.911			

\*Va, Vb, and Vc are the associated variance components and  $\Phi_{CT}$ ,  $\Phi_{SC}$ , and  $\Phi_{ST}$  are the fixation indices





**Figure 2.2.** Haplotype diversity of *Listronotus oregonensis* from A) three Canadian provinces and one state in USA (Ohio) and B) four host plants from Quebec populations. Circle size are proportional to haplotype frequency. Each line segment represents a single mutation between haplotypes.



**Figure 2.3 Ordination based analyses conducted on SNPs from 17 *Listronotus oregonensis* populations.** A) Principles component analysis (PCA) conducted in all localities: three Canadian provinces (Nova Scotia, Quebec, Quebec rearing colony and Ontario) and one state in United States (Ohio); B) PCA conducted on Quebec populations only, without the rearing population; C) Discriminant analyses of principal components (DAPC) based on geographical regions and D) DAPC based on host plants in Quebec populations. Each point represents one individual and each color refers to a population, except for panel C and D where colors refer to geographical regions and host plants, respectively.

The principal component analysis (Fig. 2.3A) showed that Nova Scotia populations were clearly differentiated from other populations. The populations of Ontario and Ohio share SNPs and their populations are genetically close to each other, but differ from Quebec and Nova Scotia populations (Fig. 2.3A). Populations from Quebec were genetically similar from each other, even when considering the rearing colony (Fig. 2.3A-B). When grouping by geographical regions, distinct clusters are observed which reinforces the results supporting a genetic differentiation according to regions and the distance

between them (Fig. 2.3C). In addition, isolation by distance tests also demonstrate that geographic distance contributes to genetic differentiation between regions (IBD:  $r^2 = 0.6989$ ;  $p = 0.01$ ; Fig. A2.1). Finally, individuals caught on different host plants did not form distinct groups (Fig. 2.3D).

Pairwise comparisons of  $F_{ST}$  values in GBS were low across Quebec populations, indicating low genetic differentiation, exception of QC-REAR ( $F_{ST}$  ranging between 0.054 and 0.071) (Table 2.5). Moreover, Ontario population was more genetically closer to Quebec ( $F_{ST}$  ranging between 0.023 and 0.093) to Nova Scotia and Ohio populations. The highest  $F_{ST}$  values compared to Quebec were in Ohio ( $F_{ST}$  ranging between 0.076 and 0.168) and Nova Scotia populations ( $F_{ST}$  ranging between 0.127 and 0.213). It is interesting to note that  $F_{ST}$  values obtained with the GBS data are similar to those obtained with the analyses of haplotypes from COI (correlation  $R = 0.78$ ,  $p < 0.001$ ; Fig. A2.2). This result reinforces the robustness of our analysis and also demonstrates the effectiveness of the two techniques for comparing genetic divergences between populations of the carrot weevil.

## **Discussion**

Geographic distance represents a significant factor for genetic differentiation of carrot weevil in North America populations being structured into distinct groups according to regions studied. However, at a finer geographical scale, analysis of the impact of four host plants on genetic structure of the carrot weevil in Quebec did not show a significant correlation, meaning that the cultivated apiaceous plant may not play a major role on genetic isolation of local populations.

Analyses of both mitochondrial and nuclear DNA allowed us to characterize the genetic structure of carrot weevil populations at two-time scales. Mitochondrial DNA goes much further back in the evolutionary history of a species compared to nuclear DNA which shows more recent changes (Avice, 1991; Brumfield *et al.*, 2003). For example, COI mitochondrial DNA analysis showed that Nova Scotia populations were genetically closer to individuals from Quebec to those from Ontario and Ohio. However, it is rather the Nova Scotia populations that are greatly differentiated the Quebec and the other populations when analyzing with the GBS method. This result suggests a recent genetic differentiation in carrot weevil populations from Nova Scotia and this is consistent with their recent detection in carrot fields in this maritime province in 1992 (Le Blanc and Boivin, 1993). Conversely, at the finer geographical scale, both mtDNA GBS analysis did not showed genetic differences between Quebec populations and their host

plants. In addition, both analyses showed a great haplotype diversity and complex genetic structure among populations of carrot weevils, characteristic of native species (Kim and Sappington, 2004a; Zhang *et al.*, 2018). In the literature, it has been demonstrated with populations of herbivorous insects that genetic diversity makes them more resilient to their environment (Gloss *et al.*, 2016). Finally, mtDNA analysis showed that the separation between the different regions sampled happened a long time ago in the carrot weevil populations and consolidated the idea the geographic distance is an important factor of their genetic structure.

In this study, the dispersal capacity was estimated with the genetic distance between regions. The movement of organisms is a fundamental element in ecology and evolutionary processes which determine the pest dispersal capacity and its distribution area (Nathan, 2008; Nathan *et al.*, 2008). Distribution of organisms are also influenced by biotic and abiotic factors such as resources availability, reproduction, climate, photoperiod and landscape (Renner and Zohner, 2018; Grez and Villagran, 2000). The carrot weevil, moving mostly by walking, could be limited in its dispersal between the different regions sampled because the apiaceous cultures are not contiguous across their range. Therefore, the landscape (availability of crops) could also be an important element in the structure of carrot weevil populations. Like the carrot weevil, the boll weevil (*Anthonomus grandis* Boheman) is not a strong flier (McKibben *et al.*, 1991), and has difficulty making headway against surface winds (Hardee *et al.*, 1969; Moody *et al.*, 1993). In accordance with our results, the study by Kim and Sappington (2004b) using mtDNA demonstrated that for the boll weevil populations in North America, geographic distance was an important factor of genetic differentiation. Moreover, the theory of isolation by distance has been used by several authors when calculating the genetic distance between populations and has come to confirm that differentiation generally increases with geographic distance in nature (Slatkin, 1987). The results obtained in this study suggest a low dispersal capacity of this insect pests because *L. oregonensis* populations at the Northeastern America scale (>500 km) showed isolation by distance compare to the local scale (~50 km), which showed a continuous genetic flow between individuals in Quebec populations. Therefore, our results demonstrated that geographic distance and dispersal ability are important factors in the genetic structure of the carrot weevil.

Host plants evaluation in the carrot weevil Quebec population did not show a significant genetic differentiation. However, several mechanisms may promote genetic divergence within sympatric

populations that use different host plants (Olivieri *et al.*, 2008). Some insects will develop a preference for a particular host depending on its quality for survival and reproduction (Singer *et al.*, 1988; Hawthorne and Via, 2001) and others will have different mate choice behavior depending on the affiliation to a host plant (Feder *et al.*, 1994; Nosil *et al.*, 2007). For example, in the Roketenetz (2015) study, the milfoil weevil (*Euhrychiopsis lecontei* Dietz) showed a genetic differentiation between individuals that feed on an native host plant, the northern water milfoil (*Myriophyllum sibiricum* Komarov), and those that prefer the introduced species, the Eurasian water milfoil (*Myriophyllum spicatum* L.). In addition, the apple maggot fly (*Rhagoletis pomonella* Walsh) was feeding previously on the ancestral downy hawthorn (*Crataegus mollis* Torrey and Gray), but developed host-shift for the domesticated apple tree (*Malus pumila* Miller), leading to sympatric speciation (Bush, 1969; Feder *et al.*, 2003). However, the milfoil weevil and the apple maggot live in an agricultural environment where the resource is available all year long on wild plants or perennial crops. The carrot weevil, on the other hand, is subject to seasonal changes in the host plant exploited, depending on crop rotations made by growers. This pest species is therefore often forced to feed on border plants (wild carrot *Daucus carota* subsp. *sativus*, common plantain *Plantago lanceolata*, several *Rumex* species) in order to maintain its populations in the agricultural environment, which may prevent the development of specialization for a particular host plant. Feeding on atypical was demonstrated by the study of Van Tol *et al.* (2004) with the vine weevil (*Otiorynchus sulcatus* Fabricius) that was able to reproduce on numerous non-host plants, even in smaller number, representing an important factor in their ability to survive and remain in different habitats. However, if the carrot weevil has developed genetic differences for cultivated apiaceous plants compared to wild plants, this present study was not able to detect them. Furthermore, Silva-Brandão *et al.* (2015) showed that host plant association does not affect genetic structure of the oriental fruit moth (*Grapholita molesta* Busck), a pest of rosaceous, but geographic distance has a stronger function in population differentiation. Moreover, a study on the fall webworm (*Hyphantria cunea* Drury) by Vidal *et al.*, (2019) demonstrated that although geographic distance and host plant use were correlated, geographic distance represented up to three times more genetic variations than the host plant. Thus, the great influence of geographical distance and the absence of individuals from wild apiaceous plants in this study could explain why the host plant does not play a significant role in the genetic structure of the carrot weevil.

This first study on the genetic structure of *L. oregonensis* populations in North America allowed to see that the geographic distance has created distinct populations among the different regions sampled. For a

better integrated pest management strategy against the carrot weevil, it is necessary to further investigate the specificity within the different regions. A finer specific genotypes characterization of the carrot weevil populations at local scale represents an opportunity to find markers of interest and the biological functions or biochemical process they are associated with. For example, genetic differentiation of specific genotypes was observed with the cabbage maggot (*Delia radicum* L.) in the study by Biron *et al.* (2002) which were associated with early and late genotypes in the same field. These information about changes in local populations may be very important to predict the arrivals of the pests in the fields and which pest management treatments to use (inundative releases of sterile insects, pheromone bait-trap, insecticide, etc.) to reduce crop damages. Finally, this study opens the way to other avenues of research in order to understand the reasons for the increase and persistence in damages by carrot weevil in the apiaceous fields in North America.

### **Acknowledgements**

This research was funded by an internal grant (J-001750) from Agriculture and Agri-Food Canada. We are thankful to all the collaborators for insect sampling, Anne-Marie Fortier and scouting team from Consortium PRISME, Suzanne Blatt from Agriculture and Agri-Food Canada in Nova Scotia, Elizabeth Long from the Ohio State University and Zachariah Telfer from University of Guelph. We thank Danielle Thibodeau, Julie Frenette and all students for the lab support at AAFC Saint-Jean-sur-Richelieu. The genetic analyzes would not have been possible without the help Pierre-Yves Véronneau, Dave T. Ste-Croix and Joel Lafond-Lapalme from AAFC Saint-Jean-sur-Richelieu.

### **Authors Contribution**

Bessette, M., Brodeur, J. et Gagnon, A.-È. conceived research.

Bessette, M. conducted experiments.

Gagnon, A.-È. et Mimee, B. contributed material.

Gagnon, A.-È. et Mimee, B. analyzed data and conducted statistical analyses.

Bessette, M., Brodeur, J., Mimee, B. et Gagnon, A.-È. wrote the manuscript.

Gagnon, A.-È. secured funding.

All authors read and approved the manuscript.

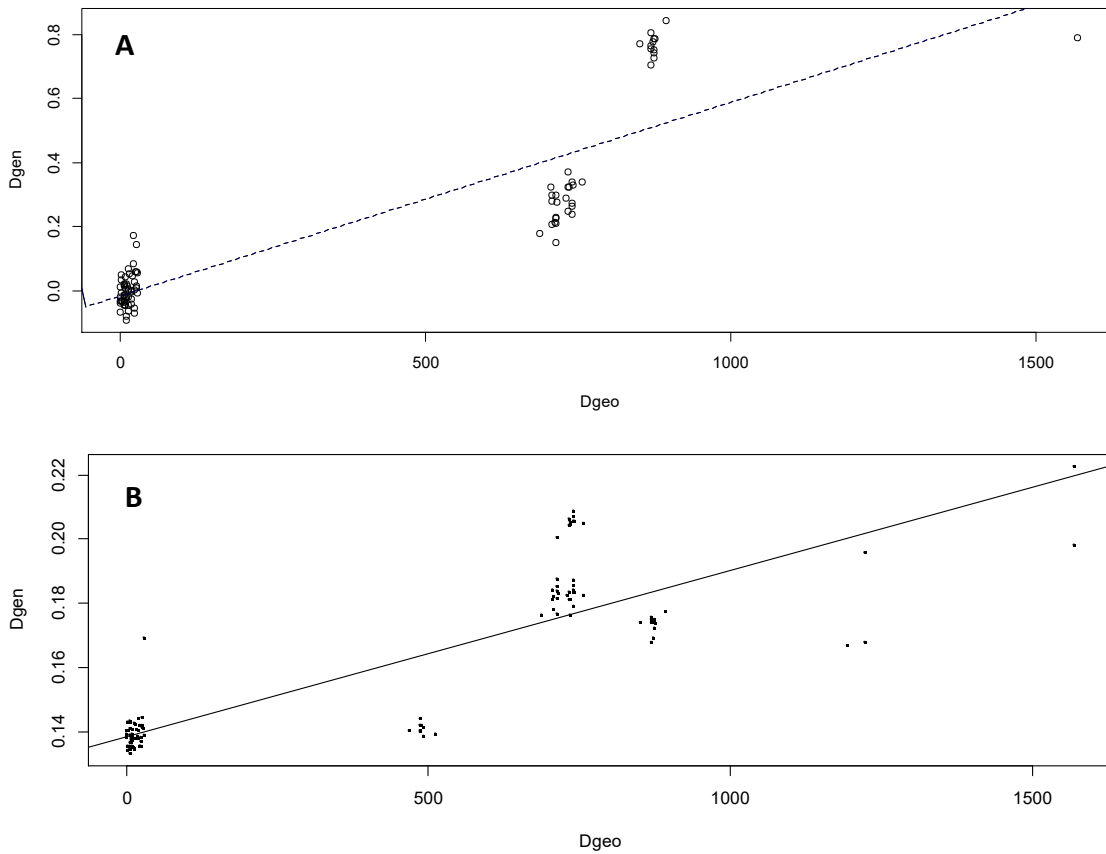
## Supplementary material

### Haplotype's diversity in COI analysis

**Table A2.1** Haplotype diversity of *Listronotus oregonensis* from three Canadian provinces and one state in USA (Ohio).

