

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Écologie et Biodiversité

École doctorale GAIA

Unité de recherche Centre d'Écologie Fonctionnelle et Évolutive

**Étude intégrative des interactions au sein d'une
association lâche (hôte – microprédateur – arthropodes
non hématophages cohabitant avec lui) : vers une
gestion agro-écologique des bâtiments d'élevage de
volaille**

Présentée par Ghais ZRIKI

Le 10 novembre 2020

Sous la direction de Rumsaïs BLATRIX
et Lise ROY

Devant le jury composé de

Manuel PLANTEGENEST, Professeur, INRAE AgroCampus-Ouest
Thierry HANCE, Professeur, Université Catholique de Louvain
Maria NAVAJAS, Directrice de recherche, INRAE Montpellier CBGP
Nicolas RIS, Ingénieur de recherche, INRAE Sophia Agrobiotech
Rumsaïs BLATRIX, Chargé de recherche, CEFE, CNRS
Lise ROY, Maître de conférence, UPVM3

Rapporteur
Rapporteur
Examinatrice, présidente du jury
Examineur
Directeur
Co-directrice



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

Remerciements

Après ces trois années, ma vie d'étudiant touche à sa fin et le meilleur est vraiment pour la fin. Cette thèse a été une aventure riche sur le plan professionnel et humain et je souhaite remercier toutes les personnes qui m'ont accompagnées et ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

Je remercie la Région Occitanie et le LabEx d'avoir financé mon projet de thèse.

Je tiens à remercier chaleureusement Manuel Plantegenest, Thierry Hance, Maria Navajas et Nicolas Ris d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Je tiens à remercier les membres de mon comité de suivi, Olivier Bonato, Pierre Franck et Finn Kjellberg pour leurs conseils et leurs apports qui ont permis d'enrichir mes travaux de thèse.

Un immense merci à Lise Roy et Rumsaïs Blatrix, mes deux directeurs de thèse de m'avoir guidé et soutenu durant ces trois années. Merci beaucoup pour votre enthousiasme, dynamisme, disponibilité et votre réactivité à chaque fois que j'ai eu besoin de conseils ou d'aide. Merci d'avoir cru en moi et de m'avoir aidé à progresser autant scientifiquement qu'humainement. Lise, merci de m'avoir poussé à donner mon maximum et me surpasser. Merci d'être toujours là pour moi et de m'avoir soutenu pendant les moments de doutes. Merci pour ta patience et pour la générosité de tes explications à toutes mes questions (même les plus naïves). Rum, merci pour tout ce que tu as fait pour que cette thèse se passe de la meilleure façon possible. Merci pour tes conseils qui m'ont aidé à surmonter plusieurs obstacles. Merci aussi d'avoir toujours apprécié mes gâteaux sans ou avec sucre.

Merci à la direction du CEFÉ, Marie-Laure Navas et Véronique Hanin, de m'avoir accueilli dans leurs locaux où j'ai pu bénéficier de la richesse des échanges scientifiques dans l'un des meilleurs laboratoires d'écologie. Je vous remercie également de m'avoir autorisé à venir au laboratoire les jours de weekend pour travailler et avancer sur ma thèse surtout durant les derniers mois de rédaction.

Merci à toute l'équipe de gestion du CEFÉ et plus particulièrement à Asmaa, Mélanie et Pauline, qui ont assuré toutes les démarches administratives permettant la réalisation des missions de terrain. Grâce à votre aide, j'ai pu profiter sereinement des escapades dans les élevages de poules. Merci pour votre bonne humeur à chaque fois que je passais par votre bureau.

Merci également à Florence, des ressources humaines d'avoir suivi et mis en place toute la partie administrative de mon recrutement. Merci aux différents gardiens qui ont toujours été sympathiques et avenants lors de leurs rondes chaque soir durant mes marathons de rédaction nocturnes. Merci à l'équipe du TE, Thierry, David, Pauline et Pierrick pour leur aide précieuse et indispensable dans la réalisation des mésocosmes qui ont constitué le cœur de la partie expérimentale de mon travail. Merci également pour votre bonne humeur et votre humour ainsi que pour les petits tours en voiturette pour visiter nos terres du TE. Merci à Nicolas et Raphaëlle de la PACE pour leur aide durant mes travaux.

Merci à tous les stagiaires avec qui j'ai travaillé et qui m'ont tant aidé à récolter les données nécessaires pour aboutir à toute cette étude. Dylan aka Bob, Céline (Dion) et Jordan aka Cristina, merci de m'avoir accompagné en combinaison de combat pour récupérer des acariens dans les élevages et nettoyer les mésocosmes. Merci également aux assistantes ingénieurs Lisa et Anne-Sophie pour leur aide, merci pour votre gentillesse et votre agréable compagnie durant ma deuxième année de thèse.

Merci à tous les membres du département Interactions, Ecologie et Sociétés pour leur bonne humeur journalière. Merci pour votre ponctualité à chaque fois que j'ai sonné la cloche le midi, merci également pour tous les débats sur la vie que l'on a pu avoir et les fous rires qui ont rythmé mes pauses déjeuners et permis de déconnecter un peu avant de retravailler l'après-midi. Votre soutien, par un simple sourire, une attention comme un gâteau (parce que nous sommes des gourmands et que nous avons de fins pâtissiers dans ce couloir), ont été tant de petites attentions qui m'ont à chaque fois donné l'énergie nécessaire pour avancer à chaque moment de ma thèse. Merci à notre chef de département Finn Kjellberg d'avoir toujours été présent et d'avoir participé à mon comité de thèse. Merci aussi pour ton délicieux saumon.

Jean-Michel (Cho-mimi) merci mon cher ami, merci pour ton soutien et ta présence pendant les moments difficiles et joyeux. Merci pour ton humour, ta beauté, ta classe, ta splendeur.....et je m'arrête là. Merci à toutes les personnes auxquelles j'ai donné des surnoms : Delphine (Sament), Sophie (Sophinette), Benoît (Benoiche), Magali (Majalisse), Martine à la plage, les thésards de tonnerre (Jean-Marc, Angoisse, Marie-louche, Andice, Florinette). Merci à Doyle, Yildiz, Mathilde et Franck, notre chef d'équipe. Merci à vous tous d'avoir partagé ces trois années avec moi et de m'avoir supporté et porté.

Merci à mes voisins de bureau. Anne-Geneviève Bagnieres (Anne-Choune, Chouminette), quel plaisir de voir ton sourire chaque matin en arrivant à côté de Micheline. Merci d'avoir été à mes côtés chaque fois que j'en avais besoin. Fabiche, merci pour les pauses cueillettes durant ces dernières semaines qui ont d'ailleurs permis de te réconcilier avec les figues, merci pour ta gentillesse sans faille et tes petites blagues inattendues. Jane, merci d'avoir été là pour me tenir toujours informé de l'actualité.

Un très grand merci à Thomas (so much) pour sa belle compagnie et son aide toujours précieuse et toujours so much. Merci pour tous les moments que l'on a partagé au labo, sur le terrain ou pendant nos séances de sport. Un merci coloré du soleil de la Réunion et son immense océan à Anaïs Ramet (Hanamissette), le couloir, le CEFÉ et ces trois années étaient plus joyeux grâce à ta présence et ton humour bizarre que j'adore. Merci pour ton aide et ton cœur tenu toujours sur tes mains.

Merci à toutes les personnes que j'ai rencontré au CBGP, chercheurs, techniciens gestionnaires et à toutes les autres personnes que j'ai croisé dans ce laboratoire chère à mon cœur. Merci à vous de m'avoir permis d'acquérir des compétences clés au préalable de ma thèse et surtout de m'avoir préparé et soutenu lorsque j'ai déposé ma candidature pour cette thèse. Merci à Serge Kreiter, Philippe Auger, Alain Migeon, Martial Douin, Marie-Stéphane Tixier et Maria Navajas, avec vous j'ai travaillé sur mes bêtes préférés les acariens pendant

deux années. Merci de m'avoir de nouveau accueilli durant ma thèse pour me permettre d'identifier mes acariens. Merci particulièrement à Nicolas Leménager (l'orange), Nathalie Vieira, Anne-Laure Clément, Gaël Kergoat, Julien Foucaud, Sabine Nidlet, Nicolas Rode, Oriane (Oriamisse), Robin (Robs), Mélodie (Mélodine), l'admin de ouf Vincent, Sabine et Armelle et Allan Debelle pour nos moments ensemble au tennis, au bad, au bière partie

Maeva Miranda, ma chère amie, merci beaucoup pour tout ce que tu as fait pour moi et pour les magnifiques illustrations que tu as faites pour ma thèse. Merci à Lyeli Borner, ton soutien et ton amitié me sont tellement précieux et nos rituels samedis marché des arceaux étaient un réel plaisir. Julie Collet, un grand merci pour tout ce que tu as fait pour moi pendant la préparation de l'audition pour cette thèse.

Un merci très nostalgique à tous et toutes les ami(e)s du Master SDP et PPE, merci pour votre amitié et bienveillance durant les six mois que l'on a passés ensemble à Montpellier, Rennes et Paris. Essia, Lattifa, Jean-Noël, Sara et Kiliana vous resterez toujours dans mon cœur.

Merci à tous les éleveurs qui ont accepté de nous ouvrir les portes de leurs élevages et nous ont gentiment accueilli à plusieurs reprises pour récolter des acariens. Merci aussi à tous ceux qui ont récupéré nos poules, mes petites « Elisabeths » comme j'aime les appeler, pour leur offrir un nouveau foyer où elles ont pu pondre à leur guise et vivre une belle retraite après leurs loyaux services.

Christophe, Merci pour ta présence, pour ton aide, pour ton soutien et pour tout ce que tu as fait et tu fais pour moi. T'es le meilleur.

Alisar Nadeem, Merci à la hauteur du nombre de messages matinaux quotidiens que tu tiens à m'envoyer depuis 12 ans, merci d'être là même à distance pour me soutenir et me prouver que six années d'éloignement n'affaiblissent pas une amitié.

Ma tante et mon amie Afraa, merci de m'avoir soutenu pour pouvoir arriver en France et réaliser mes projets. Merci de continuer à me soutenir et me guider pour atteindre mes objectifs.

Enfin, merci à tous les membres de ma famille, mon père et mère qui m'ont soutenu tout au long de mon parcours professionnel, même à distance votre soutien a été sans faille tout au long de ces nombreuses années. Vous m'avez fait confiance et poussé à toujours donner le meilleur de moi-même pour accomplir chaque étape de ma vie professionnelle. L'amour que vous m'avez donné durant mes années à vos côtés continuent de me porter aujourd'hui malgré les nombreux kilomètres qui nous séparent depuis six années. Un grand merci aussi à mes frères et sœurs Sara, Rabea, Eethar et Aous, pour leurs encouragements et leurs visites vraies ou virtuelles qui m'ont reboosté.

Merci à tous mes proches et amis en Syrie, mon pays d'origine, qui me soutiennent à distance, me souhaitent toujours le meilleur et sont heureux pour moi.

Merci à toutes les personnes rencontrées en France qui m'ont si bien accueilli et qui m'ont fait sentir en famille.

A toutes les poules et tous les poussins qui ont vécu cette expérience avec moi, vous m'étaient indispensable pour réaliser cette thèse, merci beaucoup. J'en suis confiant qu'ensemble nous arriverons à vaincre ce Dracula pour que vous puissiez passer des bonnes et douces nuits.



Résumé

Les ennemis naturels tels que les arthropodes prédateurs jouent un rôle important dans le contrôle des populations des bioagresseurs dans les agroécosystèmes. Les élevages de poules pondeuses sont des agroécosystèmes de production intensive qui intègrent une diversité élevée d'arthropodes : parasites des poules et les arthropodes du fumier (détritivores, prédateurs, etc.). Le pou rouge des poules, *Dermanyssus gallinae* (De Geer 1778), est l'ectoparasite le plus préjudiciable aux élevages de poules pondeuses. Les infestations de *D. gallinae* entraînent des problèmes économiques et de bien-être animal. *Dermanyssus gallinae* est un ectoparasite nidicole qui vit à proximité de son hôte dans un environnement partagé par les arthropodes prédateurs qui peuplent naturellement les bâtiments d'élevages de poules pondeuses.

Dans le cadre de cette thèse, notre objectif était d'améliorer l'état des connaissances sur l'impact des arthropodes prédateurs natifs de bâtiments d'élevage de poules pondeuses sur *D. gallinae*. Basé sur trois approches méthodologiques (descriptive, corrélative et expérimentale), le présent travail a exploré les interactions prédateur-proie (centrées sur *D. gallinae*) à trois échelles: i) l'échelle de l'individu: Etablir le réseau trophique des arthropodes natifs (*in-vitro*), ii) à l'échelle de l'espèce : analyser la covariation de l'abondance de *D. gallinae* et ces prédateurs dans les bâtiments d'élevage, ii) l'échelle de la population : Mesurer dans un système expérimental (poule-*D. gallinae*-prédateur) en mésocosmes l'impact des arthropodes prédateurs sur le développement des populations de *D. gallinae*.

L'analyse de réseau trophique des arthropodes natifs a montré que *D. gallinae* est une proie potentielle pour dix espèces d'arthropodes prédateurs. Ces prédateurs ont montré une disparité importante dans la fréquence de prédation sur *D. gallinae* et une préférence pour *D. gallinae* en présence de proies alternatives telles que les acariens détritivores. Dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses, l'analyse des abondances relatives de *D. gallinae* et les prédateurs natifs a permis de soutenir l'existence d'une interaction entre *D. gallinae* et ses prédateurs qui ont montré une capacité élevée de le consommer *in-vitro*. La mise en place des expériences en mésocosmes a permis le développement de *D. gallinae*, les prédateurs natifs et les acariens détritivores. Sous nos conditions expérimentales, les arthropodes prédateurs natifs n'ont pas montré un effet détectable sur le développement de populations de *D. gallinae* quand d'autres espèces de proies alternatives étaient présentes. Ces résultats suggèrent que, dans nos conditions expérimentales, le développement de populations de *D. gallinae* semblait être limité par les ressources alimentaires (la poule) et non pas par l'effet de prédation. La présence d'une proie alternative (les acariens détritivores) pourrait aussi avoir diminué l'effet des prédateurs sur les populations de *D. gallinae*. A travers notre système expérimental, nous avons également montré que les acariens prédateurs élevés en masse et commercialisés actuellement pour lutter contre *D. gallinae* n'ont pas d'effet négatif sur les espèces natives non-cibles tels que les acariens prédateurs natifs.

Nos résultats révèlent des lacunes importantes dans notre compréhension de la biologie de *D. gallinae* et de la dynamique de ses populations. Ces résultats montrent également l'importance d'explorer d'avantage le rôle potentiel des proies alternatives dans l'absence d'un effet régulateur des prédateurs natifs sur les populations de *D. gallinae*.

Mots-clés : *Dermanyssus gallinae*, poules pondeuses, arthropodes prédateurs, réseaux trophiques, lutte biologique.

Abstract

Natural enemies such as predatory arthropods play an important role in controlling pest populations in agroecosystems. Laying-hen farms are agroecosystems of intensive production that incorporate a high diversity of arthropods: hen parasites and manure arthropods (predators, detritivorous, etc.). The poultry red mites *Dermanyssus gallinae* (De Geer 1778) is the most damaging ectoparasite in laying-hen farms. Infestations with *D. gallinae* cause both welfare and economic problems. *Dermanyssus gallinae* is a nidicolous ectoparasite that lives close to its host in an environment shared by the naturally-occurring predatory arthropods in laying-hen farms.

In this thesis, our objective was to improve our knowledge on the impact of native arthropods predators in laying-hen farms on *D. gallinae*. Based on three methodological approaches—descriptive, correlative and experimental—the present work explored predator-prey interactions (with focus on *D. gallinae*) and the impact of arthropods predators on *D. gallinae* at three levels: 1) individual level: building the food web of native arthropods (*in vitro*), 2) species level: analyzing the covariation of the abundances of *D. gallinae* and its predators in farm buildings, 3) population level: measuring in an experimental system (hen-*D. gallinae*-predator) in mesocosms the impact of native arthropod predators on the development of *D. gallinae* populations.

The analysis of native arthropods food web showed that *D. gallinae* is a potential prey for ten predatory species. These predators showed a significant disparity in predation frequency on *D. gallinae* and in their preferences for prey species between *D. gallinae* and detritivorous mites as alternative prey. In laying-hen farms, analysis of the relative abundances of *D. gallinae* and native predators supported the presence of interactions between *D. gallinae* and predatory species that showed high predation frequencies on it *in vitro*. The experiments in mesocosm allowed the development of *D. gallinae*, native arthropod predators and detritivorous mites. Under our experimental conditions, native arthropod predators did not show any detectable effect on the development of *D. gallinae* populations when other alternative prey species were present. These results suggest that, under our experimental conditions, the development of *D. gallinae* populations seemed to be limited by food resources (the hen) and not by the predation effect. The presence of alternative prey (detritivorous mites) may have reduced predators' impact on *D. gallinae* populations. Through our experimental system, we also showed that mass-reared and commercially available predatory mites currently used to control *D. gallinae* in laying farms, did not have a negative effect on non-target species such as native predatory mites.

Our results uncovered important gaps in our understanding of *D. gallinae* biology and population dynamics. These results also demonstrate the importance of further investigating the impact of alternative prey species in the absence of a regulatory effect of native predators on *D. gallinae* populations.

Keywords: *Dermanyssus gallinae*, laying hens, predatory arthropods, food webs, biological control.

Table des matières

1	Contexte général.....	1
1.1	Le contrôle naturel des ravageurs, un service écosystémique	1
1.2	Le rôle des ennemis naturels dans le contrôle des ravageurs dans les agroécosystèmes	2
1.3	La complexité des interactions trophiques et la structure des réseaux trophiques dans les agroécosystèmes	3
2	Système d'étude : L'acarien parasite <i>Dermanyssus gallinae</i> et les arthropodes prédateurs natifs dans les bâtiments d'élevages de poules pondeuses.	5
2.1	L'agroécosystème « bâtiment d'élevage de poules pondeuses »	5
2.1.1	La production d'œufs en Europe et en France.....	5
2.1.2	Types d'élevage de poule pondeuses et structure des bâtiments d'élevages en Europe et en France.....	5
2.1.3	La structure des bâtiments d'élevages dans les systèmes d'élevage alternatifs (au sol) 6	6
2.2	La communauté native d'arthropodes dans les élevages de volaille	8
2.2.1	Les arthropodes bioagresseurs dans les élevages de pondeuses	9
2.2.2	Les arthropodes détritivores et coprophages	10
2.2.3	Les arthropodes prédateurs et parasitoïdes.....	10
2.3	Le pou rouge de poules <i>Dermanyssus gallinae</i>	10
2.3.1	Position taxonomique, distribution géographiques et spectre d'hôte de <i>D. gallinae</i> 10	10
2.3.2	La notion de microprédateur	11
2.3.3	Morphologie et biologie générales de <i>D. gallinae</i>	12
2.3.4	Elément de dynamique temporelle et spatiale de <i>D. gallinae</i> dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses.	15
2.3.5	L'impact économique et sanitaire de <i>D. gallinae</i> dans les élevages de poules pondeuses et sa prévalence en Europe.	15
2.3.6	Méthodes de lutte actuelles contre <i>D. gallinae</i> dans les bâtiments d'élevage	18
3	La régulation naturelle de <i>D. gallinae</i> dans l'agroécosystème « bâtiment d'élevages de poule pondeuse »	21
3.1	L'impact des arthropodes prédateurs natifs sur <i>D. gallinae</i>	21
3.2	Problématique de la thèse	23
4	Objectifs de la thèse et approches méthodologiques mises en place.....	24
4.1	Objectifs	24

4.2	Approches méthodologiques	24
4.2.1	Les tests de prédation <i>in vitro</i>	24
4.2.2	Utiliser l'approche 'système modèle'	25
5	Organisation de la thèse	29
Chapitre 1.....		31
Article 1. Les interactions de prédation parmi les arthropodes naturellement présents dans les bâtiments d'élevages de poules pondeuses, avec un focus sur <i>Dermanyssus gallinae</i> comme proie (Publié dans Pest Management Science)		34
Article 2.Évaluation du lien entre la prédation sur un ravageur et son contrôle comme un service rendu dans le monde d'acariens (Publié dans Ecology and Evolution).....		44
Chapitre 2.....		70
Article 3. Impact des arthropodes prédateurs natifs sur le pou rouge des poules <i>Dermanyssus gallinae</i> à l'échelle des populations (Soumis à International Journal for Parasitology)		73
Chapitre 3.....		106
Article 4. Evaluation des effets des agents de lutte biologique sur la communauté native d'arthropodes dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses (Soumis à Biological control)		109
6	Discussion et Perspectives.....	134
6.1	Synthèse du travail et des résultats	134
6.2	Importance et interprétation des résultats obtenus	136
6.2.1	Progrès dans la connaissance de la structure trophique de la communauté d'arthropodes natifs et des ennemis naturels de <i>D. gallinae</i> dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses.	136
6.2.2	L'impact d'arthropodes prédateurs natifs dans la régulation des populations de <i>D. gallinae</i>	137
6.2.3	L'effet de l'introduction massive des acariens prédateurs de <i>D. gallinae</i> sur la communauté naturelle d'arthropodes	141
6.3	Intégration des nouvelles connaissances dans la démarche de la lutte intégrative de <i>D. gallinae</i>	142
6.3.1	Optimiser le choix de prédateurs pour la lutte biologique	142
6.3.2	La lutte biologique contre <i>D. gallinae</i> en favorisant l'activité des prédateurs natifs	
143		
7	Conclusion	143
8	Références.....	146

1 Contexte général

1.1 Le contrôle naturel des ravageurs, un service écosystémique

Un écosystème est un complexe dynamique composé de plantes, d'animaux, de micro-organismes, et du milieu environnant agissant en interaction en tant qu'unité fonctionnelle. De manière générale, les services écosystémiques sont définis comme les bénéfices que les hommes retirent des écosystèmes (Millennium Ecosystem Assessment, 2005). D'un point de vue économique, les services écosystémiques sont des quantités (mesurables) associées à un prix (une valeur), ces services sont les résultats directs ou indirects des fonctionnements de l'écosystème (Boyd and Banzhaf, 2007; Costanza et al., 1997). Les services écosystémiques comprennent la régulation climatique, la purification de l'air et de l'eau, la pollinisation, le contrôle naturel des espèces nuisibles, etc (Costanza et al., 1997; Hooper et al., 2005).

Dans les agroécosystèmes, le contrôle naturel des espèces nuisibles représente un service écosystémique important et contribue à la stabilité de la production des systèmes agricoles dans le monde, il fournit des bénéfices économiques et environnementaux en diminuant les pertes dans la production et en réduisant l'utilisation des pesticides synthétiques (Naylor and Ehrlich, 1997; Östman et al., 2003). Le contrôle naturel des bioagresseurs implique de nombreux facteurs environnementaux (biotiques et abiotiques) qui influencent d'une façon directe ou indirecte la natalité, la mortalité et le mouvement des individus à l'intérieur et hors de leur population (Huffaker et al., 1971). Il existe trois grandes composantes générales dans la relation reliant une population et son environnement: (1) les propriétés intrinsèques de la population (soumise à des processus génétiques et évolutifs), (2) la capacité environnementale et l'impact temporel sur la population indépendamment de sa densité, (3) la régulation de la taille de la population par des mécanismes induits par la densité de cette population (en fonction des conditions de l'environnement et les propriétés de l'espèce) (Huffaker et al., 1971).

Les mécanismes régulateurs qui dépendent de la densité de population comprennent principalement l'épuisement des ressources, la compétition pour ces ressources et la régulation par les ennemis naturels. Les actions régulatrices exercées par ces mécanismes représentent des facteurs supprimeurs agissant collectivement ou séparément. Ces facteurs s'intensifient quand la population augmente au-delà d'un niveau critique élevé et se relâchent quand la densité de la population baisse. Ainsi, l'augmentation de la population au-delà du maximum critique est interdite et la diminution jusqu'à l'extinction est peu probable (Huffaker et al., 1971). Même si on ne peut pas exclure la possibilité d'une limitation des populations d'arthropodes bioagresseurs (phytophages ou parasites d'animaux) par leurs ressources alimentaires (Knops et al., 1999), le manque de ces ressources est probablement un facteur régulateur peu fréquent chez les arthropodes bioagresseurs dans les agroécosystèmes car ce sont des systèmes de production intensive offrant par excellence des ressources illimitées pour les bioagresseurs. Si la limitation par les ressources est un facteur régulateur peu commun chez les arthropodes bioagresseurs en agriculture, cela est certainement le facteur régulateur principal des populations de arthropodes prédateurs et parasitoïdes. La preuve en est que l'abondance de la majorité des herbivores et parasites n'atteint pas un niveau offensif. (Huffaker et al., 1971; Price, 1987).

1.2 Le rôle des ennemis naturels dans le contrôle des ravageurs dans les agroécosystèmes

Les ennemis naturels tels que les prédateurs et les parasitoïdes exercent l'un des principaux effets supprimeurs sur les populations d'arthropodes dans les écosystèmes naturels et dans les agroécosystèmes (Östman et al., 2003; Price, 1987; Vandermeer et al., 2010). Symondson *et al.* (2002) ont passé en revue la contribution globale des ennemis naturels à la réduction des ravageurs et ils ont déterminé que dans 75% des expériences réalisées sur le terrain, les ennemis naturels ont contribué à la réduction de l'abondance des ravageurs. La régulation naturelle des ravageurs par leurs ennemis naturels a reçu un intérêt croissant depuis l'avènement des principes de la lutte intégrative des ravageurs suite aux échecs de la lutte chimique dans plusieurs types de cultures dans les années 1960 (Kogan, 1998; Naylor and Ehrlich, 1997). La philosophie de la lutte intégrative consiste en l'intégration de différentes tactiques de lutte pour limiter les dégâts économiques induits par les bioagresseurs tout en minimisant les effets indésirables sur les organismes non-cibles et sur l'environnement. La lutte intégrative vise à minimiser l'utilisation des pesticides et à favoriser le service écosystémique du contrôle naturel des bioagresseurs dans les agroécosystèmes (Abrol and Shankar, 2012).

La majorité des agroécosystèmes sont des environnements peu favorables pour les ennemis naturels à cause du niveau élevé de perturbation (Shennan, 2008). La lutte intégrative vise donc à créer un environnement qui favorise le développement des ennemis naturels pour maximiser leur effet sur le contrôle des bioagresseurs. Cela peut être réalisé par la manipulation de paysage à travers l'augmentation des habitats naturels et des ressources alimentaires (Bianchi et al., 2006; Holland et al., 2012) ou par la manipulation des populations d'ennemis naturels (Van Lenteren, 2000). Les ennemis naturels représentent le facteur principal du contrôle naturel que l'on a le plus de pouvoir à manipuler (Huffaker et al., 1971; Price, 1987). La manipulation des populations des ennemis naturels est le principe de base de la lutte biologique contre les bioagresseurs, et cette méthode représente un élément clé des approches écosystémiques de la lutte intégrative contre les bioagresseurs (Bale et al., 2008).

La lutte biologique contre les ravageurs se base sur l'hypothèse que la densité des espèces nuisibles pour les plantes et les animaux de rente est contrôlable, soit grâce à la régulation par leurs ennemis natifs ou par l'importation des ennemis naturels des espèces proches.

La lutte biologique consiste en l'utilisation par l'homme d'un ou plusieurs organismes pour réduire la population d'un ou des plusieurs organismes. Il y a quatre stratégies de lutte biologique : 1) la lutte biologique classique : introduction d'un ennemi naturel exogène pour contrôler un bioagresseur exotique, l'ennemi naturel en question doit s'installer dans le nouvel environnement et contrôler le ravageur sur le long terme, 2) la lutte biologique par inoculation ou augmentation : le lâcher d'un ennemi naturel (indigène ou exotique élevé en masse) une ou plusieurs fois pour contrôler un bioagresseur indigène ou exogène à court terme, on s'attend que ces ennemis se reproduisent et contrôlent le ravageur durant la saison et non pas à long terme, 3) la lutte biologique par inondation : lâcher périodiquement un grand nombre d'un ennemi naturel (indigène ou exogène élevé en masse) pour avoir un contrôle immédiat d'un bioagresseur par les individus introduits eux-mêmes et non pas leur progéniture, on ne compte pas sur la reproduction des ennemis naturel après introduction

dans l'environnement , 4) la lutte biologique par conservation : encourager les populations des ennemis naturels déjà présents dans un milieu pour renforcer leur effet supprimeur sur un bioagresseur indigène ou exogène (Bale et al., 2008; Eilenberg et al., 2001; Van Driesche and Hoddle, 2000; Van Lenteren, 2000).