Name	Haplotype <small>28; 37; 109; 130; 132; 178; 182; 205; 268; 301; 322; 331; 337; 387; 394; 478; 631; 635</small>	NE-	NE-	OH	ON	QC-	QC-	QC-	QC-	QC-	QC-	QC-	QC-	QC-	QC-	QC-	QC-	
		AV	CM			AAFC	D	DE	DP	GF	GP	GP2	GU	LA	LE	LF	LL	VI
Hap 1	ACTCATCAATGATGTTTA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Hap 2	ACTCATCGGTGATGTTTA	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Hap 3	ACTCGTCAATGATGTTCA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0
Hap 4	ACTCGTCAATGATGTTTA	0	0	0	0	5	6	0	3	2	6	1	2	2	9	4	1	1
Hap 5	ACTTATCAGTAGTGTTTA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Hap 6	ACTTATCAGTGATGTTTA	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Hap 7	ACTTGCCAGTGATGTTTA	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hap 8	ACTTGTCAGCGATGTTTA	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0
Hap 9	ACTTGTCAGTAATGTTTA	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hap 10	ACTTGTCAGTAGTGTTTA	3	4	0	1	4	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Hap 11	ACTTGTCAGTGATGTTCA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Hap 12	ACTTGTCAGTGATGTTTA	1	0	0	1	7	7	3	8	9	7	3	10	5	10	8	2	0
Hap 13	ACTTGTCAGTGATGTTTG	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0	0	0	0
Hap 14	ACTTGTCGGTGATGTTCA	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Hap 15	ACTTGTCGGTGATGTTTA	0	0	0	0	3	0	3	3	3	2	1	1	3	2	1	1	0
Hap 16	ACTTGTTAGTGATGTTCA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Hap 17	ACTTGTTAGTGATGTTTA	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	1	0
Hap 18	ATCTGTCAGTGACATCTA	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hap 19	ATCTGTCAGTGACGTCTA	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hap 20	ATTTGTCAGTGATGCTTA	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hap 21	ATTTGTCAGTGATGTTTA	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hap 22	ATTTGTTAGTGATGTTTA	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hap 23	GCTTGTCAGTGATGTTTA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<b>Total</b>		<b>6</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>21</b>	<b>16</b>	<b>7</b>	<b>16</b>	<b>19</b>	<b>18</b>	<b>7</b>	<b>15</b>	<b>12</b>	<b>26</b>	<b>16</b>	<b>8</b>	<b>2</b>

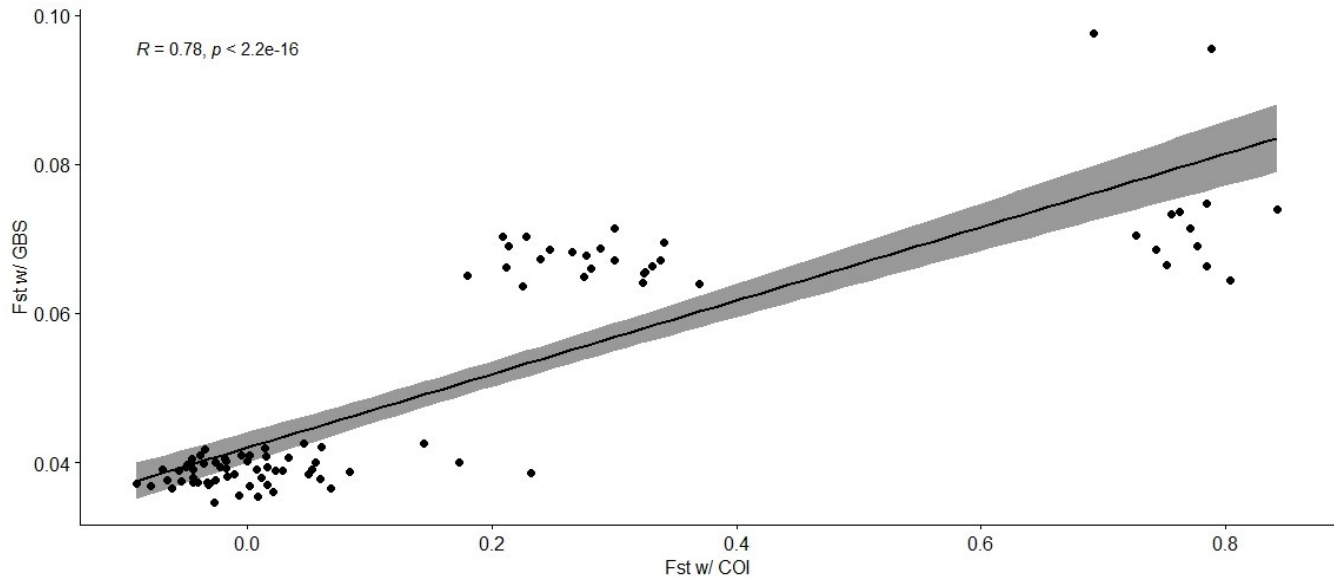
## Isolation by distance tests



**Figure A2.1** Isolation by distance (IBD) tests for *L. oregonensis* with A) COI Fst and B) GBS Fst. Dgen = Genetic distance between each population (Fst); Dgeo= Geographic distance (km) between each population. Populations with low number of individuals (< 3 ind.) were removed from the analysis (QC-VI and ON in COI Fst). Regressions were made under a Mantel test based on 999 replicates.



## Correlation between FST from COI and GBS



**Figure A2.2** Correlation between Fst generated with GBS data and Fst from mitochondrial DNA (COI) haplotype analysis.

## References

- Agosta, S. J. (2006). On ecological fitting, plant–insect associations, herbivore host shifts, and host plant selection. *Oikos*, 114(3), 556-565.
- Anderson, C. J., Tay, W. T., McGaughran, A., Gordon, K. and Walsh, T. K. (2016). Population structure and gene flow in the global pest, *Helicoverpa armigera*. *Molecular Ecology*, 25, 5296–5311.
- Angelella, G. M., Michel, A. P. and Kaplan, I. (2019). Using host-associated differentiation to track source population and dispersal distance among insect vectors of plant pathogens. *Evolutionary Applications*, 12, 692-704.
- Antwi, J. B., Sword, G. A. and Medina, R. F. (2015). Host-associated differentiation in a highly polyphagous, sexually reproducing insect herbivore. *Ecology and Evolution*, 5, 2533-2543.
- Avise, J.C. (1991). Ten unorthodox perspectives on evolution prompted by comparative population genetic findings on mitochondrial DNA. *Annual Review of Genetics*, 25(1), 45-69.
- Berlocher, S. H. (1998). Can sympatric speciation via host or habitat shift be proven from phylogenetic and biogeographic evidence, 99-113. In Howard D. J. and Berlocher S. H. (Eds.), *Endless forms: species and speciation*. Oxford University Press, New York, USA, 496p.

- Birky, C. W., Fuerst, P. and Maruyama, T. (1989). Organelle gene diversity under migration, mutation, and drift: equilibrium expectations, approach to equilibrium, effects of heteroplasmic cells, and comparison to nuclear genes. *Genetics*, 121(3), 613-627.
- Biron, D. G., Coderre, D., Boivin, G., Brunel, E. and Nénon, J. P. (2002). Genetic variability and expression of phenological and morphological differences in populations of *Delia radicum* (Diptera: Anthomyiidae). *The Canadian Entomologist*, 134(3), 311-327.
- Bohonak, A. J. (1999). Dispersal, gene flow, and population structure. *The Quarterly Review of Biology*, 74(1), 21-45.
- Boivin, G. (1985) Evaluation of monitoring techniques for the carrot weevil, *Listronotus oregonensis* (Coleoptera: Curculionidae). *The Canadian Entomologist*, 117, 927-933.
- Boivin, G. (1994). Carrot weevil. In Howard, R. J., Garland, J. A. and Seaman, W. L. (eds.), Diseases and pests of vegetable crops in Canada. *The Canadian Phytopathological Society and the Entomological Society of Canada, Ottawa, Canada*, 78-79.
- Boivin, G. (1999). Integrated management for carrot weevil. *Integrated Pest Management Reviews*, 4(1), 21-37.
- Boivin, G. (2013). 30 *Listronotus oregonensis* (LeConte), Carrot Weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Biological Control Programmes in Canada, 2001–2012*, 214.
- Boyce, A. M. (1927). A study of the biology of the parsley stalk-weevil *Listronotus Latiusculus* Boheman Coleoptera: curculionidae. *Journal of Economic Entomology*, 20(6), 814-821.
- Broquet, T. and Petit, E.J. (2009). Molecular estimation of dispersal for ecology and population genetics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, 193-216.
- Brumfield, R.T., Beerli, P., Nickerson, D.A. and Edwards, S.V. (2003). The utility of single nucleotide polymorphisms in inferences of population history. *Trends in Ecology and Evolution*, 18(5), 249-256.
- Brust, G.E. and King, L.R. (1994) Effects of crop rotation and reduced chemical inputs on pests and predators in maize agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 48, 77–89.
- Bush, G. L. (1969). Sympatric host race formation and speciation in frugivorous flies of the genus *Rhagoletis* (Diptera, Tephritidae). *Evolution*, 237-251.
- Catchen, J., Hohenlohe, P. A., Bassham, S., Amores, A. and Cresko, W. A. (2013). Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular ecology*, 22(11), 3124-3140.
- Chandler, S. C. (1926). The economic importance of the carrot weevil in Illinois. *Journal of Economic Entomology*, 19, 490-494.

- Corrêa, A. S., Cordeiro, E. M., and Omoto, C. (2019). Agricultural insect hybridization and implications for pest management. *Pest Management Science*, 75(11), 2857-2864.
- Coyne, J. A. (1992). Genetics and speciation. *Nature*, 355, 511–515.
- DeSalle, R. and Giddings, L.V. (1986). Discordance of nuclear and mitochondrial DNA phylogenies in Hawaiian *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(18), 6902-6906.
- Drès, M. and Mallet, J. (2002). Host races in plant–feeding insects and their importance in sympatric speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 357(1420), 471-492.
- Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics*, 1, 117693430500100003.
- Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S. and Mitchell, S. E. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PloS one*, 6(5), e19379.
- Erlandson, M. A., Mori, B. A., Coutu, C., Holowachuk, J., Olfert, O. O., Garipey, T. D. and Hegedus, D. D. (2019). Examining population structure of a bertha armyworm, *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae), outbreak in western North America: Implications for gene flow and dispersal. *PloS one*, 14(6), e0218993.
- Feder, J. L., Opp, S. B., Wlazlo, B., Reynolds, K., Go, W. and Spisak, S. (1994). Host fidelity is an effective pre-mating barrier between sympatric races of the apple maggot fly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(17), 7990-7994.
- Feder, J. L., Berlocher, S. H., Roethele, J. B., Dambroski, H., Smith, J. J., Perry, W. L., Gavrilovic, V., Filchak, K. E., Rull, J. and Aluja, M. (2003). Allopatric genetic origins for sympatric host-plant shifts and race formation in *Rhagoletis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(18), 10314-10319.
- French-Constant, R. H., Anthony, N., Aronstein, K., Rocheleau, T. and Stilwell, G. (2000). Cyclodiene insecticide resistance: from molecular to population genetics. *Annual Review of Entomology*, 45(1), 449-466.
- Folmer, O., Black M., Hoeh W., Lutz R. and Vrijenhoek R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294-299.
- Forbes, A. A., Devine, S. N., Hippee, A. C., Tvedte, E. S., Ward, A. K., Widmayer, H. A. and Wilson, C. J. (2017). Revisiting the particular role of host shifts in initiating insect speciation. *Evolution*, 71(5), 1126-1137.

- Fu, Y.X. (1997). Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, *147*, 915-25.
- Gloss, A. D., Groen, S. C. and Whiteman, N. K. (2016). A genomic perspective on the generation and maintenance of genetic diversity in herbivorous insects. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *47*, 165-187.
- Gould, F. (1991). The Evolutionary potential of crop pests. *American Scientist*, *79*(6), 496–507.
- Grez, A. A. and Villagran, P. (2000). Effects of structural heterogeneity of a laboratory arena on the movement patterns of adult *Eriopis connexa* and *Hippodamia variegata* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology*, *97*(4), 563-566.
- Groman, J. D., and Pellmyr, O. (2000). Rapid evolution and specialization following host colonization in a yucca moth. *Journal of Evolutionary Biology*, *13*(2), 223-236.
- Hardee, D. D., Cross, W. H., Mitchell, E. B., Huddleston, P. M., Mitchell, H. C., Merkl, M. E. and Davich, T. B. (1969). Biological factors influencing responses of the female boll weevil to the male sex pheromone in field and large-cage tests. *Journal of Economic Entomology*, *62*(1), 161-165.
- Hanks, L.M. and Denno, R.F. (1994). Local adaptation in the armored scale insect *Pseudaulacaspis pentagona* (Homoptera: Diaspididae). *Ecology*, *75*, 2301–2310.
- Hawthorne, D. J. and Via, S. (2001). Genetic linkage of ecological specialization and reproductive isolation in pea aphids. *Nature*, *412*(6850), 904-907.
- Hood, G. R., Powell, T. H., Doellman, M. M., Sim, S. B., Glover, M., Yee, W. L., Goughnour, R. B., Mattsson, M., Schwarz, D. and Feder, J. L. (2020). Rapid and repeatable host plant shifts drive reproductive isolation following a recent human-mediated introduction of the apple maggot fly, *Rhagoletis pomonella*. *Evolution*, *74*, 156-168.
- Jiggins, C. D. and Bridle, J. R. (2004). Speciation in the apple maggot fly: a blend of vintages? *Trends in Ecology and Evolution*, *19*(3), 111-114.
- Jombart, T. (2008). adegenet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, *24*(11), 1403-1405.
- Jombart, T., Devillard, S. and Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, *11*(1), 1-15.
- Justus, E. J. and Long, E. Y. (2019). Biology and management of the carrot weevil (Coleoptera: Curculionidae) in North America. *Journal of Integrated Pest Management*, *10*(1), 1-8.
- Kim, K. S., and Sappington, T. W. (2004a). Boll weevil (*Anthonomus grandis* Boheman) (Coleoptera: Curculionidae) dispersal in the southern United States: evidence from mitochondrial DNA variation. *Environmental Entomology*, *33*(2), 457-470.

- Kim, K. S. and Sappington, T. W. (2004b). Genetic structuring of boll weevil populations in the US based on RAPD markers. *Insect Molecular Biology*, 13(3), 293-303.
- Kim, K. S. and Sappington, T. W. (2013). Population genetics strategies to characterize long-distance dispersal of insects. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 16(1), 87-97.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549.
- Le Blanc, J.-P. R. and Boivin, G. (1993). Une note sur la présence du charançon de la carotte en Nouvelle-Écosse. *Phytoprotection*, 74, 113-115.
- Li, H. (2013). Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. *arXiv preprint arXiv:1303.3997*.
- Machado, V., Wunder, M., Baldissera, V. D., Oliveira, J.V., Fiúza, L. M. and Nagoshi, R. N. (2008). Molecular characterization of host strains of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Southern Brazil. *Annals of the Entomological Society of America*, 101(3), 619-626.
- Martel, C., Réjasse, A., Rousset, F., Bethenod, M.T. and Bourguet, D. (2003). Host-plant-associated genetic differentiation in Northern French populations of the European corn borer. *Heredity*, 90(2), 141-149.
- Mazzi, D. and Dorn, S. (2012). Movement of insect pests in agricultural landscapes. *Annals of Applied Biology*, 160(2), 97-113.
- McKibben, G. H., Willers, J. L., Smith, J. W. and Wagner, T. L. (1991). Stochastic model for studying boll weevil dispersal. *Environmental Entomology*, 20(5), 1327-1332.
- Meirmans, P.G. and Hedrick, P.W. (2011). Assessing population structure: FST and related measures. *Molecular Ecology Resources*, 11, 5-18.
- Moody, D. S., Bottrell, D. G. and Rummel, D. R. (1993). Late season migration of the boll weevil in the Texas Rolling Plains. *The Southwestern Entomologist (USA)*.
- Nathan, R. (2008). An emerging movement ecology paradigm. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(49), 19050-19051.
- Nathan, R., Schurr, F. M., Spiegel, O., Steinitz, O., Trakhtenbrot, A. and Tsoar, A. (2008). Mechanisms of long-distance seed dispersal. *Trends in Ecology and Evolution*, 23(11), 638-647.
- Nosil, P., Crespi, B. J., Gries, R. and Gries, G. (2007). Natural selection and divergence in mate preference during speciation. *Genetica*, 129(3), 309.