1.3 La complexité des interactions trophiques et la structure des réseaux trophiques dans les agroécosystèmes

Dans un écosystème, les consommateurs et leur ressource alimentaire sont liés par des interactions trophiques. Les interactions trophiques liant tous les organismes dans un écosystème représentent ce que l'on appelle le réseau trophique (Moore and de Ruiter, 2012; Paine, 1980). Les réseaux trophiques représentent une structure complexe qui contrôle les dynamiques et la stabilité des communautés dans l'écosystème. Au sein d'un réseau trophique, les différents organismes sont organisés dans différents niveaux trophiques qui commencent par les producteurs primaires en passant par différents niveaux de consommateurs et se terminant avec les consommateurs supérieurs qui ne sont pas précédés par d'autres (Dunne et al., 2002). Les niveaux trophiques peuvent être contrôlés par l'effet des ressources alimentaires sur l'abondance de leurs consommateurs (régulation bottom-up) ou par l'impact des consommateurs sur leurs ressources (régulation top-down) (Leroux and Loreau, 2015).

La structure de réseaux trophique a été traditionnellement définie comme une chaîne trophique, cette chaîne commence par les producteurs primaires et se termine par les consommateurs supérieurs (Hairston et al., 1960). L'effet d'un prédateur supérieur sur ses ressources peut se propager à travers la chaîne trophique entraînant un contrôle de type top-down sur les niveaux trophiques inférieurs successifs jusqu'aux producteurs primaires. Ce phénomène est connu sous le terme de 'cascade trophique' (Paine, 1980). En effet, favoriser les populations d'ennemis naturels pour réduire les populations de bioagresseurs peut entraîner un effet 'top-down' positif sur la productivité des organismes de rente (ie plantes cultivées et animaux d'élevages) (Ripple et al., 2016). Cela est un principe fondamental dans la lutte biologique contre les bioagresseurs (Hawkins and Cornell, 1999). Le concept de chaîne trophique est une simplification utile pour comprendre le fonctionnement de réseaux trophiques simples et isolés (Polis and Strong, 1996).

En effet, les réseaux trophiques dans tous les écosystèmes se constituent d'interactions trophiques complexes, même dans les agroécosystèmes les plus simplifiés (ie les systèmes de monoculture) (González-Chang et al., 2016; Polis, 1991). Les consommateurs généralistes (tels que les arthropodes prédateurs qui se nourrissent de plusieurs types de proies) sont répandus dans la majorité des écosystèmes. Ces consommateurs connectent les différentes chaînes trophiques dans un écosystème à travers des interactions trophiques à différents niveaux trophiques (Polis and Strong, 1996; Rooney and McCann, 2012). Ces interactions incluent les interactions de prédation de type prédateur-proie et prédateur-prédateur (e.g. prédation intragilde entre les prédateurs qui consomment les mêmes ressources) (Rosenheim et al., 1995, 1993). Cela implique aussi des interactions indirectes entre les différentes espèces, ces interactions peuvent avoir lieu non seulement entre différents niveaux trophiques (sou forme des effets bottom-up et top-down) mais aussi au sein d'un même niveau trophique (interaction entre les proies via leurs prédateurs partagés) (Chailleux et al., 2014; Holt, 1977).

Pour tirer profit du rôle régulateur des ennemis naturels et de leur impact sur les populations d'arthropodes bioagresseurs dans les agroécosystèmes, nous avons besoin de comprendre les interactions interspécifiques directes et indirectes entre ces prédateurs et leurs proies. Cela implique la compréhension de la structure des réseaux trophiques dans ces agroécosystèmes (Dunne et al., 2002; González-Chang et al., 2016; Janssen et al., 1999; Shennan, 2008).

Au cours des dernières années, un nombre croissant de travaux ont étudié les interactions trophiques au sein des communautés natives d'arthropodes dans un contexte de lutte biologique (par exemple en identifiant les relations proies-prédateurs) (González-Chang et al., 2016). Les arthropodes bioagresseurs sont généralement impliqués dans des interactions proie-prédateur multiples (i.e. chaque espèce de proie est consommée par plusieurs espèces de prédateurs) (Abram et al., 2017; Schmitz, 2007; Sih et al., 1998). Plusieurs études ont exploré l'effet de multiples prédateurs sur la régulation des arthropodes bioagresseurs (Finke and Denno, 2005; Mansfield, 2019; Rosenheim and Harmon, 2006). Les interactions prédateurs-prédateurs comme la prédation intragilde et la compétition sont les facteurs primaires qui déterminent la structure et le fonctionnement de la communauté d'arthropodes (Finke and Denno, 2005; Holt and Polis, 1997; Sih et al., 1998). L'effet de la diversité et la multitude des arthropodes prédateurs peut avoir des retombées positives ou négatives sur la régulation des populations de bioagresseurs (Straub et al., 2008). Cet effet peut être négatif quand les interactions entre prédateurs diminuent le risque de prédation sur la proie cible (Eubanks et al., 2002; Vance-Chalcraft and Soluk, 2005) et positif quand les habitudes alimentaires de ces prédateurs et leurs niches écologiques sont complémentaires et conduisent à l'augmentation du risque de prédation sur la proie cible (Snyder et al., 2006).

Les interactions spécifiques indirectes entre les espèces des proies peuvent avoir lieu à cause de la compétition sur la ressource alimentaire ou à travers leurs prédateurs partagés (Holt, 1977). Les interactions indirectes entre les proies via leurs prédateurs partagés peuvent avoir plusieurs formes dépendant de leurs densités relatives et leur qualité nutritionnelle pour les prédateurs. (Chailleux et al., 2014). Dans un agroécosystème, les interactions indirectes entre les proies alternatives et la proie cible (bioagresseur) via leurs prédateurs partagés peuvent affecter l'impact de ces prédateurs sur la proie cible et la régulation de sa population.

La proie alternative peut augmenter ou diminuer la prédation sur la proie cible selon la densité relative de ces proies et leur qualité pour les prédateurs. La prédation sur la proie alternative peut stimuler la population de prédateur qui va répondre numériquement et consommer plus d'individu de la proie cible (Liu et al., 2006). À l'inverse, la prédation sur la proie alternative peut diminuer la prédation sur la proie cible quand la proie alternative peut détourner la pression de prédation en fonction des préférences de prédateurs (Desneux and O'Neil, 2008). Déterminer la contribution des prédateurs natifs à la mortalité de la proie cible (bioagresseur) et les préférences alimentaires de ces prédateurs vis-à-vis d'autres espèces de proies alternatives dans un agrosystème est une étape essentielle pour évaluer le potentiel de ces prédateurs pour la régulation des populations de bioagresseurs (Holt and Lawton, 1994)

2 Système d'étude : L'acarien parasite *Dermanyssus gallinae* et les arthropodes prédateurs natifs dans les bâtiments d'élevages de poules pondeuses.

2.1 L'agroécosystème « bâtiment d'élevage de poules pondeuses »

2.1.1 La production d'œufs en Europe et en France

En 2018, la production mondiale de l'œuf de poule de consommation a été estimée à 70.9 millions de tonnes équivalent œuf coquille. Cette production est issue de l'élevage d'environ 74 milliards de poules pondeuses. La Chine était le premier producteur mondial. Elle représentait à elle seule 32% de la production mondiale, suivie par l'Amérique du Nord (13%) puis L'Union européenne (9,8%). La France était le premier pays producteur d'œufs en Europe et elle représentait 13% de la production européenne, suivie par l'Allemagne et le Royaume-Uni. La production européenne est stable globalement dans le temps, avec des perturbations liées à la transition progressive vers les systèmes d'élevages alternatifs aux élevages en cage dans les différents pays européens (ITAVI, 2020).

2.1.2 Types d'élevage de poule pondeuses et structure des bâtiments d'élevages en Europe et en France.

La production des poussins destinés à devenir des poules pondeuses se passe dans des couvoirs où l'on sélectionne les femelles (sexage). Les poussins sélectionnés sont par la suite élevés dans des poussinières jusqu'à l'âge de 16-17 semaines. On rentre ensuite dans la phase de ponte, les poulettes âgées de 16-17 semaines sont transportées dans les bâtiments d'élevages de poules pondeuse (les fermes de ponte) où elles pondent durant environ une année (période de ponte optimale). Une bande de poule pondeuses est définie comme étant un lot de poules de même âge introduites dans un même bâtiment au sein d'une ferme de ponte. Chaque bande est encadrée dans le temps par deux périodes de vide sanitaire de l'unité d'élevage. Le vide sanitaire est une période obligatoire (selon les réglementations sanitaires dans les élevages de volailles en Europe) a pour objectif de permettre une réduction de la pression de contamination avec des pathogènes et des bioagresseurs entre deux bandes successives. Ce vide intervient après les opérations de nettoyage et désinfection de l'unité d'élevage. Le vide sanitaire devrait durer idéalement deux semaines (www.itavi.asso.fr).

Actuellement, les fermes de ponte en Europe et en France sont réparties dans deux grands types d'élevages de poules pondeuses: l'élevage conventionnel (en cages aménagés) et l'élevage alternatif (hors cages). Le système d'élevage conventionnel permet de concentrer jusqu'à deux fois plus de poules au m^2 que les systèmes alternatifs. Dès les années 2000, les systèmes de reproduction en Europe ont évolué vers des modes de production hors cages. Cela avait pour objectif de correspondre à la réglementation Européenne (Directive 1999/74/CE) concernant l'interdiction totale de production en cage classique (« batteries »). Cette dernière a été complètement interdite depuis 2012. Les dispositions de cette directive concernent les principaux problèmes de bien-être qui étaient rencontrés dans les cages traditionnelles de batterie (Appleby, 2003). Il existe plusieurs types de systèmes d'élevage alternatifs de poules pondeuses : « au sol » (sols conventionnels, plein-air, biologique) et volières. Les élevages « au sol » reposent sur des bâtiments permettant l'usage d'une surface unique par l'ensemble de la bande. Les volières représentent un système d'élevage

intermédiaire entre cages et sol en ce sens qu'elles offrent aussi une surface unique à l'ensemble de la bande (absence de compartimentation dans le bâtiment), mais hébergent des densités d'animaux au sol bien supérieures (des perchoirs répartis sur plusieurs niveaux verticaux permettent de maximiser l'usage du volume du bâtiment). En 2018, 50% des élevages européens sont en systèmes alternatifs. En Allemagne, Pays-Bas, Suède, 93%, 91%, 84% (respectivement) des poules pondeuses sont en élevages alternatifs. En France, 58% des poules pondeuses étaient toujours en cages aménagées (ITAVI, 2020).

2.1.3 La structure des bâtiments d'élevages dans les systèmes d'élevage alternatifs (au sol)

Les travaux réalisés dans cette thèse ainsi que les travaux préalables se sont focalisés sur les caractéristiques écologiques de l'agroécosystème des bâtiments d'élevages de poules pondeuses en système alternatif « au sol ». C'est pourquoi, on présente ici seulement la structure des bâtiments d'élevages de poules pondeuses dans le système « au sol ». Dans ce système, les poules évoluent toutes sur un même niveau. Le bâtiment d'élevage constitue une zone hors sol, qui peut être entouré ou non d'un parcours extérieur (selon le type). Cette zone des infrastructures (a) permet de maintenir séparées les fientes des poules (fosse à fumier dans la zone équipée de caillebotis), (b) offre aux poules des cabanons pour y pondre et des perchoirs pour s'y reposer, (c) fournit aux poules l'aliment et la boisson (Figure 1). Les poules ont un espace suffisant pour évoluer dans un environnement favorable à leurs activités (e.g. température et aération) (Figure 2). La zone de vie des poules est constituée d'une zone de caillebotis surélevée (env. 1 m) pour l'accumulation du fumier (Figure 3) et d'une zone dite « gisoir » (litière sèche). Les nids (cabanons de ponte), les lignes d'abreuvoirs et d'alimentation sont situées sur les caillebotis. Il y a plusieurs types de gestions des bâtiments d'élevage au sol, conventionnel, plein air et biologique. Selon le type de gestion, la réglementation de la gestion des bioagresseurs et le type d'aliment autorisé pour les poules sont différents. La présence d'un parcours extérieur est obligatoire en élevage plein-air et biologiques.