- Olivieri, I., Singer, M. C., Magalhaes, S., Courtiol, A., Dubois, Y., Carbonell, D., ... and Michalakis, Y. (2008). Genetic, ecological, behavioral and geographic differentiation of populations in a thistle weevil: implications for speciation and biocontrol. *Evolutionary Applications*, 1(1), 112-128.
- Poland, J.A., Brown, P.J., Sorrells, M.E. and Jannink, J.L. (2012). Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach. *PLoS one*, 7(2), e32253.
- Perron, J. (1971). Insect pests of carrots in organic soils of southwestern Québec with special reference to the carrot weevil, *Listronotus oregonensis* (coleoptera: curculionidae). *The Canadian Entomologist*, 103(10), 1441-1448.
- Pinho, C. and Hey, J. (2010). Divergence with gene flow: models and data. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 41, 215-230.
- Team, R. C. (2013). R: A language and environment for statistical computing. 12pp.
- Renner, S. S. and Zohner, C. M. (2018). Climate change and phenological mismatch in trophic interactions among plants, insects, and vertebrates. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 49, 165-182.
- Roderick, G.K. (1996). Geographic structure of insect populations: gene flow, phylogeography, and their uses. *Annual Review of Entomology*, 41(1), 325-352.
- Roketenetz, L. D. (2015). Investigation of Inter-and Intraspecific Genetic Variability of *Euhrychiopsis lecontei*, a Biological Control Agent for the Management of Eurasian Watermilfoil. *Doctoral dissertation, University of Akron*.
- Rollins, L., Woolnough, A. and Sherwin, W. (2006). Population genetic tools for pest management: A review. *Wildlife Research*, 33, 251-261.
- Shufran, K. A., Burd, J. D., Anstead, J. A. and Lushai, G. (2000). Mitochondrial DNA sequence divergence among greenbug (Homoptera: Aphididae) biotypes: evidence for host-adapted races. *Insect Molecular Biology*, 9, 179-184.
- Silva-Brandão, K. L., Silva, O. A. B. N. E., Brandao, M. M., Omoto, C. and Sperling, F. A. (2015). Genotyping-by-sequencing approach indicates geographic distance as the main factor affecting genetic structure and gene flow in Brazilian populations of *Grapholita molesta* (Lepidoptera, Tortricidae). *Evolutionary Applications*, 8(5), 476-485.
- Singer, M. C., Ng, D. and Thomas, C. D. (1988). Heritability of oviposition preference and its relationship to offspring performance within a single insect population. *Evolution*, 42(5), 977-985.
- Slatkin, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 236(4803), 787-792.

- Tajima, F. (1989). The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 597-601.
- Telfer, Z., Lemay, J., McDonald, M. R. and Scott-Dupree, C. (2018). Assessing new chemical control options for the carrot weevil (*Listronotus oregonensis*) and carrot rust fly (*Psila rosae*) in Ontario. *Crop Protection*, 109, 86-94.
- Toju, H. and Sota, T. (2006). Phylogeography and the geographic cline in the armament of a seed-predatory weevil: Effects of historical events vs. natural selection from the host plant. *Molecular Ecology*, 15, 4161–4173.
- Van Tol, R. W. H. M., Van Dijk, N. and Sabelis, M. W. (2004). Host plant preference and performance of the vine weevil *Otiiorhynchus sulcatus*. *Agricultural and Forest Entomology*, 6(4), 267-278.
- Vidal, M. C., Quinn, T. W., Stireman III, J. O., Tinghitella, R. M. and Murphy, S. M. (2019). Geography is more important than host plant use for the population genetic structure of a generalist insect herbivore. *Molecular Ecology*, 28(18), 4317-4334.
- Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J. F., Ferrer, A. and Peigné, J. (2014). Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(1), 1-20.
- Whitcomb, W. D. (1965). Carrot weevil in Massachusetts. *University of Massachusetts Agricultural Experimental Station Bulletin*, 550, 1-30.
- Wright, J. M. and Decker, G. C. (1957). Insecticidal control of the carrot weevil in canning carrots. *Journal of Economic Entomology*, 50(6), 797-799.
- Xia, H., Wang, B., Zhao, W., Pan, J., Mao, J.F. and Wang, X.R. (2018). Combining mitochondrial and nuclear genome analyses to dissect the effects of colonization, environment, and geography on population structure in *Pinus tabulaeformis*. *Evolutionary Applications*, 11(10), 1931-1945.
- Zhang, S., Shu, J., Xue, H., Zhang, W., Wang, Y., Liu, Y. and Wang, H. (2018). Genetic diversity in the camellia weevil, *Curculio chinensis* Chevrolat (Coleoptera: Curculionidae) and inferences for the impact of host plant and human activity. *Entomological Science*, 21(4), 447-460.

### 3. Préférence des charançons de la carotte (*Listronotus oregonensis*) à leur plante hôte d'origine

#### Résumé

Le charançon de la carotte (*Listronotus oregonensis*) est un ravageur important des cultures d'apiacées (carotte, céleri, céleri-rave et persil) en Amérique du Nord. L'objectif de cette étude était d'évaluer si les femelles du charançon de la carotte au Québec, capturées dans des champs ayant un historique de culture d'une seule espèce d'apiacée, avaient développé une préférence à cette plante hôte. Les populations de charançons de la carotte provenaient de deux champs commerciaux de carotte et de céleri-rave ainsi qu'une population d'élevage nourrie sur la carotte. Afin de déterminer la réponse olfactive des femelles face à quatre plantes hôtes cultivées, un olfactomètre en forme de Y a été utilisé. Les femelles devaient choisir entre le feuillage de plante hôte d'origine (carotte ou céleri-rave) et une autre plante hôte (persil, céleri, carotte et céleri-rave) ou un témoin sans odeur. Un cinquième traitement avec la racine de carotte a été ajouté pour la population d'élevage puisqu'elle n'avait pas été en contact avec le feuillage de carotte depuis une quinzaine d'années. Certains résultats aberrants provenant du champ de céleri-rave et de l'élevage, tels que la préférence envers l'absence d'odeur et une grande proportion d'absence de choix, n'a pas permis d'obtenir des résultats concluants. Cependant, les individus issus du champ de carotte ont développé une préférence significative envers leur plante hôte d'origine, sans toutefois être exclusifs à cette dernière. L'impact de cette préférence reste à approfondir afin de mieux comprendre son rôle dans la gestion phytosanitaire du charançon de la carotte. Néanmoins, une rotation des cultures, en évitant l'utilisation successive de deux espèces d'apiacées, représentera toujours une pratique exemplaire afin de diminuer la densité et le potentiel d'adaptation des populations du charançon de la carotte.

**Mots clés:** *Listronotus oregonensis*, apiacées, olfactomètre, préférence de la plante hôte



## Introduction

L'attractivité provenant des composés volatils libérés par la plante hôte s'avère un facteur important lors de la recherche de ressources alimentaires et de sites de ponte chez les herbivores (Visser, 1986). La sélection de la plante hôte est généralement déterminée par la femelle pour la ponte (Bernays et Chapman, 2007) et il a été démontré chez les insectes que le substrat alimentaire au stade larvaire peut influencer la sélection de la plante hôte une fois adulte (Davis et Stamps, 2004; Petit *et al.*, 2015). Par exemple, certaines larves de lépidoptères qui se sont nourries sur de nouvelles plantes hôtes ont développé, une fois adulte, une préférence de ponte pour leur plante hôte d'origine (Moreau *et al.*, 2008; Anderson *et al.*, 2013; Petit *et al.*, 2015). De plus, cette réponse attractive s'intensifie au fil des générations lorsqu'une espèce exploite une même plante (Walsh, 1864; Berlocher, 2006) et peut éventuellement mener à une spéciation envers cette plante (Berlocher, 1998). On observe ce phénomène chez la mouche de la pomme *Rhagoletis pomonella* Walsh (Diptera : Tephritidae) qui à l'origine se nourrissait sur l'aubépine duveteuse ancestrale (*Crataegus mollis* Torrey et Gray) pour ensuite développer une préférence pour le pommier domestique (*Malus pumila* Mill), conduisant ainsi à une spéciation sympatrique imminente (Feder *et al.*, 2003; Forbes et Feder, 2006).

Au stade précoce de la spéciation, la divergence génétique n'est pas toujours suffisamment grande pour déceler une différence entre les populations (Matsuo *et al.*, 2007). L'identification des mécanismes moléculaires responsables de l'adaptation locale s'avère nécessaire afin de mieux comprendre les causes de la spéciation (Vertacnik et Linnen, 2017). Les composés sémiochimiques émis dans l'environnement, perçus à travers l'olfaction, permettent la transformation du signal olfactif en une réponse comportementale liée à l'alimentation et la reproduction des insectes (Brito *et al.*, 2016). De ce fait, les modifications au système chimiosensoriel chez les insectes herbivores sont souvent responsables des changements comportementaux envers les plantes hôtes (Chapman, 2003; Bruce *et al.*, 2005). Leurs récepteurs olfactifs (*olfactory receptor neurons* (ORN)), se trouvent dans deux paires d'organes, soit les antennes et les palpes maxillaires (Hallem *et al.*, 2006). À la surface de ces organes, des poils sensoriels appelés sensilles, contiennent les dendrites des ORN ayant plusieurs pores à travers lesquels les odeurs peuvent pénétrer (Rospars, 1988; Shanbhag *et al.*, 2000) et être transmises dans les lobes antennaires du cerveau (Hallem *et al.*, 2006). Un des outils utilisés pour permettre de démontrer si les insectes développent une préférence olfactive envers différents composés volatils, dont ceux émis par les plantes

hôtes ou des conspécifiques (phéromones d'agrégations ou sexuelles), sont les tests en olfactomètre (Reddy et Guerrero, 2004).

Le charançon de la carotte (*Listronotus oregonensis* Le Conte), une espèce de curculionidé indigène de l'Amérique du Nord, cause des dommages importants à plusieurs cultures d'apiacées comme la carotte (*Daucus carota* L. subsp. *sativus*), le persil (*Petroselinum crispum* L.), le céleri (*Apium graveolens* L. var. *dulce*) et le céleri-rave (*Apium graveolens* L. var. *rapaceum* M.) (Boivin, 1999; RAP, 2020). Toutefois, il n'a pas été démontré que *L. oregonensis* présentait une préférence envers une plante spécifique parmi son spectre d'hôtes. Les études sur ce ravageur n'abordent pas la question de l'adaptation locale au sein des populations, mais plutôt leur niveau d'attraction envers différents composés volatils (Dacey, 2020). Néanmoins, le taux d'oviposition du charançon de la carotte sur différentes plantes hôtes a été observé. De façon générale, on note une similarité entre les plantes hôtes de carotte, de céleri, et d'aneth, mais un nombre d'œufs moins élevé a été observé sur le persil et le panais (G. Boivin, données non publiées). Cette observation suggère que le persil et le panais pourraient représenter des hôtes moins optimaux. Toutefois, bien que le paysage agricole du Québec soit composé de diverses cultures d'apiacées, les fermes sont souvent spécialisées dans une culture en particulier. Cette situation pourrait permettre le développement d'adaptations locales chez les populations du charançon de la carotte. L'objectif de cette étude était d'évaluer si les femelles du charançon de la carotte, issues de trois populations du Québec provenant d'un champ de carotte et de céleri-rave ainsi que d'un élevage sur carotte, avaient développé une préférence envers la plante hôte sur laquelle elles s'étaient développées.

## Matériel et méthodes

### *Insectes*

L'échantillonnage du charançon de la carotte a été réalisé chez deux producteurs dans la région du sud-ouest du Québec, Canada, dont l'un était spécialisé dans la culture de la carotte (45°15'5702"N, -73°59'0483"W) depuis 1960 et l'autre dans la culture de céleri-rave (45°09'63"N, -73°87'65"W) depuis 2004. Ces fermes commerciales s'étendent chacune sur plus de 200 hectares. L'échantillonnage des adultes s'est effectué à l'aide de cinq pièges-appâts de type Boivin, où l'on insère une carotte-appât à l'intérieur. Les pièges ont été installés en bordure de champ et relevés de façon hebdomadaire entre le 7 mai et le 24 juillet. Une troisième population de charançons de la carotte issue d'un élevage au Centre de recherche et de développement de Saint-Jean-sur-Richelieu d'Agriculture et Agroalimentaire Canada

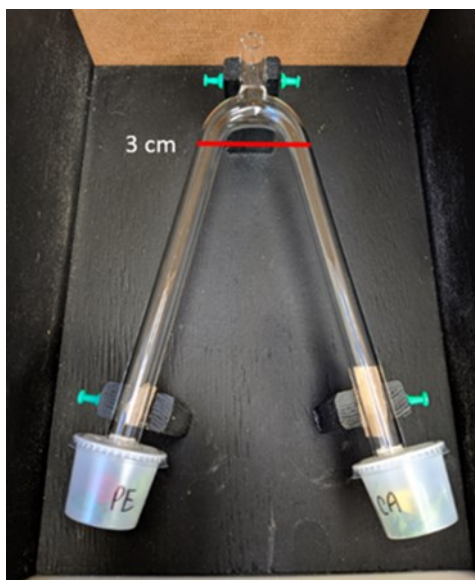
(AAC) nourrie sur des racines de carotte (à 25° C 50 % HR; 18 : 6h L : D) a également été utilisée. Les individus de l'élevage provenaient de la ferme expérimentale située à Sainte-Clotilde-de-Châteauguay (45°16'20"N; -73°67'34"W) Québec, Canada et aucun renouvellement des individus n'a été effectué depuis au moins 15 ans. Chacun des individus échantillonnés a été mis en élevage sur leur plante hôte d'origine (c'est-à-dire correspondante à la plante sur laquelle la population avait été échantillonnée), à 22 ° C; 50 % HR; 16 : 8h L : D, durant environ un mois avant l'expérience. Pour les tests, seules les femelles de charançons de la carotte ont été sélectionnées et elles étaient prêtes à pondre (Beaudoin et Boivin, 1985)

### *Plantes*

Des plants de persil, de céleri et de céleri-rave au début de leur stade végétatif étaient cultivés en pots de 3 L en chambre de croissance dans les mêmes conditions d'élevage que celles du charançon de la carotte. Les carottes au stade végétatif provenaient directement du champ de Sainte-Clotilde-de-Châteauguay et étaient stockées à 4 ° C jusqu'à leur utilisation (maximum de cinq jours). Le feuillage des plantes hôtes était prélevé tout juste avant l'expérience et la quantité utilisée pour chacune des expériences était normalisée à  $0,5 \pm 0,01$  g. Les racines de carottes, du même type que pour l'élevage, étaient de poids équivalent à celui du feuillage. Les végétaux étaient fraîchement coupés le jour même de l'expérience et utilisés durant un maximum de 4 heures

### *Dispositif expérimental*

Les tests de préférence de la plante hôte ont été réalisés avec un olfactomètre passif en Y (Fig. 3.1). Aucun débit d'air n'était généré à l'intérieur puisque lors des tests préliminaires, le flux d'air gênait le déplacement des charançons à travers le dispositif expérimental. Un tube de verre en forme de Y (25,4 cm de long  $\times$  1,5 cm de diamètre) a été placé dans une boîte noire en bois (30,5 cm  $\times$  40 cm  $\times$  19 cm) afin de couper la lumière. Un plexiglas blanc à l'extrémité de la boîte permettait de stimuler le déplacement de l'insecte vers la lumière. À cette extrémité plus lumineuse se trouvait également les deux odeurs de feuillage ou racine de carotte des plantes hôtes coupées, disposées chacune dans des contenants en plastique (Solo cup de 4,6 cm de haut  $\times$  7,4 cm de diamètre).



**Figure 3.1** Olfactomètre passif en Y où le feuillage des plantes hôtes était inséré aux deux extrémités. La ligne de décision est délimitée par la ligne rouge, à 3 cm de l'intersection du tube.