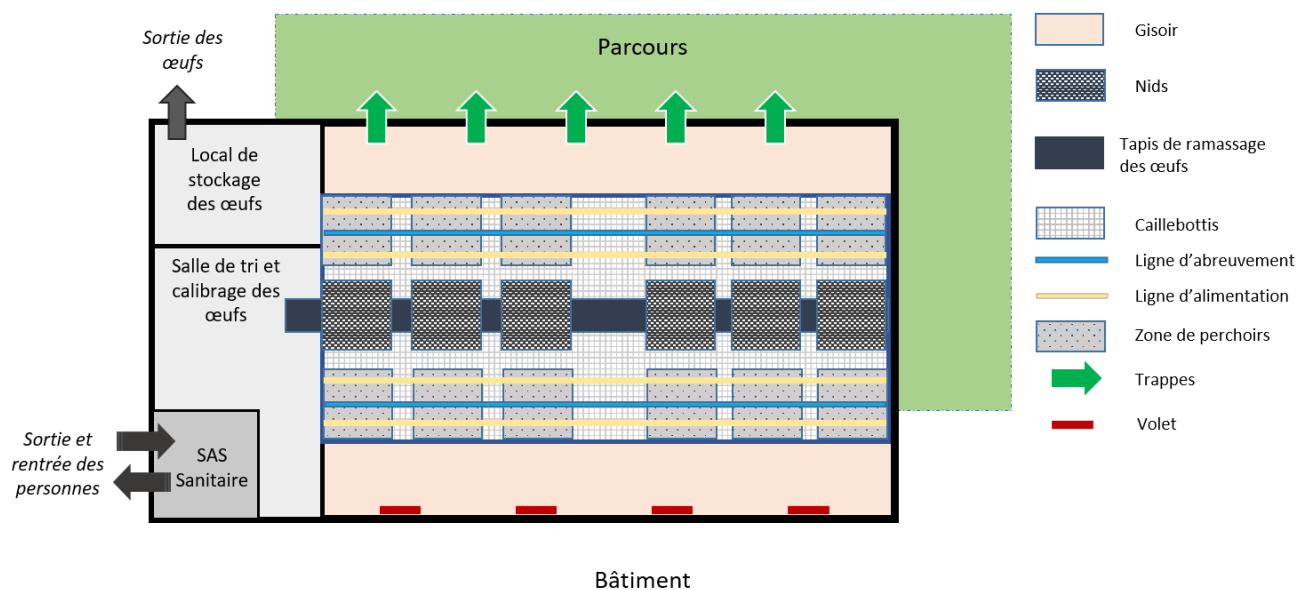


Figure 1. Organisation d'un bâtiment d'élevage de poules pondeuses au sol avec parcours

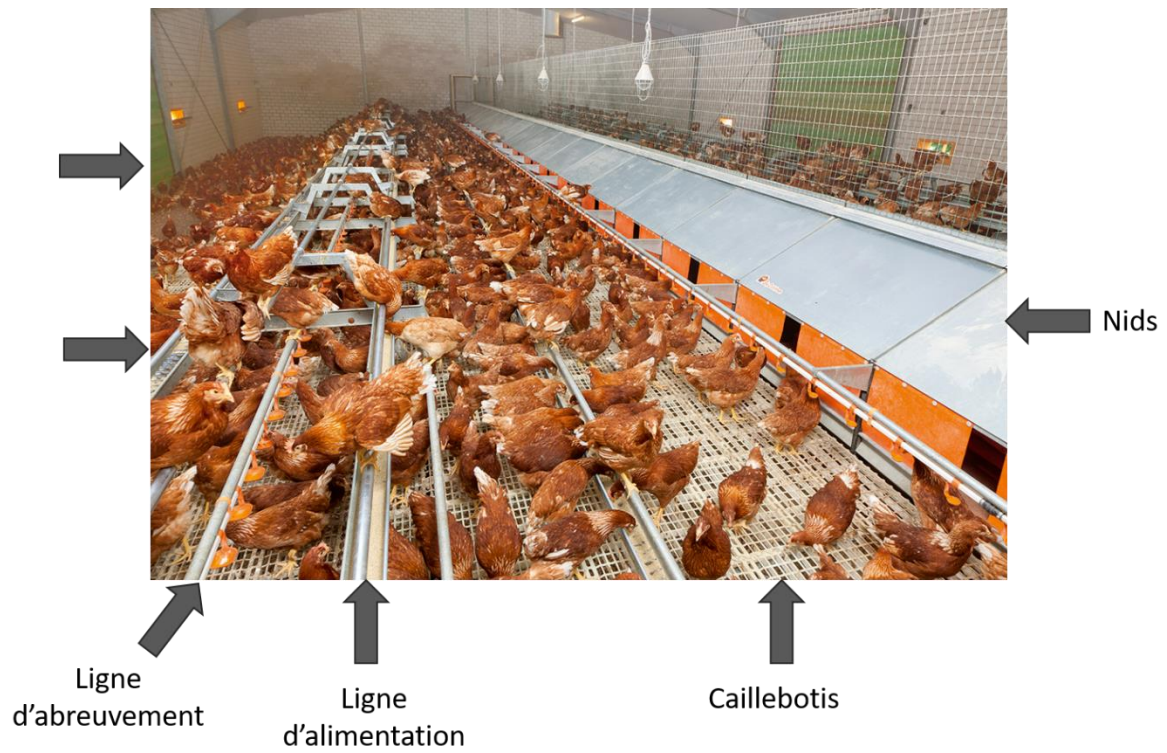


Figure 2. Vue d'ensemble de l'intérieur d'un bâtiment d'élevage de poule pondeuses au sol. (Photo © : www.agriexpo.online).



Figure 3. Fumier accumulé dans la fosse à fumier sous les caillebotis

2.2 La communauté native d'arthropodes dans les élevages de volaille

Dans un agroécosystème, on peut distinguer deux composantes de la biodiversité. La première composante est la biodiversité planifiée, c'est-à-dire la biodiversité liée à l'introduction libérée des organismes (plantes cultivées et animaux de rente) dans l'agroécosystème par l'agriculteur. La deuxième composante est la biodiversité associée qui inclut la flore de microorganismes et la faune des herbivores, parasites, carnivores, décomposeurs etc. qui colonisent spontanément l'agroécosystème via l'environnement. (Vandermeer and Perfecto, 2013). La production de volaille est un système biologique qui supporte une diversité élevée de microorganismes et d'arthropodes. Cette diversité est associée aux oiseaux (premiers producteurs) et à leurs aliments, leurs fientes et leur litière (Axtell, 1986; Brady, 1970a). D'un point de vue écologique et économique, ces arthropodes peuvent être classés en trois catégories: 1) parasites d'oiseaux (acariens, tiques et insectes), 2) arthropodes détritivores et coprophages, 3) arthropodes carnivores (prédateurs et parasitoïdes) associés aux autres arthropodes. Ces trois groupes d'arthropodes colonisent les bâtiments d'élevages via plusieurs routes : 1) transfert des oiseaux et du matériel (les cages des poules et les aliments...etc.), 2) mouvement actif d'arthropodes de l'extérieur comme pour les insectes ailés, 3) phorésie des arthropodes aptères sur les autres arthropodes (spécialement les insectes ailés) (Figure 4). La phorésie est une forme de symbiose dans laquelle l'espèce la plus petite utilise l'espèce la plus grande comme un moyen de transport (Binns, 1982; Proctor and Owens, 2000). Une grande partie des arthropodes aptères (e.g. acariens et pseudoscorpions) arrive dans les bâtiments d'élevage accrochés sur les insectes ailés comme les mouches (Bajerlein and Bloszyk, 2004; Houck and OConnor, 1991; Poinar Jr et al., 1998).

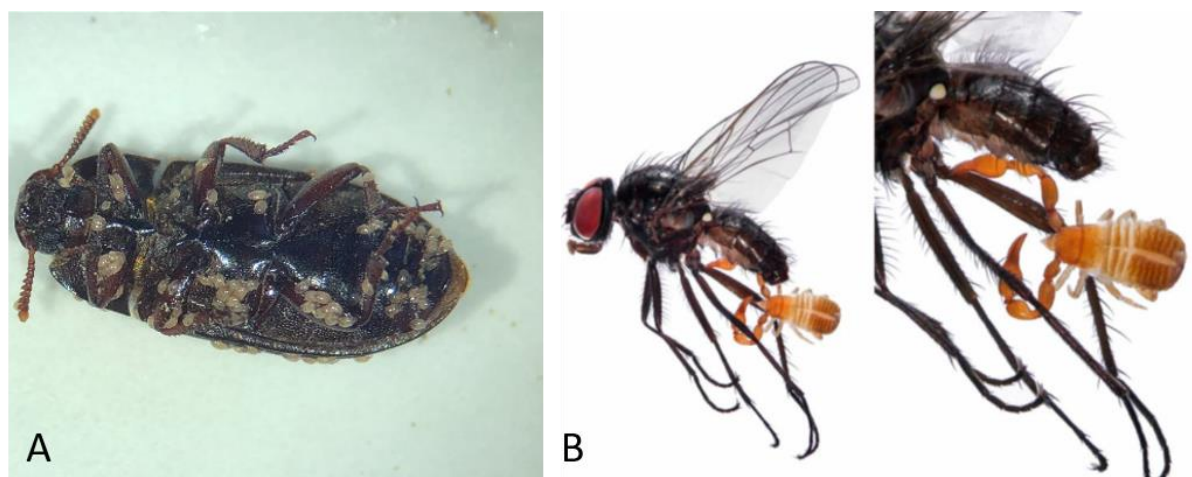


Figure 4. Photographies d'arthropodes phorétiques (A) acariens astigmatés sur un coléoptère *Alphonotus diaperinus*, photo par G. Zriki et (B) pseudoscorpion sur une mouche, photo par Christophoryová *et al.* (2018).

La diversité en arthropodes dans les bâtiments d'élevages dépend de la communauté d'arthropodes existant dans l'environnement extérieur. Le système de production et les pratiques agricoles influence le développement et la constitution de la communauté d'arthropodes dans les bâtiments d'élevages (Axtell, 1999; Roy et al., 2017). Le stockage du fumier dans un bâtiment d'élevage (lieu et durée de stockage) est un facteur important et

principal qui influence le développement des arthropodes habitants dans le fumier : quand le fumier peut s'accumuler sur une longue période (cas des élevages alternatifs au sol et des élevages en cage avec une fosse à fumier), cela permet un développement important des arthropodes associés au fumier, aussi bien détritvores et coprophages que prédateurs (Axtell, 1970; Stoffolano Jr and Geden, 1987).

2.2.1 Les arthropodes bioagresseurs dans les élevages de poules

En général les arthropodes considérés comme des nuisibles dans les élevages de poules pondeuses sont les espèces qui impactent négativement le bien-être des poules et leur productivité, le bien être des éleveurs et de leur main d'oeuvre, et les espèces qui causent des dégâts dans la structure et l'isolation du bâtiment d'élevage (Axtell, 1999). Il y a plusieurs types d'insectes et d'acariens ectoparasites d'importance majeure dans les élevages de poules pondeuses. Les insectes ectoparasites comprennent les poux (Insecta : Mallophaga), les puces (Insecta : Phthiraptera), les punaises de lit (Insecta : Hemiptera). Les acariens parasites comprennent principalement les tiques molles et dures (Arachnida : Ixodida) et les acariens mesostigmates hématophages *Dermanyssus gallinae* et *Ornithonyssus sylviarum* (Arachnida : Mesostigmata) (Lancaster Jr and Meisch, 1986; Proctor and Owens, 2000). Ces arthropodes ectoparasites peuvent être divisés en deux groupes, ceux qui vivent sur le corps de l'hôte et ceux qui vivent dans ou à proximité du leur hôte (Proctor and Owens, 2000; Ruff, 1999). La détection de ces parasites est importante et plus facile pour ceux qui vivent sur leur hôte (poux et *Ornithonyssus sylviarum*) que pour les autres qui entrent en contact avec l'hôte seulement pour prélever du sang (tiques molles, *Dermanyssus gallinae*). Ces derniers se cachent à distance de leur hôte, dans leur environnement proche (Ruff, 1999). Les deux acariens hématophages *Dermanyssus gallinae* et *Ornithonyssus sylviarum* sont les deux ectoparasites les plus préjudiciables dans les élevages de poules pondeuses (Chauve, 1998). Le pou rouge *D. gallinae* est le principal bioagresseur des poules pondeuses et le plus abondant en Europe tandis qu'*O. sylviarum* est leur bioagresseur principal en Amérique du nord (Mullens et al., 2009; Ruff, 1999).

Plusieurs espèces de coléoptères (Insecta : Coleoptera) et de mouches (Insecta : Diptera) sont considérées nuisibles dans les bâtiments d'élevages de poules pondeuses (Axtell, 1999). Le coléoptère *Alphitobius diaperinus* (Panzer) se développe dans le fumier et la litière de poules, les larves migrent dans les matériaux d'isolation du bâtiment où elles creusent pour se transformer en chrysalides ce qui cause la destruction des matières d'isolation. En outre ce coléoptère est polyphage et saprophage, il peut se nourrir des denrées stockées dans les silos à proximité des bâtiments d'élevage et de l'aliment fourni aux animaux dans le bâtiment. Cette espèce est également considérée comme un réservoir important de plusieurs microorganismes pathogènes (Geden and Axtell, 1987). Les mouches domestiques *Musca domestica* Linnaeus et les autres mouches du fumier représentent une source de nuisance très importante pour les éleveurs et les employés. Les mouches sont également des réservoirs et vecteurs de plusieurs organismes pathogènes affectant l'homme et les oiseaux (Axtell, 1999). Il existe plusieurs espèces de mouches qui possèdent des pièces buccales de type piqueur et qui peuvent s'attaquer aux poules dans les bâtiments d'élevages (Lancaster Jr and Meisch, 1986) mais ces espèces se développent principalement en dehors des bâtiments d'élevage et leurs populations dans les bâtiments n'atteint que rarement une densité importante (Axtell, 1999).

2.2.2 Les arthropodes détritivores et coprophages

Le fumier, la litière et l'aliment pour les poules constituent une source alimentaire et un milieu de développement idéal pour une grande diversité d'arthropodes détritivores et coprophages tels que des acariens, des mouches et des coléoptères (Axtell, 1986; Brady, 1970b, 1970a; Lancaster Jr and Meisch, 1986). Les acariens astigmatés (Acari : Astigmata) sont des acariens détritivores omniprésents dans la litière et le fumier de volaille (Brady, 1970a; Roy et al., 2017). Ces acariens se nourrissent des champignons qui se développent sur les matières en cours de décomposition telles que la fiente d'oiseaux et leur aliment. Les conditions environnementales dans les bâtiments d'élevage permettent un développement rapide et des densités très élevées de leurs populations (Mullen and Durden, 2009). Ces acariens sont des espèces phorétiques qui arrivent dans les bâtiments d'élevage transportés sur les arthropodes ailés tels que les mouches et les coléoptères (Houck and OConnor, 1991). Les mouches domestiques et les mouches du fumier sont des insectes coprophages omniprésents et abondants dans le fumier de poules pondeuses. Les acariens astigmatés et les mouches (principalement leurs larves) sont des proies principales pour plusieurs espèces d'insectes et d'acariens prédateurs qui se développent dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses (Barker, 1991, 1968; Geden et al., 1988).