### *Tests de préférence*

Les femelles de charançon de la carotte ont été placées à l'entrée du tube en Y individuellement avant de fermer la boîte pour une durée de 5 minutes (Tooker *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2019). Les individus devaient passer au-delà des trois premiers centimètres (Fig. 3.1) de l'intersection afin de considérer ce déplacement comme un choix (Tooker *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2019). Les individus qui demeuraient en-deçà de la ligne étaient catégorisés comme n'ayant pas fait de choix. Le tube de verre était nettoyé avec de l'éthanol 75% entre chaque test suivi d'une rotation à 180° (Park *et al.*, 2019). Quinze répétitions par traitement, réparties également sur trois jours, ont été effectuées pour chacune des trois populations. Les traitements consistaient à comparer la réponse des femelles des populations de charançons face à la plante hôte d'origine (carotte ou céleri-rave, selon la population) et à trois autres espèces de plantes (céleri, persil, carotte ou céleri-rave) ainsi qu'un témoin sans odeur (aucun matériel végétal). Un traitement supplémentaire a été réalisé avec la population d'élevage pour tester la réponse des femelles au feuillage de carotte ou aux racines de carotte puisque cette population était nourrie exclusivement sur des racines de carottes. Le feuillage des plantes hôtes était placé de façon aléatoire aux extrémités du tube de verre en Y. Les charançons étaient privés de nourriture pendant 18 heures précédant l'expérience afin de stimuler la recherche de l'hôte. Les tests ont été réalisés entre 9h00 et 13h00, à température ambiante ( $\pm 23^{\circ}\text{C}$ ).

## *Statistiques*

La préférence d'une plante hôte a été déterminée en fonction du nombre total de femelles ayant franchi la ligne de décision (au-delà de 3 cm, Fig. 3.1) pour chacune des plantes hôtes testées. Dans un premier temps, un test d'ANOVA a été effectué afin de s'assurer que les charançons (toutes populations confondues) étaient davantage attirés par les plantes (présence d'odeur dans une ou l'autre des extrémités) que l'absence de choix et ainsi valider le dispositif expérimental. Les différences de distribution entre la plante d'origine, l'ensemble des plantes alternatives et l'absence de choix ont été testées à l'aide d'une ANOVA avec la fonction `aov` de R. Cette analyse nous permettait de valider l'efficacité de la méthode (s'il y avait davantage de choix vers l'odeur que d'absence de choix), ainsi que la réponse générale face aux odeurs (distribution des choix entre plante d'origine et plantes alternatives). La normalité des données a été analysée avec le `shapiro.test` et une transformation des données avec la racine carrée a été réalisée avec les populations d'élevage et du champ de céleri-rave. Par la suite, chacune des combinaisons, soit la plante hôte d'origine (carotte ou céleri-rave) et une plante alternative (persil, céleri, carotte, céleri-rave ou un témoin sans odeur) ont été analysées individuellement avec un test non paramétrique de G (seuil de signification  $\alpha = 0,05$ ) ainsi qu'avec une correction de Williams sous le logiciel R studio.

## **Résultats**

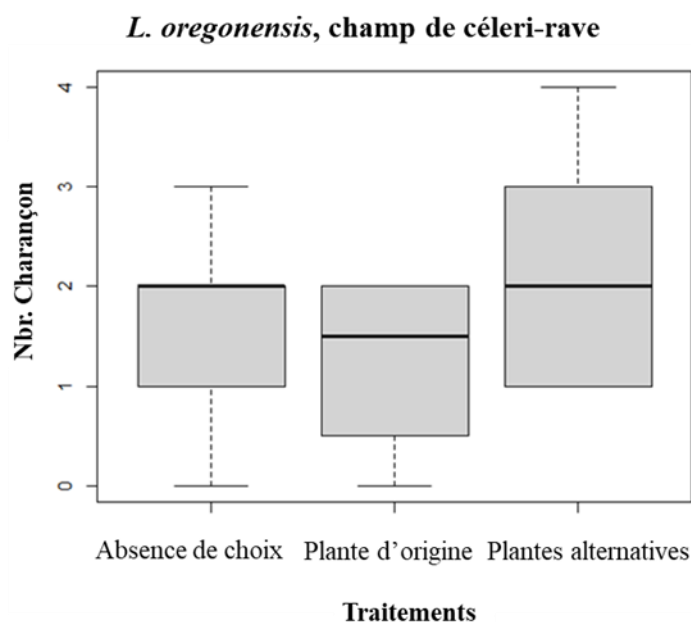
### *Tests en olfactomètre pour l'ensemble des populations*

Les charançons de la carotte se déplaçaient difficilement dans le dispositif en Y et beaucoup d'entre eux refusaient d'avancer et d'ainsi faire un choix. Cette proportion variait entre 25% et 33% des charançons selon les trois populations testées. Néanmoins, davantage de charançons ont effectué un choix envers les odeurs (une des deux extrémités de l'olfactomètre) comparativement à l'absence de choix ( $F_{(1, 68)} = 54.89$ ,  $p < 0,001$ ).

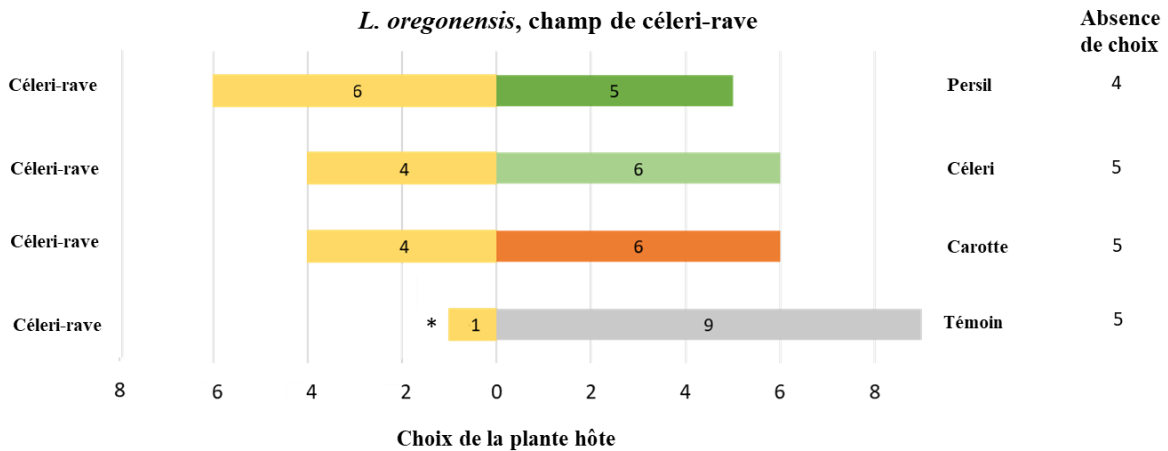
### *Charançons de la carotte provenant d'un champ de céleri-rave*

En comparant la distribution des charançons entre le choix de la plante d'origine, les plantes hôtes alternatives (carotte, céleri, persil, témoin sans odeur) ou l'absence de choix, aucune différence significative n'a été observée pour la population du champ de céleri-rave ( $F_{(2,33)} = 2,45$ ,  $p = 0,102$  ; Fig. 3.2). Cette situation soutient l'idée que le dispositif expérimental ne permettait pas de déterminer la

préférence olfactive du charançon puisqu'il se déplaçait de façon aléatoire entre les deux branches de l'olfactomètre ou l'extrémité de départ. Ensuite, le test non paramétrique de G n'a pas été en mesure de démontrer que les femelles du charançon de la carotte avaient une préférence envers une plante hôte particulière (persil :  $G = 0,09$ ,  $dl = 1$ ,  $p = 0,77$ , céleri et carotte :  $G = 0,38$ ,  $dl = 1$ ,  $p = 0,54$ ; Fig. 3.3). Cependant, les femelles ont préféré le témoin sans odeur à leur plante hôte d'origine, le céleri-rave ( $G = 7,01$ ,  $dl = 1$ ,  $p < 0,01$ ). De plus, le taux d'absence de choix s'avère élevé pour l'ensemble des combinaisons testées et varie entre 27 et 33 % des individus.



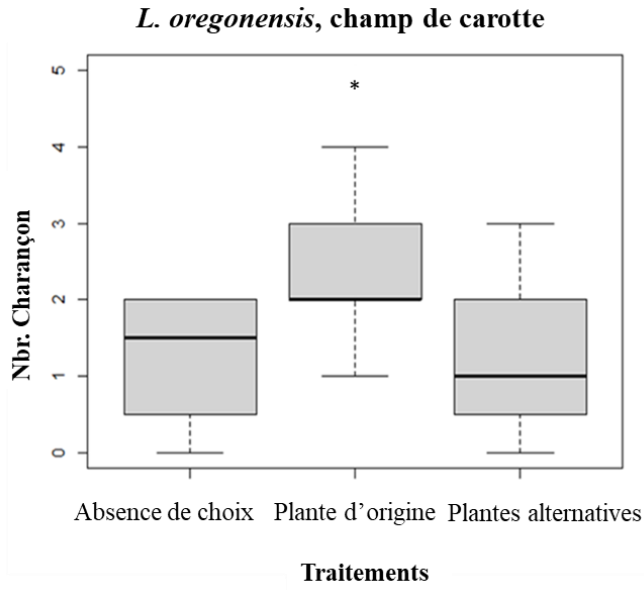
**Figure 3.2** Préférence en olfactomètre entre la plante hôte d'origine de *L. oregonensis* issu d'un champ de céleri-rave, les plantes alternatives (persil, céleri, carotte, témoin sans odeur) ainsi que l'absence de choix (aucun déplacement du charançon). (Test ANOVA, seuil fixé à,  $\alpha = 0,05$ ).



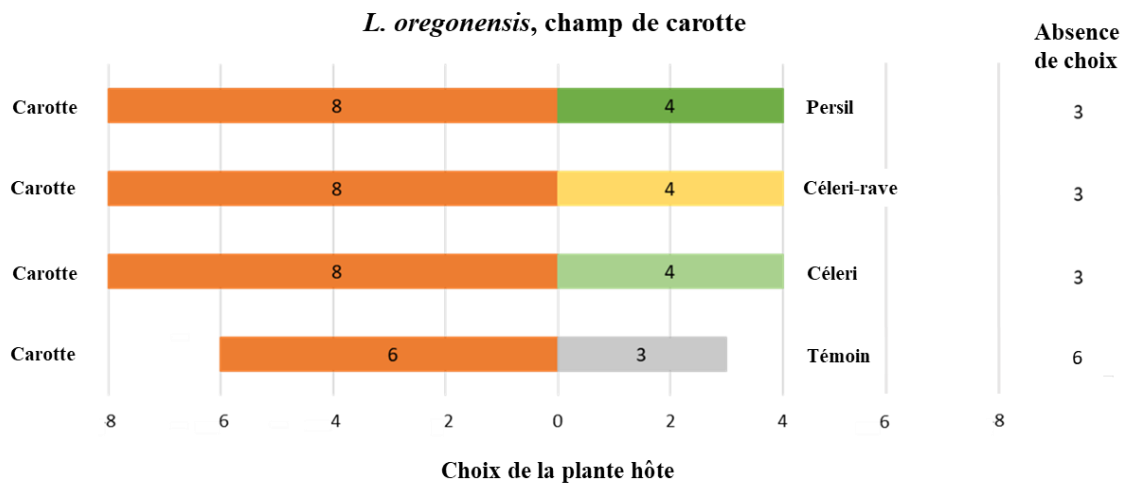
**Figure 3.3** Tests de préférence en olfactomètre entre la plante hôte de *L. oregonensis* provenant d'un champ de céleri-rave et trois autres plantes hôtes. L'astérisque représente un résultat significatif (seuil fixé à,  $\alpha = 0,05$ ) suite à un test de G avec une correction de Williams.

#### *Charançons de la carotte provenant d'un champ de carotte*

De façon générale, les charançons provenant du champ de carottes choisissaient davantage la plante d'origine (carotte) comparativement aux plantes alternatives (persil, céleri-rave, céleri, témoin sans odeur) ou l'absence de choix ( $F_{(2,33)} = 5,810$ ,  $p = 0,007$  ; Fig. 3.4). Toutefois, le test non paramétrique de G n'a pas été en mesure de démontrer que les femelles du charançon de la carotte avaient une préférence significative pour une plante hôte particulière (persil :  $G = 1,31$ ,  $dl = 1$ ,  $p = 0,25$  ; céleri-rave  $G = 1,31$ ,  $dl = 1$ ,  $p = 0,25$  et céleri :  $G = 1,31$ ,  $dl = 1$ ,  $p = 0,25$ ) (Fig. 3.5). Les femelles n'étaient pas davantage attirées par la plante hôte lorsqu'elle était comparée au témoin sans odeur ( $G = 0,97$ ,  $dl = 1$ ,  $p = 0,33$ ). De plus, le taux d'absence de choix s'avère plus élevé pour le témoin sans odeur (40 %) que pour les autres combinaisons de plantes hôtes (20 %).



**Figure 3.4** Préférence en olfactomètre entre la plante hôte d'origine de *L. oregonensis* issu d'un champ de carotte, les plantes alternatives (persil, céleri, céleri-rave, témoin sans odeur) ainsi que l'absence de choix (aucun déplacement du charançon). L'astérisque représente un résultat significatif (Test ANOVA, seuil fixé à,  $\alpha = 0,05$ ).

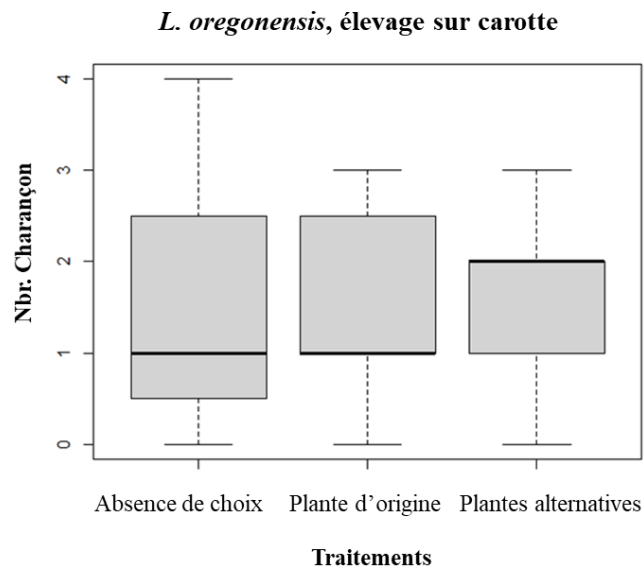


**Figure 3.5** Tests de préférence en olfactomètre entre la plante hôte de *L. oregonensis* provenant d'un champ de carotte et trois autres plantes hôtes. (Seuil fixé à,  $\alpha = 0,05$ ).