2.2.3 Les arthropodes prédateurs et parasitoïdes

Une grande diversité d'arthropodes carnivores se développe naturellement dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses. Les arthropodes parasitoïdes natifs dans les bâtiments d'élevage sont principalement représentés par quelques espèces hyménoptères (Hymenoptera : Pteromalidae) qui parasitent les larves de différentes espèces de mouches (Mann et al., 1990). La diversité d'arthropodes prédateurs dans les bâtiments d'élevage, au moins en Europe, est relativement élevée (Brady, 1970a; Geden et al., 1988; Maurer, 1993; Roy et al., 2017). Ces prédateurs sont principalement des arachnides et des insectes généralistes qui se nourrissent de différentes espèces de proies. Les arachnides prédateurs comprennent des araignées (Arachnida : Aranea), des pseudoscorpions (Arachnida : Pseudoscorpionida) et des acariens prédateurs (Arachnida : Mesostigmata). Les acariens prédateurs représentent le groupe taxonomique le plus diversifié (Roy et al., 2017). Les insectes prédateurs sont principalement représentés par des coléoptères (Insecta : Coleoptera) (Hulley and Pfleiderer, 1988).

2.3 Le pou rouge de poules *Dermanyssus gallinae*

2.3.1 Position taxonomique, distribution géographiques et spectre d'hôte de *D. gallinae*

Dermanyssus gallinae (De Geer 1778) appartient à l'ordre de parasitiforme Mesostigmata (Gamasida), le (cohorte) Gamasina, la superfamille Dermanyssoidea, la famille de Dermanyssidae. (Krantz, 1978). La superfamille Dermanyssoidea comprend des acariens parasites des animaux et également des acariens prédateurs de microarthropodes dans le sol, la litière, les substrats en cours de décomposition. Les acariens parasites dans cette superfamille sont généralement des habitants des nids de vertébrés ou d'invertébrés. Ces acariens sont des paraphages (se nourrissant des exudats d'hôtes arthropodes), des

ectoparasites hématophages ou des endoparasites du système respiratoire ou auditif des vertébrés (Dowling and OConnor, 2010). Les espèces membres de la famille des Dermanyssidae Kolenati, 1859, sont des ectoparasites hématophages obligatoires associés aux oiseaux et aux mammifères (Moss, 1978). Le genre *Dermanyssus* Dugès 1834 est actuellement composé de 26 espèces principalement parasites des oiseaux (Knee, 2008; Roy et al., 2009; Roy and Chauve, 2007). *Dermanyssus gallinae* est la seule espèce parasite du genre *Dermanyssus* retrouvée dans les bâtiments d'élevage de volaille. Néanmoins, cette espèce est composée de plusieurs lignées différentes plus ou moins génétiquement isolées (Roy et al., 2009). La majorité des espèces du genre *Dermanyssus* est présente sur plusieurs continents (Roy and Chauve, 2007). *Dermanyssus gallinae* est un ectoparasite cosmopolite et il a la distribution géographique la plus large (Sparagano et al., 2014). *Dermanyssus gallinae* a été recensé dans 16 pays européens, en Afrique (Maroc, Algérie), en Asie (Japon, Chine, Inde, Israël), aux Etats-Unis, Canada, Brésil), en Australie (Mul, 2016; Sparagano et al., 2014). Les espèces du genre *Dermanyssus* ont généralement un spectre d'hôte assez large, en particulier les espèces du groupe *gallinae*.

L'association à plusieurs hôtes est caractéristique de ce genre (Moss, 1978). *Dermanyssus gallinae* a un spectre d'hôte très large, il parasite environ 50 espèces des oiseaux domestiques et sauvages appartenant à 12 familles différentes (Roy and Chauve, 2007). *Dermanyssus gallinae* peut occasionnellement piquer l'homme (Cafiero et al., 2019), et peut aussi attaquer les chats (Di Palma et al., 2018) et les rongeurs (Kowal et al., 2014) surtout en cas d'absence d'hôte aviaire. Malgré le fait que *D. gallinae* est capable d'attaquer l'homme et d'ingérer son sang, *D. gallinae* ne semble pas capable de se développer et de se reproduire suite à un repas du sang humain (Sikes and Chamberlain, 1954). Sike et Chamberlain (1954) ont montré qu'un faible pourcentage des femelles de *D. gallinae* ont réussi à prélever le sang humain au cours d'une expérimentation, et qu'aucune de ces femelles n'a pondu par la suite.

2.3.2 La notion de microprédateur

La prédation est définie comme une interaction trophique dans laquelle un organisme en consomme un autre (la proie) complètement ou partiellement ce qui cause un effet négatif direct sur l'individu proie (normalement sa mort) (Begon et al., 2006). Le prédateur consomme plusieurs proies pendant sa vie. Le parasitisme est défini comme une forme de symbiose dans lequel un organisme (le parasite) utilise un autre (l'hôte) comme un habitat et dépend de lui comme source nutritionnelle ce qui cause un effet négatif sur l'individu hôte. Cet effet négatif n'implique pas forcément la mort de l'hôte. L'impact négatif des parasites sur leur hôte augmente avec le nombre des individus par hôte. Cette définition du parasitisme ne comprend pas les arthropodes parasitoïdes dont l'effet négatif sur l'individu hôte implique forcément sa mort (Lafferty and Kuris, 2002; Raffel et al., 2008). Les parasites peuvent être divisés en deux groupes : les ectoparasites (qui vivent sur le corps de leur hôte, e.g. la majorité des arthropodes) et les endoparasites (qui vivent dans le corps de leur hôte, e.g. protozoaires et certains vers parasites) (Bush et al., 2001).

Le terme 'microprédateur' est employé pour décrire les ectoparasites qui ne vivent pas sur leur hôte et se nourrissent de plusieurs individus de l'hôtes (comme un prédateur), mais

ils affectent leur hôte (individu) en fonction de leur densité (comme les parasites) (Lafferty et al., 2008; Lafferty and Kuris, 2002). Les arthropodes hématophages, selon leur mode de vie, sont considérés soit comme des parasites typiques (pou de tête) soit comme des microprédateurs (les moustiques et punaises de lit). Il existe certains types d'hématophages qui se situent à l'interface entre ces deux catégories (ex. tiques dures). En ce qui concerne le genre *Dermanyssus*, ce genre contient deux groupes d'espèces qui diffèrent dans leur association avec leur hôte. Les espèces du groupe *hirsutus* qui se comportent comme des parasites typiques et passent leur vie sur leur hôte, et les espèces de groupe *gallinae* qui se comportent comme des microprédateurs et ne grimpent sur l'hôte que pour de brefs et rares repas de sang. *Dermanyssus gallinae* appartient au groupe *gallinae* et il a un comportement de microprédateur car (1) il est capable de se nourrir successivement sur différents individus au cours d'un unique stade (adulte femelle), (2) il passe l'essentiel de sa vie éloigné de l'hôte (Moss, 1978; Roy, 2009).

2.3.3 Morphologie et biologie générales de *D. gallinae*

Dermanyssus gallinae a un corps d'une forme ovale, les femelles adultes font 750 µm de long et 400 µm en largeur. Quand les femelles sont complètement gorgées du sang, leur taille augmente jusqu'à 1000µm (Figure 5). La cuticule de l'acarien est transparente et sans couleur chez l'individu à jeun, l'acarien devient rouge brillant quand il est fraîchement gorgé, puis la couleur change avec la digestion du sang variant de rouge très foncé (presque noir) au gris-blanc en fin de digestion (Wood, 1917). Les mâles adultes de *D. gallinae* sont plus petits que les femelles, leurs pièces buccales sont moins longues que celles des femelles et ils ne se nourrissent pas (Pound and Oliver Jr, 1976; Wood, 1917). Bien qu'haplo-diploïde, *Dermanyssus gallinae* n'est pas parthénogénétique, l'accouplement est nécessaire pour déclencher les cycles de ponte (cycles gonotrophiques) chez la femelle. *Dermanyssus gallinae* est aussi une espèce anautogène (les femelles ne peuvent pas pondre sans consommer une certaine quantité du sang) comme chez les moustiques qui posent des problèmes de santé publique. Les femelles de *D. gallinae* se nourrissent jusqu'à satiété avant chaque cycle de ponte. Les femelles gorgées de sang peuvent ingérer 2,7 fois leur poids de sang et contiennent alors 204 mg de sang en moyenne (Sikes and Chamberlain, 1954).

Sous les conditions optimales, la femelle commence à pondre 24 h après la prise de son repas sanguin. Elle peut pondre entre 1 et 8 œufs après chaque repas (Tucci et al., 2008; Wang et al., 2018) et elle peut réaliser jusqu'à huit cycles gonotrophiques durant sa vie avec une fécondité moyenne de 23 œufs par femelle (Oliver Jr, 1966). Le cycle de développement de *D. gallinae* de l'œuf jusqu'à l'adulte passe par trois stades : larve, protonympe, deutonympe. La larve de *D. gallinae* a trois paires de pattes contrairement aux autres stades qui en ont 4 paires. La larve est un stade éphémère, elle ne se nourrit pas et mue en 24-48h pour donner une protonympe. Par contre, un unique repas de sang est nécessaire pour passer du premier au deuxième stade nymphal et du deuxième stade nymphal au stade adulte (mâle et femelle) (Figure 6). L'accouplement a lieu directement après la dernière métamorphose (mue) et avant que la nouvelle femelle réalise son premier repas sanguin (Wood, 1917). La température optimale de développement pour *D. gallinae* est 25-30°C (Tucci et al., 2008). La survie des protonymphes et des femelles adultes est maximale sous une

humidité relative RH de 75-90% (Nordenfors et al., 1999). Sous ces conditions, le cycle de vie peut être accompli en 7-8 jours (Maurer and Baumgärtner, 1992; Tucci et al., 2008). Les températures plus basses que -20°C ou plus élevées que 45°C sont considérées létales pour *D. gallinae* (Nordenfors et al., 1999). Cependant, des individus de différents stades restent vivants après avoir passées 24h à -20°C (Roy, obs. personnelles). A 5-25°C avec une humidité relative d'environ 75% HR, des individus de *D. gallinae* peuvent survivre entre 6 et 9 mois sans se nourrir (Nordenfors et al., 1999).



Figure 5. Femelles adultes de *D. gallinae* (a) avant et (b) après la prise de repas sanguin, photo par G. Ztiki

Dermanyssus gallinae s'attaque aux oiseaux au repos et principalement durant la nuit (Kirkwood, 1968), mais les acariens affamés (sans hôte disponible pendant plusieurs jours) peuvent s'attaquer à leur hôte même durant le jour et en présence de la lumière (Kilpinen, 2005; Kirkwood, 1968). Les acariens grimpent sur l'oiseau, principalement en passant par ses pattes, la prise de repas du sang est normalement rapide et dure quelques minutes (5-7 selon Lagutnko, 1963) (30-60 minutes selon (Maurer et al., 1988)). Après l'acquisition de son repas sanguin, *D. gallinae* se retire pour chercher des refuges où il va digérer le sang et se reproduire (Wood, 1917). Dans ces refuges, les acariens forment des agrégats composés de différents stades de développement (Figure 7) en se plaçant en plusieurs couches où les stades non adultes (œufs, larve, protonymphes) se situent au centre (ou à la base) de l'agrégats, et les adultes forment les couches supérieures. Entrekin et Oliver (1982) ont indiqué que l'agrégation chez *D. gallinae* est due au moins partiellement à la thigmokinesie et aux phéromones. La thigmokinesie est le fait que les individus deviennent akinétiques (ne bougent plus) au contact d'un substrat ou d'autres individus. Les individus gorgés de sang chez *D. gallinae* s'agrègent plus vite et forment des agrégats plus stables que les acariens affamés (qui ont déjà digéré) (Entrekin and Oliver, 1982).

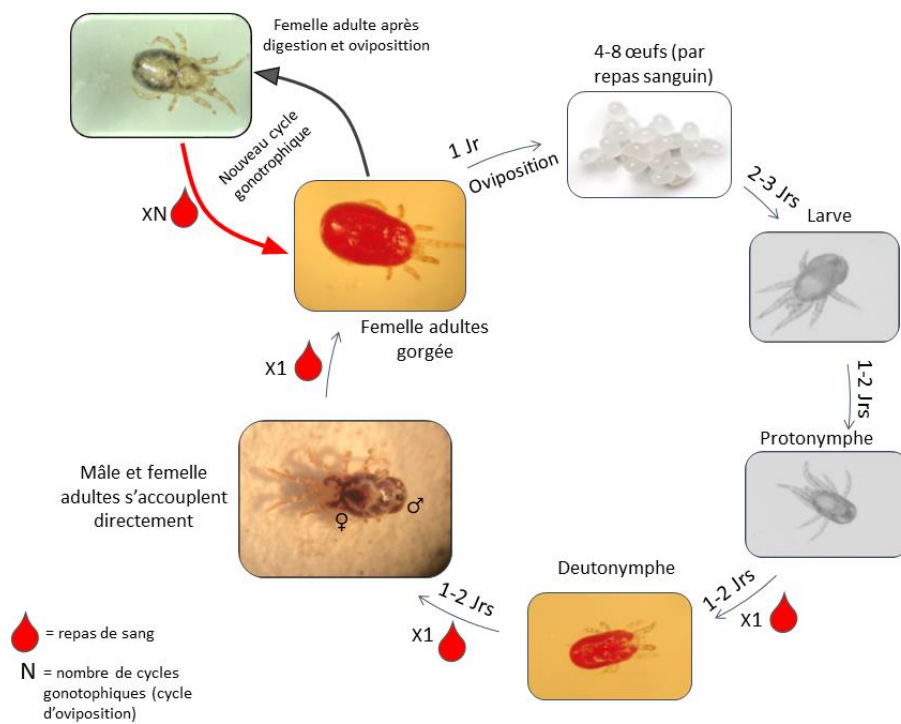


Figure 6. Cycle de vie de *D. gallinae*. Les durées correspondent aux valeurs obtenues dans la littérature dans les conditions (25°C, 75±10 RH%). (Maurer and Baumgärtner, 1992; Tucci et al., 2008)

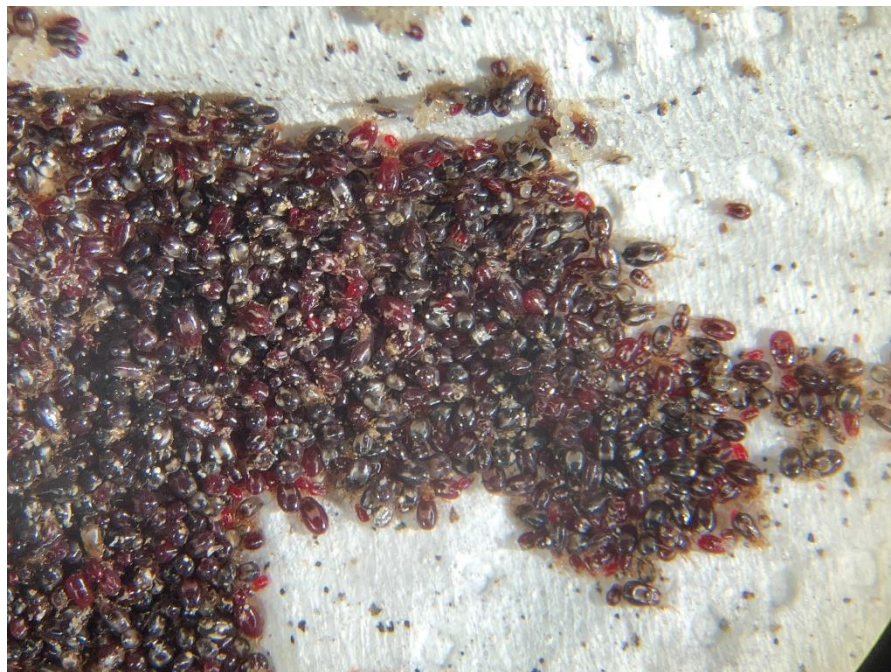


Figure 7. Agrégat contenant des individus de différents stades de développement de *D. gallinae*. Photo par G.Ziki.

2.3.4 Elément de dynamique temporelle et spatiale de *D. gallinae* dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses.

Les études sur la structure génétique des populations de *D. gallinae* dans les bâtiments d'élevage de poules infestés ont montré que ces populations sont fortement différenciées des populations sauvages retrouvées dans les nids d'oiseaux (Øines and Brännström, 2011; Roy and Buronfosse, 2011). Cela suggère que la contamination des bâtiments d'élevage n'est pas spécialement issue des populations sauvages. Ces études ont suggéré que *D. gallinae* arrivait dans les bâtiments d'élevage principalement via le transfert de matériels contaminés (cages des poules) et d'oiseaux (Øines and Brännström, 2011; Roy and Buronfosse, 2011). Dans un bâtiment d'élevage de pondeuses, les agrégats de *D. gallinae* se trouvent au niveau des caillebotis, des perchoirs et des nids principalement (Figure 8) (Stockton, 2004). Nordenfors and Hoglund (2000) ont montré que la distribution spatiale de *D. gallinae* dans le bâtiment d'élevage est liée aux différences spécifiques des poules dans leur choix d'endroit de repos. Lorsque les poules dorment sur les perchoirs les plus bas, *D. gallinae* tend à s'agréger au niveau plus bas que lorsque les poules dorment sur les perchoirs supérieurs. *Dermanyssus galliae* peut se loger et former des agrégats sous les fientes sèches (Bon et al., 2003). La présence de *D. gallinae* dans la fosse à fumier a été rapportée par plusieurs études (Maurer et al., 1988; Roy et al., 2017; Stockton, 2004). Stockton (2004) a suggéré que la présence de *D. galliae* dans le fumier est liée probablement aux individus qui tombent dans la fosse à fumier pendant la prise de leur repas (quand l'oiseau se gratte). Les femelles gorgées qui tombent dans la fosse à fumier pourraient ensuite générer des agrégats dans la fosse. En effet, les pièges adhésifs posés sur les trajets empruntés par *D. gallinae* entre la fosse à fumier et la zone de repos des poules capturent des individus non gorgés de sang et qui se dirigent de la fosse vers la zone de repos des poules.

2.3.5 L'impact économique et sanitaire de *D. gallinae* dans les élevages de poules pondeuses et sa prévalence en Europe.

Le parasitisme de *D. gallinae* a des impacts importants sur le bien-être des poules. Les piqûres d'acariens et leur mouvement provoquent des irritations et des démangeaisons intenses chez les poules et particulièrement pendant la nuit. Cela perturbe leur repos et augmente leur niveau de stress. Les poules dans les élevages infestés passent plus de temps à se lisser les plumes ce qui interrompt leur alimentation (Chauve, 1998; Kilpinen, 2005). L'infestation de *D. gallinae* induit de l'anémie et une réduction de la prise de poids chez les poules dans les élevages infestés (Kilpinen, 2005; Wojcik et al., 2000). Kirkwood (1967) a montré que l'exposition des poules à une charge très élevée de *D. gallinae* provoque une anémie létale chez les poules, et que cette anémie s'est produite plus tôt chez les jeunes poulets que chez les poules les plus âgées. Les infestations de *D. gallinae* ont diminué les taux de ponte de 25 % et ont augmenté la mortalité de 5 à 52 poules par jour dans un bâtiment d'élevage fortement infesté (Cosoroaba, 2001).

En plus des impacts directs de l'hématophagie sur les poules, *D. gallinae* a un impact indirect en étant un vecteur de pathogènes aviaires viraux et bactériens, qui peuvent même pour certains être pathogènes pour l'homme (Sigognault Flochlay et al., 2017). En 1944, Smith et al. a confirmé le rôle de *D. gallinae* comme vecteur du virus de l'encéphalite de St. Louis,

un pathogène aviaire transmissible à l'homme , et que *D. gallinae* était responsable de la persistance de ce virus dans la nature (Smith et al., 1947, 1944).

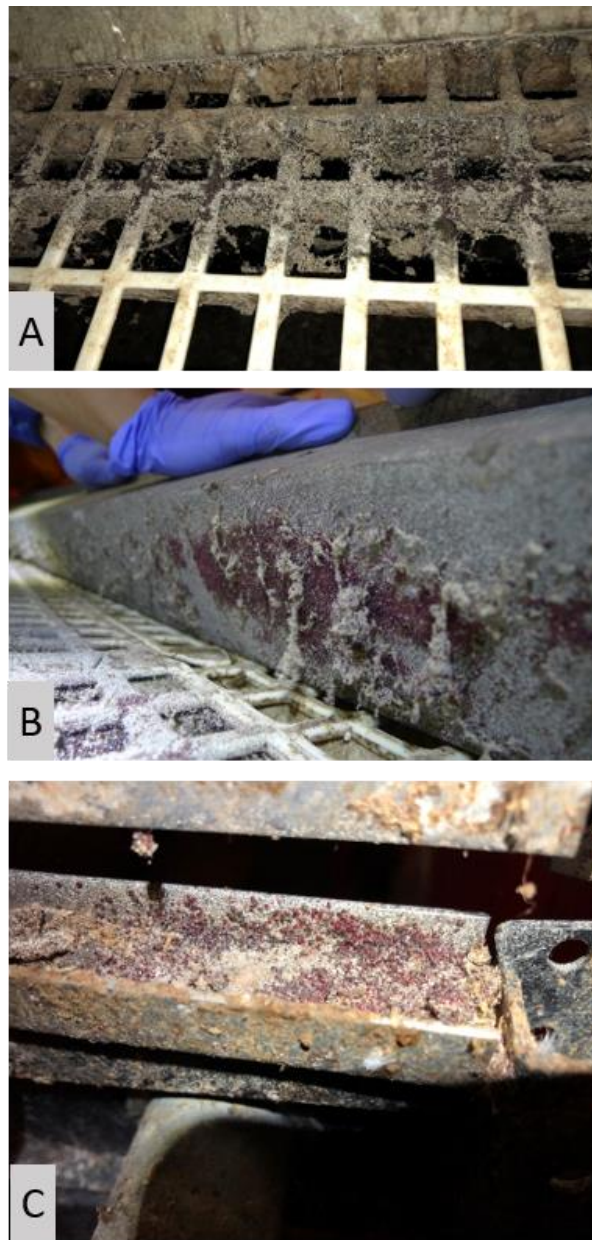


Figure 8. Agrégats de *D. gallinae* situés (A) au niveau des caillebotis, (B) sous la ligne d'alimentation, (C) au point de jonction des perchoirs dans un bâtiment d'élevage de poules pondeuses au sol, photo par G. Zriki.

Depuis, plusieurs études ont montré que *D. gallinae* était impliqué dans la transmission d'autres virus et bactéries comme la maladie de Newcastle, plusieurs encéphalomyélites, et les bactéries *Escherichia coli*, *Staphylococcus* et *Salmonella* spp. (Pugliese et al., 2019; Valiente Moro et al., 2009). La capacité de *D. gallinae* à survivre à la privation d'hôte pendant la période de vide sanitaire entre les bandes exacerbe le risque de contamination entre les bandes successives dans un même bâtiment d'élevage. Ce qui augmente le risque sanitaire surtout en

cas d'agents pathogènes qui imposent l'éradication des élevages infestés comme les salmonelles.

Les infestations de *D. gallinae* causent les pertes économiques les plus conséquentes dans les élevages de poules pondeuses par rapport aux autres type d'élevages de volailles. Dans les élevages de poulet de chair et les élevages d'autres espèces de volailles (dinde, canard, pintade, etc), *D. gallinae* n'a pas été rapporté comme un ectoparasite d'importance économique (Axtell, 1999). En élevage de poules pondeuses, la longue durée de la bande (12-13 mois) permet un développement plus important des populations de *D. gallinae*. Aucune tendance claire de la prévalence des infestations de *D. gallinae* n'a été mise en évidence par rapport au système d'élevage (conventionnel ou alternatif) (Sparagano et al., 2009, 2014). Néanmoins, certains auteurs ont constaté une prévalence plus élevée de *D. gallinae* dans les élevages moins intensifs (au sol) que dans les élevages en cages aménagées (Sparagano et al., 2009). Höglund et al. (1995a) ont montré qu'en Suède, 2% des élevages en cages étaient infestés par *D. gallinae* alors que la prévalence s'élevait à 33% en élevage au sol et 67% dans les basses-cours familiales. Arkle et al. (2006) ont également confirmé que l'abondance de *D. gallinae* dans les élevages alternatifs est beaucoup plus élevée que dans les élevages en cages en Grande Bretagne. Au contraire, Faleiro et al. (2015) n'ont pas trouvé de différence d'abondance de *D. gallinae* entre les élevages en cage et les élevages au sol.

La moyenne de la prévalence de *D. gallinae* dans les élevages de poules pondeuses dans les principaux pays européens était de 83% entre les années 1998 et 2013 (Mul, 2016). Sleenckx et al., (2019) ont démontré un effet négatif significatif de l'infestation de *D. gallinae* sur les taux de ponte, taux d'œufs premier choix, poids de l'œuf et production totale en œufs. Comme ces paramètres déterminent en grande partie la productivité des élevages, les infestations de *D. gallinae* peuvent avoir un effet majeur sur la rentabilité de la production des bâtiments infestés. Les conséquences des infestations dans les élevages européens étaient d'environ 131 millions d'euros et sont passées à une estimation de 231 million euros en 2017 (Van Emous, 2017; Van Emous et al., 2006). L'homme n'est pas considéré comme un hôte pour *D. gallinae*. Cependant *D. gallinae* est capable de piquer l'homme et d'ingérer son sang occasionnellement quand ses hôtes principaux ne sont pas disponibles (Boyt, 1937; Williams, 1958). La présence de *D. gallinae* dans les élevages de poules pondeuses est considérée comme un risque sanitaire pour les éleveurs et les ouvriers (Cafiero et al., 2011). Les attaques occasionnelles sur l'homme attribuées à *D. gallinae* provoquent des éruptions, des lésions cutanées et des démangeaisons (dermatoses). Malgré la prévalence élevée de *D. gallinae* dans les élevages de poules pondeuses en Europe (Mul, 2016), le nombre de cas d'attaque signalées sur les personnes fréquentant les élevages reste relativement faible. Le nombre de cas de dermatoses induites par *D. gallinae* est relativement plus élevé dans les milieux urbains par rapport à celui recensé chez les personnes fréquentant les élevages de poules pondeuses infestés (Akhoundi et al., 2020; Cafiero et al., 2019; Pezzi et al., 2017). Sachant que *D. gallinae* qui se trouve dans les nids de pigeons appartient à une espèce cryptique et non pas à *D. gallinae sensu stricto* (Roy and Buronfosse, 2011), le nombre élevé de cas de dermatoses est probablement dû à l'espèce cryptique associée aux pigeons urbains. Cependant, la présence de *D. gallinae* dans les élevages de poules pondeuses présente un désagrément pour les ouvriers à cause de sa tendance à grimper sur eux pendant leurs travaux quotidiens dans les élevages, surtout dans les cas de

fortes infestations. Dans certains pays comme le Maroc, les ouvriers sont payés plus cher pour travailler dans des élevages infestés de *D. gallinae* que dans les élevages qui ne sont pas infestés (Sparagano et al., 2014).

2.3.6 Méthodes de lutte actuelles contre *D. gallinae* dans les bâtiments d'élevage

Les méthodes de lutte actuelles contre *D. gallinae* peuvent être divisées en deux grandes catégories : les méthodes conventionnelles et les méthodes alternatives. Les méthodes conventionnelles visent à prévenir les infestations et à les contrôler par les traitements chimiques (pesticides). Ces méthodes n'ont toujours pas montré une efficacité de contrôle satisfaisante contre *D. gallinae*. En outre, l'utilisation de pesticides a des conséquences négatives connues dans les agroécosystèmes et sur l'environnement. Les méthodes alternatives sont des méthodes non invasives pour l'environnement et elles comprennent des approches en cours de développement, certaines de ces méthodes sont actuellement appliquées mais avec un succès variable.

La lutte contre les infestations de *D. gallinae* commence avec la prévention de l'introduction des acariens et de l'établissement de leurs populations dans les bâtiments d'élevage (Mul et al., 2009). Mul (2017) ont évalué les possibilités et les risques associés aux différentes voies potentielles de l'introduction de *D. gallinae* dans les bâtiments, ainsi que les actions correctives possibles pour prévenir l'introduction et la propagation des acariens. L'implémentation de la majorité des mesures préventives dépend de la détection précoce de l'infestation de *D. gallinae* et de la quantification précise de la taille de ces populations. Différents systèmes de monitoring sont disponibles actuellement. Ces systèmes consistent en l'utilisation de systèmes de piégeage simples (Chirico and Tauson, 2002; Höglund et al., 1995b; Nordenfors and Hoglund, 2000) ou de systèmes de comptage automatisés (Mul et al., 2017, 2015). Cependant, les systèmes de piégeage traditionnels ne permettent pas une détection et quantification précise des infestations de *D. gallinae*. Le système automatisé est coûteux et n'est pas communément utilisé dans les élevages commerciaux aujourd'hui. Les études sur la dynamique des populations de *D. gallinae* et la surveillance des infestations ont permis de progresser dans la réflexion sur le contrôle préventif et l'évaluation des mesures de prévention ou de contrôle de *D. gallinae* (Huber et al., 2011; Lammers et al., 2017; Mul et al., 2009; Mul, 2017; Wang et al., 2018). Cependant, l'absence d'un système de monitoring efficace de *D. gallinae* est un verrou principal à l'implémentation des différentes mesures préventives et de lutte.