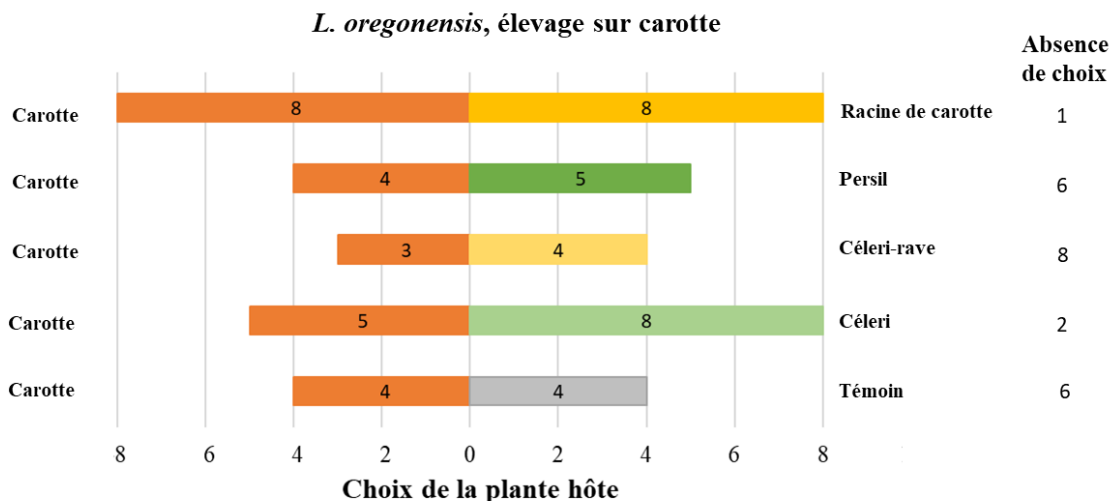


### *Charançons de la carotte en élevage nourris sur carotte*

Tout comme pour la population provenant du champ de céleri-rave aucune différence significative n'a été observée pour la population d'élevage quant à la distribution des charançons entre la plante d'origine, les plantes alternatives (persil, céleri-rave, céleri, témoin sans odeur) ou l'absence de choix ( $F_{(2,42)} = 0,57$ ,  $p = 0,572$ ; Fig.3.6). De plus, les tests non paramétriques de G n'ont pas été en mesure de démontrer que les femelles du charançon de la carotte avaient une préférence envers une plante hôte particulière (racine de carotte :  $G = 0$ ,  $dl = 1$ ,  $p = 1$ ; persil :  $G = 0,11$ ,  $dl = 1$ ,  $p = 0,75$ ; céleri-rave :  $G = 0,13$ ,  $dl = 1$ ,  $p = 0,72$  ; céleri :  $G = 0,67$ ,  $dl = 1$ ,  $p = 0,41$  et du témoin sans odeur :  $G = 0$ ,  $dl = 1$ ,  $p\text{-value} = 1$ ; Fig. 3.7). De plus, le taux d'absence de choix s'avère plus élevé pour le persil (40%), le céleri-rave (53 %) et le témoin sans odeur (40 %) que la racine de carotte (6 %) et le céleri (13 %).



**Figure 3.6** Préférence en olfactomètre entre la plante hôte d'origine de *L. oregonensis* issu d'un élevage, les plantes alternatives (persil, céleri, céleri-rave, racine de carotte, témoin sans odeur) ainsi que l'absence de choix (aucun déplacement du charançon). (Test ANOVA, seuil fixé à,  $\alpha = 0,05$ ).



**Figure 3.7** Tests de préférence en olfactomètre entre la plante hôte de *L. oregonensis* provenant d'une population d'élevage nourrie sur de la carotte et trois autres plantes hôtes ainsi que la racine de carotte. (Seuil fixé à,  $\alpha = 0,05$ ).

## Discussion

La présente étude n'a pu démontrer que les individus provenant des champs céleris-raves et de l'élevage avaient développé une préférence envers la plante hôte sur laquelle ils s'étaient développés. Pour les individus provenant du champ de carotte, une faible préférence envers la carotte a été observée. Néanmoins, cette préférence ne se traduisait pas par une exclusivité envers la carotte et toutes autres apiacées pouvait aussi attirer des individus. La faible capacité du dispositif expérimental à détecter des choix envers les plantes hôtes (forte proportion d'absence de choix) n'a pas permis dans tous les cas de supporter des résultats valides. Ainsi, le taux élevé d'absence de choix pouvant aller jusqu'à 53 % des individus testés, ainsi que l'absence de témoins significatifs envers les plantes hôtes lorsque les charançons étaient confrontés à un choix sans odeur, suggèrent que l'approche expérimentale pourrait présenter certaines lacunes. Plusieurs études utilisant la méthode de l'olfactomètre montrent un taux d'absence de choix élevé lorsque les insectes doivent choisir entre deux plantes hôtes (Webster et Cardé, 2017). L'alternative de l'olfactomètre à choix multiples (quatre ou six branches) permet de détecter plus facilement les préférences chez les insectes (Knolhoff et Heckel, 2014) et par le fait même, de diminuer ce taux élevé d'absence de choix. D'autre part, le taux d'absence de choix élevé peut aussi s'expliquer par le comportement de thanatose chez le charançon de la carotte qui le rend immobile en situation de danger (Justus et Long, 2019). Une période d'acclimatation dans le dispositif devrait être envisagée dans ce genre

d'expérience pour diminuer le niveau de stress des individus. De plus, le temps alloué pour effectuer un choix dans le dispositif expérimental pourrait être augmenté. Une étude de Pokopy *et al.* (1995) chez le charançon de la prune montre une plus grande réponse à partir de 30 minutes et lorsque dix individus étaient placés au même moment dans le dispositif expérimental. D'ailleurs, des tests olfactifs effectués avec le charançon de la carotte par Dacey (2020) étaient effectués durant 30 minutes à l'aide de 5 femelles et 5 mâles.

Sachant que ce ravageur a une faible capacité de dispersion (Boivin, 1999), l'utilisation de plusieurs plantes hôtes lui confère probablement une plus grande résilience envers son environnement où il doit faire face aux rotations des cultures. De plus, une étude sur le charançon de la carotte provenant de différents champs commerciaux en Ontario a aussi démontré qu'il n'avait pas de préférence envers une espèce d'apiacée en particulier (Dacey, 2020). La non spécificité envers une plante hôte en particulier a aussi été observée chez le charançon de la vigne *Otiorhynchus sulcatus* (F.) (Coleoptera : Curculionidae) ayant la capacité de se reproduire (même en petit nombre) sur plusieurs espèces de rosacées disponibles dans son environnement, lui conférant ainsi une meilleure valeur adaptative (Van Tol *et al.*, 2004). La corrélation positive entre la préférence de l'hôte et les performances liées à la qualité de la plante chez les herbivores a longtemps été pris pour acquis, mais de nombreuses études ne montrent aucune adéquation en ce sens (Thompson, 1988; Mayhew, 1997). Dans certains cas, les plantes hôtes qui semblaient de mauvaise qualité pour le développement des insectes se sont avérées bénéfiques puisqu'elles leurs permettaient de se protéger des prédateurs (Agrawal, 2000). Par exemple, une étude sur le diprion du pin sylvestre *Neodiprion sertifer* (Geoffroy) (Hymenoptera : Diprionidae) montrait une préférence de ponte sur des arbres à forte teneur en résine en présence d'ennemis naturels (Björkman *et al.*, 1997). Bien que la haute teneur en résine diminuait la valeur adaptative des larves, ce choix leurs procuraient une protection contre le parasitisme (Björkman *et al.*, 1997). Malgré que plusieurs études montent des associations entre la plasticité phénotypique de la préférence et la performance sur leurs hôtes, elles ne prennent pas en compte les pressions de sélection liées à l'évolution sur leur gamme d'hôtes (Björkman *et al.*, 1997). De plus, lorsque les tests de choix olfactifs sont combinés à des outils génomiques, les résultats deviennent plus robustes (Feder *et al.*, 2003 ; Knolhoff et Heckel, 2014) puisque l'ensemble des paramètres sont pris en considération afin d'établir des liens entre la préférence et l'évolution (Björkman *et al.*, 1997).

Notre étude sur la génétique des populations (Chapitre 2) ne montre pas de différenciation génétique entre les populations échantillonnées au Québec sur différentes plantes hôtes. Alors, l'absence de préférence

marquée envers les différentes plantes hôtes proposées dans cette étude suggère une grande plasticité phénotypique au sein des populations du charançon de la carotte. Par exemple, la population d'élevage, même si elle s'avère plus susceptible à la dérive génétique par l'absence de l'ajout de nouveaux individus depuis une quinzaine d'années, ne semble pas démontrer une préférence pour la carotte, qu'elle soit sous forme de feuille ou de racine. Toutefois, la population issue du champ de céleri-rave préférerait significativement le témoin sans odeur comparativement au céleri-rave, ce qui pourrait suggérer de la répulsion. Ce résultat pourrait s'expliquer par la libération de composés volatils différents de ceux libérés par le céleri (MacLeod et Ames, 1989) et la carotte (Guerin *et al.*, 1983), des cultures de plus grande importance dans le paysage agricole du Québec (Statistique Canada, 2019). La population provenant d'un champ de carotte ne montre pas de préférence significative envers sa plante hôte d'origine lorsque les espèces de plantes sont comparées par paires. Cependant, en s'attardant à l'ensemble des charançons ayant fait un choix entre la carotte et les autres plantes hôtes, on observe un résultat significatif envers la plante hôte d'origine. L'historique culturel d'où provenaient les femelles du charançon de la carotte, soit une ferme spécialisée dans la culture de la carotte depuis une trentaine d'années, pourrait expliquer ce résultat. Par exemple, une étude de Dávila-Flores *et al.* (2013), a démontré que la valeur adaptative de la cicadelle du maïs *Dalbulus maidis* (DeLong et Wolcott) (Hemiptera : Cicadellidae) a significativement augmenté avec la transition agronomique. Les cultures commerciales, axées sur le rendement, seraient moins habiles à se défendre contre l'herbivorie comparativement aux plantes hôtes sauvages (Rosenthal et Dirzo, 1997).

À ce jour, la rotation des cultures et les dates de semis plus tardives s'avèrent les moyens de lutte les plus efficaces pour éviter le maintien et l'augmentation des populations du charançon de la carotte dans les champs (Stevenson et Boivin, 1990; Dacey, 2020). Sachant que ce ravageur peut être attiré par toutes les espèces d'apiacées, le système de rotation devra privilégier d'autres cultures afin de réduire ses populations. D'autres investigations, telles que le taux d'oviposition, le taux de survie et le temps de développement sur leur spectre d'hôtes permettraient de mieux évaluer l'incidence du charançon de la carotte sur les cultures d'apiacées au Québec.

## Références

- Agrawal, A. A. (2000). Host-range evolution: adaptation and trade-offs in fitness of mites on alternative hosts. *Ecology*, 81(2), 500-508.
- Anderson, P., Sadek, M. M., Larsson, M., Hansson, B. S. et Thöming, G. (2013). Larval host plant experience modulates both mate finding and oviposition choice in a moth. *Animal Behaviour*, 85(6), 1169-1175.
- Baudoin, G. and Boivin, G. (1985) Effets d'accouplements répétés sur l'oviposition du charançon de la carotte, *Listronotus oregonensis* (Coleoptera: Curculionidae), en laboratoire. *Annales de la Société Entomologique du Québec*, 30, 23–7.
- Berlocher, S. (2006). The origin of an insect species. *American Entomologist*, 52(1), 10-10.
- Berlocher, S. H. (1998). Can sympatric speciation via host or habitat shift be proven from phylogenetic and biogeographic evidence? pp. 99-113 in D.J. Howard et S.H. Berlocher éd. Endless forms: species and speciation. *Oxford University Press, Oxford, U.K.*
- Bernays, E. A. et Chapman, R. F. (2007). Host-plant selection by phytophagous insects. *Chapman & Hall, New York, USA.*
- Björkman, C., Larsson, S. et Bommarco, R. (1997). Oviposition preferences in pine sawflies: a trade-off between larval growth and defence against natural enemies. *Oikos*, 79(1), 45-52.
- Boivin, G. (1999). Integrated management for carrot weevil. *Integrated Pest Management Reviews*, 4, 21-37.
- Brito, N. F., Moreira, M. F. et Melo, A. C. (2016). A look inside odorant-binding proteins in insect chemoreception. *Journal of Insect Physiology*, 95, 51-65.
- Bruce, T. J., Wadhams, L. J. et Woodcock, C. M. (2005). Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science*, 10(6), 269-274.
- Chapman, R. F. (2003). Contact chemoreception in feeding by phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*, 48(1), 455–484.
- Dacey, A. (2020). Improving the sustainable management of carrot weevil (*Listronotus oregonensis*) and carrot rust fly (*Psila rosae*) at the Holland Marsh, Ontario. University of Guelph, Ontario (M. Sc. dissertation).
- Dávila-Flores, A. M., DeWitt, T. J. et Bernal, J. S. (2013). Facilitated by nature and agriculture: performance of a specialist herbivore improves with host-plant life history evolution, domestication, and breeding. *Oecologia*, 173(4), 1425-1437.

- Davis, J. M. et Stamps, J. A. (2004). The effect of natal experience on habitat preferences. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(8), 411-416.
- Feder, J. L., Roethele, J. B., Filchak, K., Niedbalski, J. et Romero-Severson, J. (2003). Evidence for inversion polymorphism related to sympatric host race formation in the apple maggot fly, *Rhagoletis pomonella*. *Genetics*, 163(3), 939-953.
- Forbes, A. A. et Feder, J. L. (2006). Divergent preferences of *Rhagoletis pomonella* host races for olfactory and visual fruit cues. *Entomologia Experimentalis and Applicata*, 119(2), 121-127.
- Guerin, P. M., Städler, E. et Buser, H. R. (1983). Identification of host plant attractants for the carrot fly, *Psila rosae*. *Journal of Chemical Ecology*, 9(7), 843-861.
- Hallem, E. A., Dahanukar, A. et Carlson, J. R. (2006). Insect odor and taste receptors. *Annual Review of Entomology*, 51, 113-135.
- Justus, E. J. et Long, E. Y. (2019). Biology and management of the carrot weevil (Coleoptera: Curculionidae) in North America. *Journal of Integrated Pest Management*, 10(1), 1-8.
- Knolhoff, L. M. et Heckel, D. G. (2014). Behavioral assays for studies of host plant choice and adaptation in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, 59, 263-278.
- MacLeod, G. et Ames, J. M. (1989). Volatile components of celery and celeriac. *Phytochemistry*, 28(7), 1817-1824.
- Matsuo, T., Sugaya, S., Yasukawa, J., Aigaki, T. et Fuyama, Y. (2007). Odorant-binding proteins OBP57d and OBP57e affect taste perception and host-plant preference in *Drosophila sechellia*. *PLoS Biology*, 5(5), e118.
- Mayhew, P. J. (1997). Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. *Oikos*, 79(3), 417-428.
- Moreau, J., Rahme, J., Benrey, B. et Thiéry, D. (2008). Larval host plant origin modifies the adult oviposition preference of the female European grapevine moth *Lobesia botrana*. *Naturwissenschaften*, 95(4), 317-324.
- Park, I., Schwarzländer, M., Hinz, H. L., Schaffner, U. et Eigenbrode, S. D. (2019). A simple approach to evaluate behavioral responses of insect herbivores to olfactory and visual cues simultaneously: the double stacked y-tube device and portable volatile collection system. *Arthropod-Plant Interactions*, 13(1), 139-149.

- Petit, C., Le Ru, B., Dupas, S., Frérot, B., Ahuya, P., Kaiser-Arnauld, L., Harry, M. et Calatayud, P. A. (2015). Influence of dietary experience on the induction of preference of adult moths and larvae for a new olfactory cue. *PLoS One*, *10*(8), e0136169.
- Reddy, G. V. et Guerrero, A. (2004). Interactions of insect pheromones and plant semiochemicals. *Trends in Plant Science*, *9*(5), 253-261.
- Réseau d'avertissements phytosanitaires (RAP) (2019) Carotte et céleri, Avertissement No 6, 20 juin 2019. <https://www.agrireseau.net/rap/documents/100504/carotte-et-celeri-avertissement-no-6-20-juin-2019?s=3300&a=1&r=charan%C3%A7on+de+la+carotte> (Consulté le 2021-04-02)
- Rosenthal, J. P. et Dirzo, R. (1997). Effects of life history, domestication and agronomic selection on plant defence against insects: evidence from maizes and wild relatives. *Evolutionary Ecology*, *11*(3), 337-355.
- Rospars, J. P. (1988). Structure and development of the insect antennodeutocerebral system. *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, *17*(3), 243-294.
- Shanbhag, S. R., Müller, B. et Steinbrecht, R. A. (2000). Atlas of olfactory organs of *Drosophila melanogaster*: 2. Internal organization and cellular architecture of olfactory sensilla. *Arthropod Structure and Development*, *29*(3), 211-229.
- Statistique Canada. (2019). Superficie, production et valeur à la ferme des légumes. <https://www150.statcan.gc.ca/t1/tb11/fr/tv.action?pid=3210036501&pickMembers%5B0%5D=1.14&pickMembers%5B1%5D=3.5> (Consulté le 2019-04-17)
- Stevenson, A. B. et Boivin, G. (1990). Interaction of temperature and photoperiod in control of reproductive diapause in the carrot weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology*, *19*, 836-841.
- Thompson, J. N. (1988). Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *47*(1), 3-14.
- Tooker, J. F., Crumrin, A. L. et Hanks, L. M. (2005). Plant volatiles are behavioral cues for adult females of the gall wasp *Antistrophus rufus*. *Chemoecology*, *15*(2), 85-88.
- Van Tol, R. W. H. M., Van Dijk, N. et Sabelis, M. W. (2004). Host plant preference and performance of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus*. *Agricultural and Forest Entomology*, *6*(4), 267-278.
- Vertacnik, K. L. et Linnen, C. R. (2017). Evolutionary genetics of host shifts in herbivorous insects: insights from the age of genomics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1389*(1), 186-212.