Le contrôle chimique par pulvérisation d'acaricides de synthèse est la méthode de lutte la plus répandue dans les élevages industriels de poules pondeuses (Chauve, 1998; Sparagano et al., 2014). Plusieurs familles d'acaricides ont été utilisées pour le traitement dans les bâtiments d'élevage ; carbamates (carbaryl, methomyl, propoxur), organophosphorés (dichlorvos, fenitrothion, chlorpyrifos, diazinon), et pyréthrénoïdes (cyhalothrin) (Marangi et al., 2008; Zeman and Železný, 1985). Actuellement, un nombre très limité de produits de synthèse est autorisé à l'utilisation. Plusieurs produits ont été retirés du marché européen conformément aux nouvelles restrictions sur l'utilisation des pesticides dans la production de volaille (Sigognault Flochlay et al., 2017; Sparagano et al., 2014). Les produits autorisés à l'utilisation durant la bande (en présence des poules, et donc d'oeufs) sont des acaricides peu

rémanents pour satisfaire les limites maximales de résidus dans les œufs. La pulvérisation des acaricides ou d'autres produits n'atteint qu'une petite partie de la population car les individus, se logent dans des interstices étroits. En plus, les acariens qui ne sortent de leurs habitats que pour se nourrir peuvent ne pas rencontrer les surfaces traitées sur des périodes de plusieurs jours (Nordenfors and Hoglund, 2000), suffisantes pour que certaines molécules se dégradent et perdent leur pouvoir toxique. Par conséquent, ce type de traitement ne permet pas un niveau de contrôle satisfaisant des infestations. (Nordenfors and Hoglund, 2000) ont montré que les populations de *D. gallinae* se sont rétablies et ont retrouvé l'abondance initiale environ 3 mois après le traitement chimique. En outre, le développement de résistances chez *D. gallinae* contre certains acaricides limite l'efficacité des traitements (Beugnet et al., 1997; Katsavou et al., 2020).

Pendant la période de vide sanitaire, les éleveurs peuvent appliquer plusieurs actions de nettoyage et des désinfections qui visent à débarrasser les bâtiments des populations de différents bioagresseurs dont *D. gallinae*. Ces actions ne sont pas applicables en présence des poules, comme le nettoyage exhaustif des bâtiments avec l'eau à haute pression et de la vapeur ainsi que l'augmentation de la température du bâtiment d'élevage au-delà de 45°C (Mul et al., 2009). De telles pratiques ont montré plus d'efficacité quand elles étaient accompagnées par des traitements chimiques, surtout qu'un nombre plus grand d'acaricides est autorisé à l'utilisation pendant la période de vide sanitaire qu'en présence des poules (Sigognault Flochlay et al., 2017). En plus de l'effet direct de désinfection et de nettoyage sur l'élimination des acariens, le vide sanitaire participe à diminuer la population de *D. gallinae* par la privation de l'hôte. Cependant, et malgré les traitements physiques et chimiques pendant la période de vide sanitaire visant à nettoyer les bâtiments de *D. gallinae*, les acariens persistent et réapparaissent pendant la bande suivante (Nordenfors and Hoglund, 2000). Il existe actuellement une nouvelle famille d'acaricides (les isofloxacines) et un nouveau produit l'Exzolt® autorisé à l'utilisation dans les bâtiments d'élevage contre *D. gallinae*. Cet acaricide est utilisé non pas par pulvérisation mais par addition à l'eau de boisson des poules, ce qui permettrait de surmonter l'inefficacité des pesticides pulvérisés qui ne couvrent pas toute la population de *D. gallinae* dans le bâtiment (Dolz, 2017).

Il existe différentes stratégies alternatives de lutte contre *D. gallinae*. Les poussières inertes à base de silice sont utilisées pour lutter contre *D. gallinae* par pulvérisation (Kilpinen and Steenberg, 2009; Sparagano et al., 2009, 2014). La silice absorbe les lipides de la cuticule et cause la mortalité des acariens par immobilisation et dessiccation (Maurer et al., 2009; Schulz et al., 2014). L'efficacité de la silice contre *D. gallinae* dépend principalement de la préparation du produit et de l'humidité ambiante (Alves et al., 2020; Kilpinen and Steenberg, 2009). Plusieurs produits ont provoqué une mortalité élevée chez les acariens in-vitro (65-89% pour la poudre de silice). L'efficacité de la poussière inerte de silice et de la terre de diatomée (équivalent d'origine naturelle) baisse significativement avec l'augmentation de l'humidité relative (> 85%) (Kilpinen and Steenberg, 2009). Kilpinen et Steenberg (2009) ont suggéré qu'un traitement efficace avec cette poussière devrait couvrir la totalité de la surface dans le bâtiment d'élevage, ce qui est relativement difficile à mettre en œuvre.

Les produits d'origine végétale et les huiles essentielles de plusieurs types de plantes ont montré une toxicité élevée pour *D. gallinae* soit par application directe, soit par fumigation (George et al., 2008; Mul et al., 2009; Quilicot et al., 2020; Tabari et al., 2020). Plusieurs produits d'origine végétale sont commercialisés pour la lutte contre *D. gallinae* et autres bioagresseurs dans la production animale, dont certains (thym, huile de neem) ont montré une efficacité élevée (jusqu'à 96% de réduction de la population) (George et al., 2010, 2008; Gorji et al., 2014). L'efficacité de certains produits commerciaux est variable. La variabilité de la production de métabolites secondaires par les plantes en fonction des conditions environnementales pourrait expliquer la variabilité de l'effet des produits à base de plantes (Mul et al., 2009).

La manipulation du système immunitaire des poules comme un moyen de contrôle de *D. gallinae* est une méthode de lutte en cours de développement (Arkle, 2007; Arkle et al., 2006). L'effet de plusieurs vaccins sur la viabilité et le développement de *D. gallinae* a été testé. Des tests *in-vitro* ont montré une mortalité accrue chez *D. gallinae* nourris du sang des poules traitées avec un vaccin (Bartley et al., 2009; Harrington et al., 2009, 2011). Les résultats de l'application de la technique de vaccination sur le terrain sont prometteurs, mais la stabilité des anticorps dans le sang des poules et ainsi que l'efficacité nécessitent d'être améliorées (Bartley et al., 2017).

Le potentiel des ennemis naturels dans la lutte biologique contre *D. gallinae* a été étudié principalement pour les champignons entomopathogènes et les arthropodes prédateurs. Plusieurs isolats de champignons entomopathogènes *Metarrhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana* sont capables de parasiter *D. gallinae* et d'entraîner une mortalité élevée *in-vitro* (> 75% et >65% de mortalité pour *B. bassiana* et *M. anisopliae* resp.). Cependant, l'efficacité sous les conditions semi-terrain et sur le terrain n'était pas complètement satisfaisante (Tavassoli et al., 2011). Le succès de l'utilisation de champignons tels que le *Metarrhizium* dépend principalement de la maintenance d'une humidité élevée >85% Rh ce qui est plus élevé que l'humidité habituelle dans les bâtiments d'élevage (Tomer et al., 2018). Plus de recherche est requis pour assurer l'efficacité de ces champignons sur le terrain. Une étude récente a démontré une capacité élevée d'un isolat de *B. bassiana* à réduire la population de *D. gallinae* sur le terrain (De Oliveira et al., 2020).

Un certain nombre d'acariens et insectes prédateurs ont été identifiés comme des candidats potentiels pour la lutte biologique contre *D. gallinae*. Depuis 2012, trois espèces d'acariens prédateurs *Androlaelaps casalis* (Berlese), *Cheyletus eruditus* (Schrank) et *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) sont utilisés comme agents de lutte biologique contre *D. gallinae* (Anatis Bioprotection, n.d.; Knapp et al., 2018). *Stratiolaelaps scimitus* a été déjà commercialisé et utilisé (depuis 1990 en Europe et Amérique latine) pour lutter contre d'autres espèces de ravageurs (habitant au sol ou qui passent une partie de leur vie dans le sol) comme *Bradysia* spp., *Frankliniella occidentalis* (Pergande), *Thrips tabaci* et *Echinothrips americanus* (Moreira and de Moraes, 2015; Van Lenteren, 2012). Tuovinen (2013) a reporté que *S. scimitus* peut limiter la population de *D. gallinae* dans plusieurs environnements mais que son effet régulateur était globalement insuffisant est inconstant. Il a aussi démontré que le prédateur n'était pas capable de se reproduire et de coloniser l'environnement des

bâtiments (Tuovinen, 2013). Les deux prédateurs *A. casalis* et *C. eruditus* sont actuellement les deux espèces principalement utilisées en Europe. L'efficacité de *A. casalis* a été prouvée en conditions semi-terrain (Lesna et al., 2012). Cependant les inoculations massives d'*A. casalis* et *C. eruditus* n'ont pas montré un niveau de contrôle satisfaisant des infestations de *D. gallinae* dans les élevages (Knapp et al., 2018; Maurer and Hertzberg, 2001). Ces prédateurs sont actuellement élevés en masse et relâchés en grand nombre (lutte biologique par inondation) dans les élevages infestés, surtout au début de la bande quand la densité des populations de *D. gallinae* est faible (Knapp et al., 2018). La société qui produit et commercialise ces prédateurs (Koppert BV) recommande l'application combinée de deux espèces, *A. casalis* et *C. eruditus*, pour augmenter leur efficacité contre *D. gallinae*. Bien qu'il existe plusieurs stratégies de lutte alternative contre *D. gallinae*, aucune approche toute seule n'a montré un niveau satisfaisant de contrôle (Sigognault Flochlay et al., 2017). Plusieurs stratégies de lutte ont été suggérées compatibles et utilisables ensemble dans des programmes de lutte intégrative (Harrington et al., 2011; Sparagano et al., 2014). Cependant, pour l'instant l'application de la lutte intégrative contre *D. gallinae* est limitée globalement à combiner l'utilisation des acaricides avec quelques mesures préventives ainsi que le nettoyage et la désinfestation des bâtiments entre les bandes. L'implémentation de la lutte intégrative impliquant plusieurs stratégies alternatives de lutte contre *D. gallinae* est toujours rare. Promouvoir la lutte intégrative contre *D. gallinae* demande une véritable amélioration des stratégies alternatives de lutte telles que la lutte biologique. Les recherches menées sur l'impact des ennemis naturels de *D. gallinae* (Buffoni et al., 1997; Lesna et al., 2012; Maurer, 1993) ont fait un progrès dans le développement de la lutte biologique contre *D. gallinae* au moyen des acaridés prédateurs. Néanmoins, étant donné que l'exploitation des services écosystémiques tels que la régulation naturelle de bioagresseurs représente un aspect principal de la lutte intégrative (Luck, 1990; Macfadyen et al., 2015), l'évaluation de ce service dans l'agroécosystème « bâtiment d'élevage » représente un des éléments principaux qui doivent être explorés pour progresser dans la démarche intégrative de lutte contre ce *D. gallinae*.

3 La régulation naturelle de *D. gallinae* dans l'agroécosystème « bâtiment d'élevages de poule pondeuse »

3.1 L'impact des arthropodes prédateurs natifs sur *D. gallinae*

Les inventaires de la faune native d'arthropodes dans les bâtiments d'élevages commerciaux ont montré la présence d'une diversité relativement élevée d'arthropodes prédateurs dans cet agroécosystème temporaire (Axtell and Arends, 1990; Brady, 1970a; Faleiro et al., 2015; Lesna et al., 2009; Maurer et al., 1993; Roy et al., 2017; Silva et al., 2013). Cependant, l'effet des prédateurs natifs sur *D. gallinae* n'a été évalué que pour quelques espèces seulement. En outre, cet effet a été évalué par mesurer la présence et/ou abondance de *D. gallinae* et ses prédateurs ou en mesurant *in-vitro* la mortalité directe de *D. gallinae* par ces prédateurs, sans mettre en évidence la capacité de ces prédateurs à réduire le développement des populations de *D. gallinae*.

Les coléoptères prédateurs *Alphitobius diaperinus* (Panzer) et *Carcinops pumilio* (Erichson) ont consommé *D. gallinae* en conditions de laboratoire et ils ont montré une

préférence pour la prédation sur les stades non adultes (œufs et larves) (Kozlov, 1970; Stockton, 2004). Deux acariens prédateurs de la famille des Cheyletidae ; *C. eruditus* et *Cheyletus malaccensis* Oudemans ont été capables de compléter leurs cycles de vie et de se reproduire en se nourrissant *uniquement* sur *D. gallinae* (Maurer, 1993; Toldi et al., 2017). Tandis que *C. eruditus* a montré une préférence pour les larves de *D. gallinae* (Maurer, 1993), *C. malaccensis* était capable de se nourrir de tous les stades de développement (Toldi et al., 2017). Lesna et al. (2009) ont montré que l'acarien prédateur *A. casalis* consommait les juvéniles et les femelles adultes de *D. gallinae* en conditions de laboratoire (2,5 individus par jour). Les deux acariens prédateurs *Garolaelaps aculeifer* (Canestrini) et *S. simitus* ont également montré une capacité importante à se nourrir de *D. gallinae* (in-vitro) (Ali et al., 2012; Lesna et al., 2009). La présence de ces deux acariens prédateurs est rare dans les élevages de pondeuses et ils sont occasionnellement retrouvés dans les nids d'oiseaux. *Gaeolaelaps aculeifer* et *S. simitus* sont déjà commercialisés pour la lutte contre plusieurs arthropodes ravageurs dans les serres (Van Lenteren, 2012). Bien que la mesure de la mortalité directe de proie in-vitro permette de comparer les capacités de prédation entre espèces différentes et aient apporté des informations importantes sur la capacité de certains prédateurs natifs à consommer *D. gallinae* et de leur préférence pour le stade de proie, la simplicité de l'environnement in vitro favorise les événements de prédateurs. Les prédateurs ne trouvent pas leurs proies avec la même facilité dans l'environnement complexe de l'écosystème.