- Visser, J. H. (1986). Host odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*, 31, 121-144.
- Walsh, B. J. (1864). On phytophagic varieties and phytophagic species. *Proceedings of the Entomological Society of Philadelphia*, 3, 403-430.
- Webster, B. et Cardé, R. T. (2017). Use of habitat odour by host-seeking insects. *Biological Reviews*, 92(2), 1241-1249.



#### 4. Conclusion générale

L'objectif de cette étude était de déterminer si la distance géographique et la plante hôte représentaient des facteurs de différenciation génétique chez les populations du charançon de la carotte *L. oregonensis* en Amérique du Nord. Les résultats ont démontré que la distance géographique influençait significativement la structure génétique des populations, alors qu'aucune signature génétique distincte n'a pu être observée entre les populations issues de différentes plantes hôtes (carotte, persil, céleri et céleri-rave).

Les deux méthodes de séquençage utilisées se sont avérées complémentaires puisqu'elles valident deux fois plutôt qu'une les résultats obtenus. La forte corrélation entre les valeurs de  $F_{ST}$  de l'ADNmt et celles des SNPs ont permis de consolider l'hypothèse de l'isolement par la distance. De plus, les haplotypes découlant de l'analyse de l'ADNmt ont permis de déterminer que les populations du charançon de la carotte se sont différenciées depuis longtemps en Amérique du Nord. La Nouvelle-Écosse s'est avérée la population la plus différenciée de toutes celles échantillonnées lors de l'analyse du GBS. Au contraire, l'analyse de l'ADN mitochondriale COI démontrait une plus grande proximité avec les populations du Québec. Cela suggère une différenciation génétique récente des populations de la Nouvelle-Écosse puisque l'analyse de l'ADN nucléaire permet de révéler des changements plus récents de l'évolution d'une espèce comparativement à l'ADNmt, laquelle représente une région très conservée et remonte plus loin dans l'histoire de vie (Avisé, 1991 ; Brumfield *et al.*, 2003). Également, la colonisation récente des cultures de carottes en Nouvelle-Écosse par ce ravageur, soit en 1992 selon LeBlanc et Boivin (1993), pourrait expliquer ce résultat.

Cette première caractérisation de la structure génétique du charançon de la carotte révèle une différenciation génétique marquée entre les régions échantillonnées. Tel qu'anticipé, en regard à la faible mobilité de l'espèce en raison des déplacements effectués essentiellement via la marche (Pepper et Hagmann, 1938 ; Perron, 1971 ; Boivin, 1999), ces résultats démontrent que le charançon de la carotte, indigène de l'Amérique du Nord, semble avoir une faible capacité de dispersion à travers son aire de répartition. La disponibilité des ressources, circonscrites dans chacune des régions, doit aussi limiter les déplacements de ce ravageur. La distance géographique, étant le facteur déterminant de cette étude, mériterait d'être investigué davantage. Par exemple, la vitesse à laquelle le charançon de la carotte peut se déplacer d'un champ à l'autre n'a toujours pas été mesurée. Une étude sur la dispersion à courte distance

du charançon du cotonnier , *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera : Curculionidae), a permis d'évaluer la dispersion de ce ravageur en fonction du moment de l'année (printemps et automne) et en fonction de différentes cultures environnantes (Showler, 2006). Des pièges-appâts étaient disposés entre 0 et 20 m de la bordure de champ aux quatre points cardinaux ainsi qu'un seul piège au centre du champ. Ce dispositif expérimental serait intéressant à utiliser avec le charançon de la carotte afin d'effectuer des tests de marquage et de recapture. Une centaine de charançons pourraient être marqués et relâchés au centre des champs au printemps en comparant leur vitesse de dispersion selon s'ils se trouvent dans des cultures de plantes hôtes telle que la carotte ou d'autres cultures comme la laitue. Les données de la distance parcourue en fonction du nombre de jours nous permettrait d'extrapoler sur la capacité de dispersion du charançon de la carotte à l'échelle locale après l'hivernation et guiderait les producteurs par rapport à la distance à respecter afin d'optimiser la rotation dans les cultures d'apiacées.

Des recherches plus approfondies sur les facteurs de différenciation génétique aideront à adapter des mesures locales de lutte antiparasitaire contre ce ravageur agricole. Une caractérisation plus spécifique de l'ADN génomique et transcriptomique du charançon de la carotte selon les différentes régions échantillonnées pourrait circonscrire d'autres facteurs d'intérêt (ex. le voltinisme et la résistance aux insecticides). Ces facteurs pourraient nous éclairer sur les raisons possibles de la recrudescence des dommages associés au charançon de la carotte dans les cultures d'apiacées en Amérique du Nord (Boivin, 2013; Telfer *et al.*, 2018; Dacay, 2020). La résistance aux insecticides menace le succès des programmes de lutte contre cet insecte ravageur. Telfer *et al.* (2018) ont démontré que des charançons de la carotte provenant de champs commerciaux en Ontario avaient développé une résistance aux insecticides foliaires. Même à des concentrations de deux à quatre fois plus élevées que la dose recommandée, l'insecticide induisait une faible mortalité (10 à 25 %) (Telfer *et al.*, 2018). Il serait intéressant d'évaluer les niveaux de résistance aux insecticides dans différentes régions et d'identifier, s'il y a lieu, des marqueurs génétiques (SNPs) associés afin de développer un outil de détection moléculaire des populations résistantes. Toutefois, les mécanismes de résistance ne sont pas toujours associés à des mutations. Une étude sur le métabolisme des insectes permettant la détoxification des insecticides a identifié divers gènes impliqués et codant pour des enzymes (ex. estérase, glutathion S-transférase, cytochrome P450 monooxygénases) qui sont surexprimés afin d'éliminer les molécules toxiques (Bass et Field, 2011).

La photopériode, dans les climats tempérés, s'avère un facteur déterminant chez les insectes afin qu'ils puissent synchroniser leur cycle de vie avec les variations saisonnières (Tauber *et al.*, 1986). Une

variation dans la réponse à la photopériode peut s'observer au sein des populations d'arthropodes en fonction d'un gradient latitudinal (Bradshaw, 1976; Taylor et Spalding, 1986; Masaki, 1999). De plus, cette divergence au sein d'une même espèce peut résulter d'une variation génétique (Taylor et Karban, 1986; Ishihara, 2000). Comme il a été démontré chez la mouche du chou (Biron *et al.*, 2002), certains insectes possèdent des génotypes précoces et tardifs permettant ainsi d'améliorer leur succès reproducteur, puisqu'ils augmentent leurs chances de compléter leur cycle de vie, et ce, malgré des conditions environnementales défavorables. De plus, une étude de Boivin *et al.* (2004) sur le carpocapse de la pomme *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera : Tortricidae) montre des divergences dans le synchronisme de la photopériode chez ce ravageur lors de l'induction de la diapause. De plus, leurs résultats montrent une corrélation entre l'acquisition du gène de résistance aux insecticides et l'entrée en diapause de façon significativement plus précoce que les individus sensibles (Boivin *et al.*, 2004). Bref, une investigation sur les différences génétiques et les réponses à la photopériode chez différentes populations du charançon de la carotte à travers l'Amérique du Nord serait essentielle.

L'étude comportementale examinait la capacité des femelles du charançon de la carotte à développer une préférence envers une plante hôte sur laquelle elles s'étaient développées. L'objectif était d'évaluer si les composés volatils de la carotte, du persil, du céleri et du céleri-rave avaient le même potentiel d'attraction chez le charançon de la carotte et si une adéquation s'observait entre le choix de la plante hôte et la structure génétique de ce dernier. Cependant, au Chapitre 2, nous n'avons pas été en mesure de démontrer que la plante hôte était un facteur déterminant de différenciation génétique entre les individus de chacune des populations échantillonnées au Québec. Alors, les variations potentielles dans le choix de la plante hôte seraient davantage liés à la plasticité phénotypique qu'à la différenciation génétique. Toutefois, la population issue d'un champ de carotte et ayant un historique sur cette culture depuis plus de soixante ans a démontré une préférence, bien que faible, envers sa culture d'origine. Par contre, la population issue du champ de carotte était en mesure d'accepter les diverses plantes hôtes offertes. Cette préférence non exclusive pourrait expliquer la faible différenciation génétique entre les populations issues de cultures différentes au Québec. De plus, les études démontrant une différenciation génétique entre les populations issues de plantes d'hôtes différentes proviennent majoritairement de populations isolées, ce qui les prédisposent aux adaptations locales (Drès et Mallet, 2002 ; Kawecki et Ebert, 2004). Toutefois, les populations du Québec, même si elles ont été échantillonnées chez des producteurs spécialisés dans une seule culture d'apiacée, n'étaient pas soumises à un isolement reproducteur.

Plusieurs paramètres sont à considérer lorsqu'on évalue la préférence de l'hôte chez une espèce, tels que la disponibilité et la qualité de la ressource (Singer *et al.*, 1988; Hawthorne et Via, 2001). Par exemple, une expérience en laboratoire sur le charançon de la carotte avec une lignée nourrie sur une plante optimale (ex. carotte) et une autre nourrie sur une plante potentiellement moins optimale (ex. persil) nous permettrait d'évaluer s'il y a des différences dans le temps de développement et le taux de survie ainsi qu'une évolution dans les préférences après plusieurs générations. D'autre part, en effectuant des tests de choix à l'aide de tentes d'exclusions, cela permettrait d'éviter une grande proportion d'absence de choix obtenue dans l'expérience avec l'olfactomètre et de permettre aux charançons de la carotte de choisir parmi plusieurs espèces d'apiacées au même moment. De plus, une étude sur les préférences entre les plantes hôtes cultivées et sauvages (par exemple, les plantes se retrouvant en bordure de champ) permettrait de mieux déterminer l'impact de la plante hôte dans son environnement naturel. Parfois, les plantes hôtes sauvages peuvent augmenter les populations naturelles d'un ravageur de façon importante. Ces ressources alimentaires permettent le développement des larves et la reproduction des adultes comme il a été démontré chez plusieurs espèces de punaises pentatomidés (Panizzi, 1997). Finalement, une meilleure connaissance des plantes hôtes sauvages du charançon de la carotte permettrait de cibler les espèces d'apiacées en bordure de champ qui favorisent le maintien de ses populations dans les milieux agricoles. De surcroît, ces espèces pourraient être utilisées comme cultures-pièges afin d'attirer ce ravageur. En installant des cultures attractives en bordure de champs avant la culture d'intérêt économique, les ravageurs y sont attirés et l'on peut traiter uniquement cette bordure (Cárcamo *et al.*, 2007). Cette méthode a déjà été éprouvée dans les prairies canadiennes pour contrôler le charançon de la graine du chou dans le canola (Cárcamo *et al.*, 2007).

Finalement, cette première étude sur la génétique des populations du charançon de la carotte ouvre la voie vers d'autres questions relatives aux facteurs de différenciation chez ce ravageur dans le futur. À l'aide d'un génome de référence de plus en plus détaillé, il sera possible de sélectionner des loci sous sélection et de tester des marqueurs ayant une fonction biologique pouvant expliquer les phénotypes observés. De plus, la biologie moléculaire amène des outils supplémentaires afin de mieux comprendre les raisons de la recrudescence des dommages liés au charançon de la carotte dans les champs. L'augmentation des températures dû au réchauffement climatique permettant au charançon de la carotte d'effectuer une génération supplémentaire pourrait expliquer le phénomène. La distance s'avère un facteur important de différenciation génétique et pourrait aussi être expliqué par des variations dans la phénologie de l'insecte en fonction d'un gradient latitudinal.

## Références générales

- AAC (Agriculture et Agroalimentaire Canada). (2017). Profil de la culture de la carotte au Canada, 2015. Préparé par le Programme de réduction des risques liés aux pesticides, Centre de la lutte antiparasitaire. <http://publications.gc.ca/site/fra/9.848292/publication.html> (consulté le 2018-10-05).
- Aardema, M. L., Scriber, J. M. et Hellmann, J. J. (2011). Considering local adaptation in issues of lepidopteran conservation—a review and recommendations. *The American Midland Naturalist*, 165(2), 294-303.
- Abuzid, I., Roff, M. M., Salam, M., Kermani, N., Yahaya, M. H. et Idris, A. B. (2014). Effects of chinese mustard *Brassica juncea* volatiles on the olfactory responses of *Plutella xylostella*. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 22(4), 584-590.
- Altermatt, F. (2010). Tell me what you eat and I'll tell you when you fly: diet can predict phenological changes in response to climate change. *Ecology Letters*, 13(12), 1475-1484.
- Anderson, P. et Anton, S. (2014). Experience-based modulation of behavioural responses to plant volatiles and other sensory cues in insect herbivores. *Plant, Cell and Environment*, 37(8), 1826-1835.
- Andrews, K. R., Good, J. M., Miller, M. R., Luikart, G. et Hohenlohe, P. A. (2016). Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Reviews Genetics*, 17(2), 81-92.
- Arias, O., Cordeiro, E., Corrêa, A. S., Domingues, F. A., Guidolin, A. S. et Omoto, C. (2019). Population genetic structure and demographic history of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): Implications for insect resistance management programs. *Pest Management Science*, 75(11), 2948-2957.
- Avise, J.C. (1991). Ten unorthodox perspectives on evolution prompted by comparative population genetic findings on mitochondrial DNA. *Annual Review of Genetics*, 25(1), 45-69.
- Bass, C. et Field, L. M. (2011). Gene amplification and insecticide resistance. *Pest Management Science*, 67(8), 886-890.
- Beaman, J. E., White, C. R. et Seebacher, F. (2016). Evolution of plasticity: mechanistic link between development and reversible acclimation. *Trends in Ecology and Evolution*, 31(3), 237-249.
- Bélaïr, G. et Boivin, G. (1995). Evaluation of *Steinernema carpocapsae* (Weiser) for control of carrot weevil adults, *Listronotus oregonensis* (Leconte)(Coleoptera: Curculionidae), in organically grown carrots. *Biocontrol Science and Technology*, 5(2), 225-232.
- Becquet, C. et Przeworski, M. (2007). A new approach to estimate parameters of speciation models with application to apes. *Genome Research*, 17(10), 1505-1519.

- Birky, C. W., Fuerst, P. et Maruyama, T. (1989). Organelle gene diversity under migration, mutation, and drift: equilibrium expectations, approach to equilibrium, effects of heteroplasmic cells, and comparison to nuclear genes. *Genetics*, 121(3), 613-627.
- Biron, D.G., Coderre, D., Boivin, G., Brunel, E. et Nénon, J.P. (2002). Genetic variability and expression of phenological and morphological differences in populations of *Delia radicum* (Diptera: Anthomyiidae). *The Canadian Entomologist*, 134, 311-327.
- Blatt, S., McDonald, M. R. et Mlynarek, J. (2021) Entomopathogenic nematodes for control of carrot weevil: efficacy and longevity in muck and mineral soils. *Pest Management Science*. doi.org/10.1002/ps.6272
- Boivin, G. (2013). 30 *Listronotus oregonensis* (LeConte), Carrot Weevil (Coleoptera: Curculionidae). In Mason, P.G et Gillespie, D.R. (éds), Biological Control Programmes in Canada 2001–2012, *CABI, Wallingford, UK*, pp. 2014-220.
- Boivin, T., Bouvier, J. C., Beslay, D. et Sauphanor, B. (2004). Variability in diapause propensity within populations of a temperate insect species: interactions between insecticide resistance genes and photoperiodism. *Biological Journal of the Linnean Society*, 83(3), 341-351.
- Boivin, G. (1999). Integrated management for carrot weevil. *Integrated Pest Management Reviews*, 4(1), 21-37.
- Boivin, G. (1994). Carrot weevil. In Howard, R. J., Garland, J. A. et Seaman, W. L. (éds.), Diseases and pests of vegetable crops in Canada. *The Canadian Phytopathological Society and the Entomological Society of Canada, Ottawa, Canada*, pp.78-79.
- Boivin, G. (1986). *Anaphes sordidatus* (Girault) (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasite of the carrot weevil, *Listronotus oregonensis* (Le Conte). *The Canadian Entomologist*, 118(4), 393-394.
- Bohonak, A. J. (2002). IBD (isolation by distance): a program for analyses of isolation by distance. *Journal of Heredity*, 93(2), 153-154.
- Boyce, A. M. (1927). A study of the biology of the parsley stalk-weevil *Listronotus Latiusculus* Boheman (Coleoptera: curculionidae). *Journal of Economic Entomology*, 20(6), 814-821.
- Bradshaw, W. E. (1976). Geography of photoperiodic response in diapausing mosquito. *Nature*, 262(5567), 384-386.
- Broquet, T. et Petit, E.J. (2009). Molecular estimation of dispersal for ecology and population genetics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, 193-216.

- Bruce, T. J. et Pickett, J. A. (2011). Perception of plant volatile blends by herbivorous insects—finding the right mix. *Phytochemistry*, 72(13), 1605-1611.
- Brumfield, R. T., Beerli, P., Nickerson, D. A. et Edwards, S. V. (2003). The utility of single nucleotide polymorphisms in inferences of population history. *Trends in Ecology and Evolution*, 18(5), 249-256.
- Bush, G. L. (1969). Sympatric host race formation and speciation in frugivorous flies of the genus *Rhagoletis* (Diptera, Tephritidae). *Evolution* 23, 237-251.
- Butlin, R. K. (2005). Recombination and speciation. *Molecular Ecology*, 14(9), 2621-2635.
- Cárcamo, H. A., Dunn, R., Dossall, L. M. et Olfert, O. (2007). Managing cabbage seedpod weevil in canola using a trap crop—A commercial field scale study in western Canada. *Crop Protection*, 26(8), 1325-1334.
- Chaput, J. (1993) Integrated Pest Management for Onions, Carrots, Celery and Lettuce in Ontario: A Handbook for Growers, Scouts and Consultants. *Ontario Ministry of Agriculture and Food Field Services, Central and North Region Pest Management Section, Ontario, Canada*, 67 pp.
- Chittenden, F. H. (1909). The parsley stalk weevil. *United States Department of Agriculture Bulletin*, 82, 14-19.
- Cobb, N.S. et Whitham, T.G. (1993). Herbivore deme formation on individual trees: a test case. *Oecologia*, 94(4), 496-502.
- Collins, R.D. et Grafius, E. (1984). A literature review of the carrot weevil, *Listronotus oregonensis*. *Department of Entomology, Michigan State University, East Lansing, Michigan, Report*, 14, p. 9.
- Conner, J. K. et Hartl D. L. (2004). A primer of ecological genetics. *Sinauer Associates Incorporated. Sunderland, MA*, 304p.
- Cook, S. M., Smart, L. E., Martin, J. L., Murray, D. A., Watts, N. P. et Williams, I. H. (2006). Exploitation of host plant preferences in pest management strategies for oilseed rape (*Brassica napus*). *Entomologia Experimentalis and Applicata*, 119(3), 221-229.
- Crnokrak, P. et Barrett, S. C. (2002). Perspective: purging the genetic load: a review of the experimental evidence. *Evolution*, 56(12), 2347-2358.
- Crow, J. F. et Kimura, M. (1970). An introduction to population genetics theory. *An introduction to population genetics theory*. Harper and Row, New York.

- Dacey, A. (2020). Improving the sustainable management of carrot weevil (*Listronotus oregonensis*) and carrot rust fly (*Psila rosae*) at the Holland Marsh, Ontario. University of Guelph, Ontario (M. Sc. dissertation).
- Denno, R. F., Roderick, G. K., Olmstead, K. L. et Dobel, H. G. (1991). Density-related migration in planthoppers (Homoptera: Delphacidae): the role of habitat persistence. *The American Naturalist*, 138(6), 1513-1541.
- DeSalle, R. et Giddings, L.V. (1986). Discordance of nuclear and mitochondrial DNA phylogenies in Hawaiian *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83(18), 6902-6906.
- Dieni, A., Brodeur, J. et Turgeon, J. (2016). Reconstructing the invasion history of the lily leaf beetle, *Lilioceris lili*, in North America. *Biological Invasions*, 18(1), 31-44.
- Drès, M. et Mallet, J. (2002). Host races in plant-feeding insects and their importance in sympatric speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 357(1420), 471-492.
- Edmunds, G.F. et Alstad, D.N. (1978). Coevolution in insect herbivores and conifers. *Science*, 199(432), 941-945.
- Elshire, R.J., Glaubitz, J.C., Sun, Q., Poland, J.A., Kawamoto, K., Buckler, E.S. et Mitchell, S.E. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PloS one*, 6(5), e19379.
- Erickson, R. O. (1945). The *Clematis fremontii* var. *riehlii* population in the Ozarks. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 32(4), 413-460.
- Erlandson, M. A., Mori, B. A., Coutu, C., Holowachuk, J., Olfert, O. O., Garipey, T. D. et Hegedus, D. D. (2019). Examining population structure of a bertha armyworm, *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae), outbreak in western North America: Implications for gene flow and dispersal. *PLOS ONE*, 14(6), e0218993.
- Feder, J. L., Berlocher, S. H., Roethele, J. B., Dambroski, H., Smith, J. J., Perry, W. L., Gavrilovic, V., Filchak, K. E., Rull, J. et Aluja, M. (2003). Allopatric genetic origins for sympatric host-plant shifts and race formation in *Rhagoletis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(18), 10314-10319.
- Folmer, O. Black M. Hoeh W. Lutz R. et Vrijenhoek R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294-299.



- Forbes, A. A., Devine, S. N., Hippee, A. C., Tvedte, E. S., Ward, A. K., Widmayer, H. A. et Wilson, C. J. (2017). Revisiting the particular role of host shifts in initiating insect speciation. *Evolution*, *71*(5), 1126-1137.
- Gadenne, C., Barrozo, R. B. et Anton, S. (2016). Plasticity in insect olfaction: to smell or not to smell?. *Annual Review of Entomology*, *61*, 317-333.
- Gagnon, A. È., Arsenault-Labrecque, G., Bourgeois, G., Bourdages, L., Grenier, P. et Roy, M. (2013). Études de cas pour faciliter une gestion efficace des ennemis des cultures dans le contexte de l'augmentation des risques phytosanitaires liés aux changements climatiques. *Rapport final de projet*, Ouranos, 183p.
- Gagnon, A. È., Boivin, G., Bélair, G. et Mimee, B. (2019). Prevalence of a nematode castrator of the carrot weevil and impact on fecundity and survival. *Parasitology*, *146*(6), 702-707.
- Geier, M. et Boeckh, J. (1999). A new Y-tube olfactometer for mosquitoes to measure the attractiveness of host odours. *Entomologia Experimentalis and Applicata*, *92*(1), 9-19.
- Grafius, E. et Collins, R. D. (1986). Overwintering sites and survival of the carrot weevil, *Listronotus oregonensis* (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology*, *15*(1), 113-117.
- Grafius, E. J., Otto, M. A. et Collins, R. D. (1983). Detection and control of carrot weevil. *Cooperative Extension Service, Michigan State University. E-890*(2), p.2.
- Greenbank, D. O., Schaefer, G. W. et Rainey, R. C. (1980). Spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) moth flight and dispersal: new understanding from canopy observations, radar, and aircraft. *The Memoirs of the Entomological Society of Canada*, *112*(S110), 1-49.
- Grez, A. A. et Villagran, P. (2000). Effects of structural heterogeneity of a laboratory arena on the movement patterns of adult *Eriopis connexa* and *Hippodamia variegata* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology*, *97*(4), 563-566.
- Guillot, G., Jónsson, H., Hinge, A., Manchih, N. et Orlando, L. (2015). Accurate continuous geographic assignment from low-to high-density SNP data. *Bioinformatics*, *32*(7), 1106-1108.
- Hanks, L.M. et Denno, R.F. (1994). Local adaptation in the armored scale insect *Pseudaulacaspis pentagona* (Homoptera: Diaspididae) . *Ecology*, *75*, 2301–2310.
- Harrison, R. G. (1980). Dispersal polymorphisms in insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *11*(1), 95-118.
- Hawthorne, D. J. et Via, S. (2001). Genetic linkage of ecological specialization and reproductive isolation in pea aphids. *Nature*, *412*(6850), 904-907.

- Harris, H.M. (1926). A new carrot pest, with notes on its life history. *Journal of Economic Entomology*, 19, 494-96.
- Hébert, C., Berthiaume, R., Bauce, E. et Brodeur, J. (2006). Geographic biotype and host-associated local adaptation in a polyphagous species, *Lambdina fiscellaria* (Lepidoptera: Geometridae) feeding on balsam fir on Anticosti Island, Canada. *Bulletin of entomological research*, 96(6), 619-627.
- Hebert, P. D., Cywinska, A., Ball, S. L. et Dewaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1512), 313-321.
- Henderson, L.S. (1940) Revision of the genus *Listronotus* (Coleoptera: Curculionidae). *University of Kansas Science Bulletin*, 26, 215–337.
- Hereford, J. (2009). A quantitative survey of local adaptation and fitness trade-offs. *The American Naturalist*, 173(5), 579-588.
- Hoffmann, A. A. et Ross, P. A. (2018). Rates and patterns of laboratory adaptation in (mostly) insects. *Journal of Economic Entomology*, 111(2), 501-509.
- Hoffmann, A. A. (2017). Rapid adaptation of invertebrate pests to climatic stress?. *Current opinion in insect science*, 21, 7-13.
- Hoffmann, A. A., Anderson, A. et Hallas, R. (2002). Opposing clines for high and low temperature resistance in *Drosophila melanogaster*. *Ecology letters*, 5(5), 614-618.
- Hoffmann, A. A. et Sgro, C. M. (2011). Climate change and evolutionary adaptation. *Nature*, 470(7335), 479-485.
- Hoffmann, A. A. et Parsons, P. A. (1984). Olfactory response and resource utilization in *Drosophila*: interspecific comparisons. *Biological Journal of the Linnean Society*, 22(1), 43-53.
- Hooper, L.R., LeBlanc, J.P.R. et Boivin, G. (1996). The detection of *Anaphes* sp. nov. (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of the carrot weevil in Nova Scotia. *Phytoprotection*, 77, 79-82.
- Hopkins, A. D. (1916). Economic investigations of the scolytid bark and timber beetles of North America. *US Department of Agriculture Program of work for 1917*, p. 353.
- Huber, J. T., Côté, S. et Boivin, G. (1997). Description of three new *Anaphes* species (Hymenoptera: Mymaridae), egg parasitoids of the carrot weevil, *Listronotus oregonensis* (LeConte)(Coleoptera: Curculionidae), and redescription of *Anaphes sordidatus* (Girault). *The Canadian Entomologist*, 129(5), 959-977.

- Ishihara, M. (2000). Effect of variation in photoperiodic response on diapause induction and developmental time in the willow leaf beetle, *Plagioderia versicolora*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 96(1), 27-32.
- James, P. M., Cooke, B., Brunet, B. M., Lumley, L. M., Sperling, F. A., Fortin, M. J., Quinn, V. S. et Sturtevant, B. R. (2015). Life-stage differences in spatial genetic structure in an irruptive forest insect: implications for dispersal and spatial synchrony. *Molecular Ecology*, 24(2), 296-309.
- Justus, E. J. et Long, E. Y. (2019). Biology and management of the carrot weevil (Coleoptera: Curculionidae) in North America. *Journal of Integrated Pest Management*, 10(1), 1-8.
- Kawecki, T. J. et Ebert, D. (2004). Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters*, 7, 1225–1241.
- Karp, G. (2010). Biologie cellulaire et moléculaire. *De Boeck, Bruxelles, Belgique*, 818p.
- King, P. S. (1987). Macro-and microgeographic structure of a spatially subdivided beetle species in nature. *Evolution*, 41(2), 401-416.
- Knolhoff, L. M. et Heckel, D. G. (2014). Behavioral assays for studies of host plant choice and adaptation in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, 59, 263-278.
- Knowlton, N. et Weigt, L.A. (1998). New dates and new rates for divergence across the Isthmus of Panama. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 265(1412), 2257-2263.
- Komdeur, J. (1992). Importance of habitat saturation and territory quality for evolution of cooperative breeding in the *Seychelles warbler*. *Nature*, 358(6386), 493-495.
- Lamb, R.J. et Boivin, G. (2017). Population variability of a native and an introduced herbivore of carrots (Apiaceae). *The Canadian Entomologist*, 149, 592-99.
- LeBlanc, J.-P. R. et Boivin, G. (1993). Une note sur la présence du charançon de la carotte en Nouvelle-Écosse. *Phytoprotection*, 74, 113-115.
- Lemay, J., Telfer, Z., Scott-Dupree, C. et McDonald, M. R. (2018). The impact of the carrot rust fly and carrot weevil integrated pest management program on the ground-dwelling beetle complex in commercial carrot fields at the holland Marsh, Ontario, Canada. *Environmental Entomology*, 47(4), 788-794.
- Linn, C., Feder, J. L., Nojima, S., Dambroski, H. R., Berlocher, S. H. et Roelofs, W. (2003). Fruit odor discrimination and sympatric host race formation in *Rhagoletis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(20), 11490-11493.

- Masaki, S. (1999). Seasonal adaptations of insects as revealed by latitudinal diapause clines. *Entomological Science*, 2(4), 539-550.
- Machado, V., Wunder, M., Baldissera, V. D., Oliveira, J. V., Fiúza, L.M. et Nagoshi, R. N. (2008). Molecular characterization of host strains of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Southern Brazil. *Annals of the Entomological Society of America*, 101(3), 619-626.
- Maia, M. F. et Moore, S. J. (2011). Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. *Malaria journal*, 10(1), 1-15.
- Majka, C.G., Anderson, R.S. et McCorquodale, D.B. (2007). The weevils (Coleoptera: Curculionoidea) of the Maritime Provinces of Canada, II: new records from Nova Scotia and Prince Edward Island and regional zoogeography. *The Canadian Entomologist*, 139, 397-442.
- Martel, C., Réjasse, A., Rousset, F., Bethenod, M.T. et Bourguet, D. (2003). Host-plant-associated genetic differentiation in Northern French populations of the European corn borer. *Heredity*, 90(2), 141-149.
- Martel, P., Boivin, G., Hudon, M. et Ritchot, C. (1982). Les ravageurs des cultures légumières et céréalières du sud-ouest du Québec en 1981. *Annales de la Société Entomologique du Québec*, 27, 172-175.
- Martel, P., Svec, H.J. et Harris, C.R. (1976). The life history of the carrot weevil, *Listronotus oregonensis* (Coleoptera: Curculionidae) under controlled conditions. *The Canadian Entomologist*, 108(9), 931-934.
- Massicotte, R., Whitelaw, E. et Angers, B. (2011). DNA methylation: a source of random variation in natural populations. *Epigenetics*, 6(4), 421-427.
- Meirmans, P.G. (2012). The trouble with isolation by distance. *Molecular ecology*, 21(12), 2839-2846.
- Meirmans, P.G. and Hedrick, P.W. (2011). Assessing population structure: FST and related measures. *Molecular Ecology Resources*, 11, 5-18.
- Morin, P.A., Luikart, G. et Wayne, R.K. (2004). SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 19(4), 208-216.
- OMAFRA. (2017). Mise à jour sur la lutte contre le charançon de la carotte. <http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/hort/news/hortmatt/2017/03hrt17a2.htm> (Consulté le 2019-04-17)
- Panizzi, A. R. (1997). Wild hosts of pentatomids: ecological significance and role in their pest status on crops. *Annual Review of Entomology*, 42(1), 99-122.

- Park, I., Schwarzländer, M., Hinz, H. L., Schaffner, U. et Eigenbrode, S. D. (2019). A simple approach to evaluate behavioral responses of insect herbivores to olfactory and visual cues simultaneously: the double stacked y-tube device and portable volatile collection system. *Arthropod-Plant Interactions*, 13(1), 139-149.
- Pepper, B. B. (1942). Carrot weevil, *Listronotus latiusculus* (Bohe), in New Jersey and its control. *New Jersey Agricultural Experimental Station Bulletin*, 693, 1–20.
- Pepper, B.B. et Hagmann, L.E. (1938). The carrot weevil, *Listronotus latiusculus* (Boh.), a new pest on celery. *Journal of Economic Entomology*, 31, 262-66.
- Perron, J. (1971). Insect pests of carrots in organic soils of southwestern Québec with special reference to the carrot weevil, *Listronotus oregonensis* (coleoptera: curculionidae). *The Canadian Entomologist*, 103(10), 1441-1448.
- Peterson, M. A. et Denno, R. F. (1998). The influence of dispersal and diet breadth on patterns of genetic isolation by distance in phytophagous insects. *The American Naturalist*, 152(3), 428-446.
- Petit, C., Le Ru, B., Dupas, S., Frérot, B., Ahuya, P., Kaiser-Arnauld, L., Harry, M. et Calatayud, P. A. (2015). Influence of dietary experience on the induction of preference of adult moths and larvae for a new olfactory cue. *PLOS ONE*, 10(8), e0136169.
- Petkova, D., Novembre, J. et Stephens, M. (2016). Visualizing spatial population structure with estimated effective migration surfaces. *Nature Genetics*, 48(1), 94-100.
- Picq, S., Keena, M., Havill, N., Stewart, D., Pouliot, E., Boyle, B., Levesque, R. C., Hamelin, R. C. et Cusson, M. (2018). Assessing the potential of genotyping-by-sequencing-derived single nucleotide polymorphisms to identify the geographic origins of intercepted gypsy moth (*Lymantria dispar*) specimens: A proof-of-concept study. *Evolutionary Applications*, 11(3), 325-339.
- Pigliucci, M., Murren, C. J. et Schlichting, C. D. (2006). Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology*, 209(12), 2362-2367.
- Poethke, H. J., Weisser, W. W. et Hovestadt, T. (2010). Predator-induced dispersal and the evolution of conditional dispersal in correlated environments. *The American Naturalist*, 175(5), 577-586.
- Posledovich, D., Toftegaard, T., Wiklund, C., Ehrlén, J. et Gotthard, K. (2015). Latitudinal variation in diapause duration and post-winter development in two pierid butterflies in relation to phenological specialization. *Oecologia*, 177(1), 181-190.
- Pruisscher, P., Nylin, S., Wheat, C. W. et Gotthard, K. (2021). A region of the sex chromosome associated with population differences in diapause induction contains highly divergent alleles at clock genes. *Evolution*, 75(2), 490-500.

- Régnière, J. et Nealis, V. G. (2007). Ecological mechanisms of population change during outbreaks of the spruce budworm. *Ecological Entomology*, 32(5), 461-477.
- RCRE. (2004). Processing carrot pest management strategic plan for New Jersey. *Rutgers Agricultural Research and Extension Center, Bridgeton, New Jersey*.  
[http://www.ipmcenters.org/pmsp/pdf/NJ\\_CarrotPMSP.pdf](http://www.ipmcenters.org/pmsp/pdf/NJ_CarrotPMSP.pdf) (Consulté le 2019-03-26)
- Renault, D. (2020). A review of the phenotypic traits associated with insect dispersal polymorphism, and experimental designs for sorting out resident and disperser phenotypes. *Insects*, 11(4), 214.
- Renner, S. S. et Zohner, C. M. (2018). Climate change and phenological mismatch in trophic interactions among plants, insects, and vertebrates. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 49, 165-182.
- Réseau d'avertissement phytosanitaire (RAP) (2019) Carotte et céleri, Avertissement No 6, 20 juin 2019.  
<https://www.agrireseau.net/rap/documents/100504/carotte-et-celeri-avertissement-no-6-20-juin-2019?s=3300&a=1&r=charan%C3%A7on+de+la+carotte> (Consulté le 2021-04-02)
- Réseau d'avertissements phytosanitaires (RAP). (2007). Carotte, céleri, laitue, oignon, poireau, Avertissement No 01, 4 mai 2007 <https://www.agrireseau.net/Rap/documents/bp01tn07.pdf> (consulté le 27-06-2021)
- Roderick, G. K. (1996). Geographic structure of insect populations: gene flow, phylogeography, and their uses. *Annual Review of Entomology*, 41(1), 325-352.
- Roderick, G.K. et Caldwell, R.L. (1992). Animal Dispersal: An entomological perspective on animal dispersal. *Springer, Dordrecht, Pays-Bas*, 274-290.
- Royama, T. O. (1984). Population dynamics of the spruce budworm *Choristoneura fumiferana*. *Ecological Monographs*, 54(4), 429-462.
- Saccone, C., De Giorgi, C., Gissi, C., Pesole, G. et Reyes, A. (1999). Evolutionary genomics in Metazoa: the mitochondrial DNA as a model system. *Gene*, 238(1), 195-209.
- SAGE pesticides (2021) Traitements phytosanitaires et risques associés (Carotte).  
<https://www.sagepesticides.qc.ca/Recherche/Resultats?clang=fr&cu=Carotte&cid=23&elang=fr&t=4&e1=157%3F1&ta=1&pc=6&p=1>
- Sezgin, E., Duvernell, D. D., Matzkin, L. M., Duan, Y., Zhu, C. T., Verrelli, B. C. et Eanes, W. F. (2004). Single-locus latitudinal clines and their relationship to temperate adaptation in metabolic genes and derived alleles in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 168(2), 923-931.

- Shaw, M. J. P. (1970). Effects of population density on alienicolae of *Aphis fabae* Scop. II. The effects of crowding on the expression of migratory urge among alatae in the laboratory. *Annals of Applied Biology*, 65(2), 197-203.
- Showler, A. T. (2006). Short-range dispersal and overwintering habitats of boll weevils (Coleoptera: Curculionidae) during and after harvest in the subtropics. *Journal of economic entomology*, 99(4), 1152-1160.
- Silva-Brandão, K. L., Silva, O. A. B. N. E., Brandao, M. M., Omoto, C. et Sperling, F. A. (2015). Genotyping-by-sequencing approach indicates geographic distance as the main factor affecting genetic structure and gene flow in Brazilian populations of *Grapholita molesta* (Lepidoptera, Tortricidae). *Evolutionary Applications*, 8(5), 476-485.
- Silverman, J. et Bieman, D. N. (1993). Glucose aversion in the German cockroach, *Blattella germanica*. *Journal of Insect Physiology*, 39(11), 925-933.
- Simmons, R.B. et Weller, S.J. (2001). Utility and evolution of cytochrome b in insects. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 20(2), 196-210.
- Simonet, D.E. (1981). Carrot weevil management in Ohio vegetables (*Listronotus oregonensis*). *Ohio Report*, 66, 83-85.
- Simonet, D.E. et Davenport, B.L. (1981). Temperature requirements for development and oviposition of the carrot weevil. *Annals of the Entomological Society of America*, 74, 312-315.
- Singer, M. C., Ng, D. et Thomas, C. D. (1988). Heritability of oviposition preference and its relationship to offspring performance within a single insect population. *Evolution*, 42(5), 977-985.
- Slatkin, M. et Maddison, W.P. (1989). A cladistic measure of gene flow inferred from the phylogenies of alleles. *Genetics*, 123(3), 603-613.
- Slatkin, M. (1981). Estimating levels of gene flow in natural populations. *Genetics*, 99(2), 323-335.
- Statistique Canada. (2019). Superficie, production et valeur à la ferme des légumes. <https://www150.statcan.gc.ca/t1/tbl1/fr/tv.action?pid=3210036501&pickMembers%5B0%5D=1.14&pickMembers%5B1%5D=3.5> (Consulté le 2019-04-17)
- Stevenson, A. B. et Boivin, G. (1990). Interaction of temperature and photoperiod in control of reproductive diapause in the carrot weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology*, 19, 836-841.

- Stevenson, A.B. (1976) Seasonal history of the carrot weevil, *Listronotus oregonensis* (Coleoptera: Curculionidae) in the Holland Marsh, Ontario. *Proceedings of the Entomological Society of Ontario*, 107, 71–8.
- Sturtevant, B. R., Achtemeier, G. L., Charney, J. J., Anderson, D. P., Cooke, B. J. et Townsend, P. A. (2013). Long-distance dispersal of spruce budworm (*Choristoneura fumiferana* Clemens) in Minnesota (USA) and Ontario (Canada) via the atmospheric pathway. *Agricultural and Forest Meteorology*, 168, 186-200.
- Szendrei, Z., Averill, A., Alborn, H. et Rodriguez-Saona, C. (2011). Identification and field evaluation of attractants for the cranberry weevil, *Anthonomus musculus* Say. *Journal of Chemical Ecology*, 37(4), 387-397.
- Ryser, B.W. (1975) Investigations regarding the biology and control of the carrot weevil, *Listronotus oregonensis* (LeConte), in New Jersey. M.Sc. Thesis, *Rutgers University*, 138 pp.
- Takahata, N. et Slatkin, M. (1984). Mitochondrial gene flow. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(6), 1764-1767.
- Tauber, M. J., Tauber, C. A. et Masaki, S. (1986). Seasonal adaptations of insects. *Oxford University Press on Demand*.
- Taylor, F. et Karban, R. (1986). The evolution of insect life cycles (pp. 66-85). *New York: Springer-Verlag*.
- Taylor, F. et Spalding, J. B. (1986). Geographical patterns in the photoperiodic induction of hibernial diapause. In *The evolution of insect life cycles* (pp. 66-85). *Springer, New York, USA*.
- Telfer, Z., Lemay, J., McDonald, M. R. et Scott-Dupree, C. (2018). Assessing new chemical control options for the carrot weevil (*Listronotus oregonensis*) and carrot rust fly (*Psila rosae*) in Ontario. *Crop Protection*, 109, 86-94.
- Thompson, J. N. (1998). Rapid evolution as an ecological process. *Trends in Ecology and Evolution*, 13(8), 329-332.
- Unruh, T. R. et Luck, R. F. (1987). Deme formation in scale insects: a test with the pinyon needle scale and a review of other evidence. *Ecological Entomology*, 12, 439–449.
- USDA, National Agricultural Statistics Service. (2019). 2017 Census of Agriculture-State and County Data: Table 36. Vegetables, Potatoes, and Melons Harvested for Sale: 2017 and 2012. [https://www.nass.usda.gov/Publications/AgCensus/2017/Full\\_Report/Volume\\_1,\\_Chapter\\_1\\_State\\_Level/New\\_Jersey/njv1.pdf](https://www.nass.usda.gov/Publications/AgCensus/2017/Full_Report/Volume_1,_Chapter_1_State_Level/New_Jersey/njv1.pdf) (Consulté le 2019-04-17)



- Van Asch, M., Salis, L., Holleman, L. J., Van Lith, B. et Visser, M. E. (2013). Evolutionary response of the egg hatching date of a herbivorous insect under climate change. *Nature Climate Change*, 3(3), 244-248.
- Van Tienderen, P.H. (1997). Generalists, specialists, and the evolution of phenotypic plasticity in sympatric populations of distinct species. *Evolution*, 51(5), 1372–1380.
- Van Tol, R. W. H. M. et Visser, J. H. (2002). Olfactory antennal responses of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* to plant volatiles. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 102(1), 49-64.
- Vidal, M. C., Quinn, T. W., Stireman III, J. O., Tinghitella, R. M. et Murphy, S. M. (2019). Geography is more important than host plant use for the population genetic structure of a generalist insect herbivore. *Molecular Ecology*, 28(18), 4317-4334.
- Wada-Katsumata, A., Silverman, J. et Schal, C. (2013). Changes in taste neurons support the emergence of an adaptive behavior in cockroaches. *Science*, 340(6135), 972-975.
- Wagner, C. E., Keller, I., Wittwer, S., Selz, O. M., Mwaiko, S., Greuter, L., Sivasundar, A. et Seehausen, O. (2013). Genome-wide RAD sequence data provide unprecedented resolution of species boundaries and relationships in the Lake Victoria cichlid adaptive radiation. *Molecular Ecology*, 22, 787-798.
- Waples, R. S. (1987). A multispecies approach to the analysis of gene flow in marine shore fishes. *Evolution*, 41(2), 385-400.
- Waterland, R. A. et Jirtle, R. L. (2003). Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. *Molecular and cellular biology*, 23(15), 5293-5300.
- Whitcomb, W. D. (1965). Carrot weevil in Massachusetts. *University of Massachusetts Agricultural Experimental Station Bulletin*, 550, 1-30.
- Wright, J.M. (1953). An investigation into the biology and control of the carrot weevil, *Listronotus oregonensis* (LeConte). *PhD. Thèse, University of Illinois, Urbana-Champaign, Illinois*, 56p.
- Wright S, 1943. Isolation by distance. *Genetics*, 28, 114–138.
- Xia, H., Wang, B., Zhao, W., Pan, J., Mao, J. F. et Wang, X. R. (2018). Combining mitochondrial and nuclear genome analyses to dissect the effects of colonization, environment, and geography on population structure in *Pinus tabulaeformis*. *Evolutionary Applications*, 11(10), 1931-1945.
- Zeng, Y. S., Giblin-Davis, R. M., Ye, W. M., Bélair, G., Boivin, G. et Thomas, W. K. (2007). *Bradynema listronoti* n. sp. (Nematoda: Allantonematidae), a parasite of the carrot weevil *Listronotus oregonensis* (Coleoptera: Curculionidae) in Quebec, Canada. *Nematology*, 9(5), 609-623.

Zhang, P. J., Liu, S. S., Wang, H. et Zalucki, M. P. (2007). The influence of early adult experience and larval food restriction on responses toward nonhost plants in moths. *Journal of Chemical Ecology*, 33(8), 1528-1541.