En se basant sur les données de présence et d'abondance de *D. gallinae* et des arthropodes prédateurs, il a été suggéré que plusieurs espèces de prédateurs pourraient être associées à *D. gallinae* dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuse et dans les nids d'oiseaux: *C. malaccensis*, *C. eruditus*, *Chortoglyphus arcuatus* (Troupeau) et *Acaropsis* sp. Moquin-Tandon 1863, *Blattisocius* spp. (Keegan), *A. casalis*, *G. aculeifer*, *Macrocheles muscaedomesticae* (Scopoli), *Uropodidae* et le pseudoscorpion (Faleiro et al., 2015; Lesna et al., 2009; Maurer et al., 1993; Silva et al., 2013). Cette association a été inférée par la présence de ces prédateurs dans des pièges spécifiques de *D. gallinae* (des pièges qui miment les refuges recherchés par *D. gallinae* dans les bâtiments d'élevage) ou par la corrélation de l'abondance de *D. gallinae* et de ces prédateurs. Bien que certaines espèces de ces prédateurs soient connues pour être des prédateurs potentiels de *D. gallinae*, leur rôle dans la régulation des populations de *D. gallinae* ne peut pas être évaluée seulement à travers leurs abondances relatives. Les abondances de certains taxa peuvent différer selon la technique d'échantillonnage. En outre les espèces de prédateurs les plus abondants ne sont pas forcément celles qui ont l'effet le plus important dans la dynamique des populations de leurs proies (Abram et al., 2017; Macfadyen et al., 2015). Toutefois, l'impact des prédateurs natifs sur les populations de *D. gallinae* a été exploré à l'échelle du bâtiment d'élevage, mais cet effet n'a pas été quantifié. Stockton (2004) a suivi la fluctuation des populations de *D. gallinae*, *A. diaperinus* et *Ca. pumilio* durant deux saisons dans deux types d'élevage de pondeuses en cage et au sol en Grande Bretagne. Une corrélation négative faible a été trouvée entre le nombre de *D. gallinae* capturé au niveau de la zone 'des poules' et le nombre des adultes de *A. diaperinus* dans la fosse à fumier, tandis que cette corrélation était positive et faible entre *D. gallinae* et *Ca. Pumilio*. Stockton a suggéré que l'extrême polyphagie de *A. diaperinus* ne

laissait pas s'attendre à une corrélation forte avec un seul type de proie. Elle a aussi suggéré que *Ca. pumilio* n'est pas un facteur important dans la mortalité de *D. gallinae* et que la préférence de ce prédateur pour les larves de mouche comme proie peut affaiblir son impact sur *D. gallinae* (Stockton, 2004). Lesna *et al.* (2009) ont mesuré une corrélation entre l'abondance de *A. casalis* et *D. gallinae* dans les nids des oiseaux (étourneau). Comme cette corrélation n'était pas détectée dans les nids occupés récemment, les auteurs ont considéré que la présence de *A. casalis* dans les vieux nids a permis une diminution plus importante de la population de *D. gallinae* en comparaison avec les nids récemment occupés colonisés progressive par *A. casalis*. Wolfs *et al.* (2012) ont évalué l'effet de la présence de *D. gallinae* et *A. casalis* dans les nids d'étourneau sur le développement des oisillons. Ils ont montré que l'augmentation de la densité de *D. gallinae* a été suivie par une augmentation importante dans la densité de *A. casalis*. Bien que ces études aient suggéré une corrélation potentielle entre les dynamiques de population de *D. gallinae* et de ses prédateurs, elles n'ont pas mesuré l'impact de ces prédateurs sur la croissance des populations de *D. gallinae*.

Jusqu'à présent l'effet de prédateurs natifs sur le développement des populations de *D. gallinae* n'a été démontré que pour deux espèces d'acariens prédateurs (*A. casalis* et *S. scimitus*) (Lesna *et al.*, 2012). Lesna *et al.* (2012) ont testé dans des cages de poules (3 poules par cages) en laboratoire, l'effet de deux acariens prédateurs *A. casalis* et *S. scimitus* (séparément) sur le développement de populations de *D. gallinae*. Ils ont montré une réduction significative de la population de *D. gallinae* par les deux prédateurs. *Androlaelaps casalis* et *S. scimitus* ont diminué la population de *D. gallinae* d'un facteur de 55 et 29 respectivement. *A. casalis* et *S. scimitus* sont connus pour être généralistes, capables de consommer plusieurs espèces de proies alternatives tels que les acariens astigmatés (Barker, 1968; Freire and De Moraes, 2007). Les auteurs n'ont pas contrôlé la contamination des cages avec d'autre arthropodes tels les acariens détritivore (Acaridae) et prédateurs (Macrochelidae et Cheyletidae). Les auteurs ont indiqué que la prédation sur *D. gallinae* a pu être diminuée par la présence des proies alternatives (acariens détritivore) (Lesna *et al.*, 2012). Cependant des interactions de prédation différentes entre *D. gallinae*, *A. casalis* et *S. scimitus* et les prédateurs contaminants auraient pu avoir lieu également.

3.2 Problématique de la thèse

Jusqu'à présent, un corpus important d'études s'est intéressé à l'impact des arthropodes natifs dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses sur *D. gallinae* et au potentiel de ces prédateurs dans la lutte biologique contre ce bioagresseur. Cependant, la relation entre la prédation sur *D. gallinae* par les prédateurs natifs et la régulation de ses populations n'était toujours pas mise en évidence. En effet, on peut considérer un prédateur comme étant un facteur suppresseur de la population d'un ravageur quand : 1) il est capable de consommer le ravageur cible régulièrement et 2) il peut avoir un impact sur la population de ce ravageur en entraînant une mortalité générationnelle importante (Furlong and Zalucki, 2010). La majorité des études qui ont exploré le potentiel des prédateurs natifs sur *D. gallinae* se sont focalisées sur la capacité des prédateurs natifs à consommer *D. gallinae*, tandis que l'impact de ces prédateurs sur la population de *D. gallinae* a été très rarement mis en évidence ou quantifié expérimentalement. En outre, alors que la diversité de la communauté

d'arthropodes prédateurs natifs est relativement élevée en élevage de pondeuses, les informations sur la capacité des prédateurs natifs à se nourrir de *D. gallinae* sont restreintes à un sous-groupe d'espèces d'acariens et d'insectes prédateurs.

Pour mettre la régulation naturelle de *D. gallinae* au profit de la lutte biologique de ce bioagresseur, nous avons besoin d'évaluer l'impact des prédateurs natifs sur *D. gallinae* à l'échelle de la communauté d'arthropodes (Abram et al., 2017; Macfadyen et al., 2015). En effet, plusieurs aspects essentiels dans l'évaluation du rôle de la communauté native d'arthropodes n'ont pas été explorés : 1) l'impact de prédateurs sur la croissance des populations de *D. gallinae* 2) l'influence des autres espèces d'arthropodes dans la communauté native (prédateurs et proies) sur l'interaction entre *D. gallinae* et ses prédateurs.

4 Objectifs de la thèse et approches méthodologiques mises en place

4.1 Objectifs

Bien que les ennemis naturels jouent un rôle essentiel dans la régulation naturelle des populations d'arthropodes tels que les espèces ravageuses des cultures, le rôle des ennemis naturels dans la régulation naturelle des populations de *D. gallinae* est toujours méconnu. Cela représente un obstacle dans le développement de la gestion durable de ces infestations dans l'agroécosystème « bâtiments d'élevage de poules pondeuses ». Au travers de cette étude, nous avons cherché à développer notre connaissance quant au rôle des arthropodes prédateurs dans la régulation naturelle de ces populations. Cet objectif principal inclut trois objectifs spécifiques :

1) Identifier les liens trophiques impliquant *D. gallinae* dans les réseaux trophiques des arthropodes spontanés des bâtiments d'élevage (Chapitre 1).

2) Explorer l'effet de la communauté native d'arthropodes sur les populations de *D. gallinae* (Chapitre 2).

3) Evaluer quel est l'effet de l'utilisation des acariens prédateurs lâchés en masse pour la lutte biologique contre *D. gallinae* sur la communauté native d'arthropodes dans les élevages de poules pondeuses (Chapitre 3).

4.2 Approches méthodologiques

Pour atteindre nos objectifs, nos stratégies exploratoires ont consisté à identifier les interactions trophiques antagonistes entre les arthropodes spontanés dans les bâtiments d'élevage (qui mange qui ?) et à évaluer à l'échelle de la communauté l'effet de ces interactions sur les dynamiques réciproques des populations d'arthropodes spontanés (différents assemblages de proies et de prédateurs).

4.2.1 Les tests de prédation *in vitro*

L'identification des interactions de prédation à travers les observations directes sur le terrain est une technique inappropriée pour la majorité des arthropodes prédateurs (Symondson, 2002). A cause des modes de prédation de type 'hit-and-run' et du fait que

certaines prédateurs consomment entièrement leurs proies, il est très compliqué de déterminer qui a mangé qui une fois que la prédation a eu lieu (Memmott et al., 2000; Symondson, 2002). L'identification microscopique du contenu de tube digestif des prédateurs peut permettre d'identifier les restes de certaines proies, mais comme la majorité des arthropodes prédateurs (spécialement dans la communauté étudiée ici) se nourrissent essentiellement de liquides (araignées, punaises hémiptères et la majorité des acariens prédateurs) (Koehler, 1999), cette méthode n'est pas applicable dans notre cas. Des techniques alternatives moléculaires (détection de l'ADN de proie dans les prédateurs) sont actuellement utilisées pour identifier les interactions de prédation dans les agroécosystèmes. Mais ces techniques alternatives ne permettent pas de différencier entre les événements de prédation effective, de consommation de proie morte (nécrophagie) et de la prédation secondaire (prédation d'un prédateur ayant ingéré la proie détectée) (Symondson, 2002). Pour ces différentes raisons, nous avons appliqué une technique simple consistant en des tests de prédation *in vitro* pour identifier les interactions de prédation parmi les différentes espèces de prédateurs et de proies potentielles. Cette technique nous a permis en même temps d'identifier la préférence des prédateurs pour l'espèce et le stade des proies et de quantifier la fréquence de prédation d'une manière standardisée et répétable. Dans cette thèse, nous avons ajouté un nouvel élément d'investigation par rapport à ce qui a été déjà fait précédemment. Cet élément concerne l'exploration de l'effet de l'état physiologique de *D. gallinae* (gorgé de sang vs à jeun) sur la probabilité de prédation. Pour avoir un nombre suffisant d'acariens en état physiologique standardisé, nous avons opté pour l'alimentation contrôlée de *D. gallinae* directement sur l'hôte (la poule). L'alimentation de *D. gallinae in-vitro* a toujours été une grande difficulté (Kirkwood, 1971) avec un succès variable et un taux très faible d'acariens se nourrissant (Arkle et al., 2010; Nunn et al., 2020). Nous avons mis en place une méthode pour alimenter des pools d'individus appartenant à *D. gallinae* sur une poule, qui a permis un taux élevé de nourrissage. Nous avons ainsi pu obtenir de manière contrôlée de grandes quantités d'acariens fraîchement gorgés, permettant la réalisation de nombreux réplicats de tests *in vitro*.

4.2.2 Utiliser l'approche 'système modèle'

La méthode expérimentale la plus convaincante pour évaluer l'impact d'un prédateur est de manipuler la densité de ce prédateur dans l'agroécosystème puis mesurer le changement dans l'abondance de la population de proie (bioagresseur) et/ou les dégâts sur l'hôte en fonction de cette densité (Symondson et al., 2002). La manipulation de la densité des arthropodes prédateurs et proies à l'échelle de l'agroécosystème n'est pas toujours possible. En outre, cela devient plus compliqué quand l'objectif est d'identifier et d'analyser les interactions à l'échelle de la communauté. Il est pratiquement impossible de manipuler la diversité d'assemblages d'arthropodes dans les écosystèmes naturels ou dans les agroécosystèmes d'une façon contrôlée, répétable et éthiquement acceptable (Pascual and Dunne, 2006). Le principe de l'approche « système modèle » est de mimer l'écosystème mère le mieux possible pour que la réponse à un changement dans le modèle s'approche au maximum de celle dans l'écosystème mère (Landner et al., 1989). L'utilisation du système modèle a eu un rôle important dans la compréhension des principes fondamentaux en écologie comme la plasticité des traits d'histoire de vie, les dynamiques prédateurs-proies, les

interactions multi-trophiques et les réseaux alimentaires (Benton et al., 2007). L'utilisation de l'approche 'système modèle' fréquente pour les microorganismes, les invertébrés comme les acariens et les insectes du sol, les interactions plante-herbivore et plante-herbivore-ennemi naturel, l'architecture de réseaux alimentaire dans les milieux aquatiques (Bonsall and Hassell, 2005). L'étude du système modèle a été rarement utilisée dans le milieu terrestre pour étudier les systèmes vertébré-ectoparasite-ennemi naturel.

Le défi méthodologique dans ce projet de recherche a été de mimer l'écosystème des bâtiments d'élevage de pondeuses à travers un système standardisé (mésocosme) permettant à la fois de mesurer le développement de *D. gallinae* et d'évaluer l'effet (à l'échelle des populations) de la communauté naturelle d'arthropodes sur ce parasite. Le « mésocosme de volaille » (Figure 9 et 10) est une enceinte qui permet d'héberger un poussin (avec eau et aliment *ad libitum*) et qui ne permet pas d'échange d'arthropodes avec le milieu extérieur. Cette unité expérimentale, construite en plusieurs dizaines d'exemplaires au laboratoire (Figure 11), a permis de relever un important défi méthodologique car il a permis :

- Un niveau de développement des populations de *D. gallinae* similaire au développement observé dans les bâtiments d'élevage de pondeuses.
- Un développement satisfaisant de populations de différentes espèces d'arthropodes du fumier, proche pour certaines des abondances observées dans les bâtiments d'élevages.

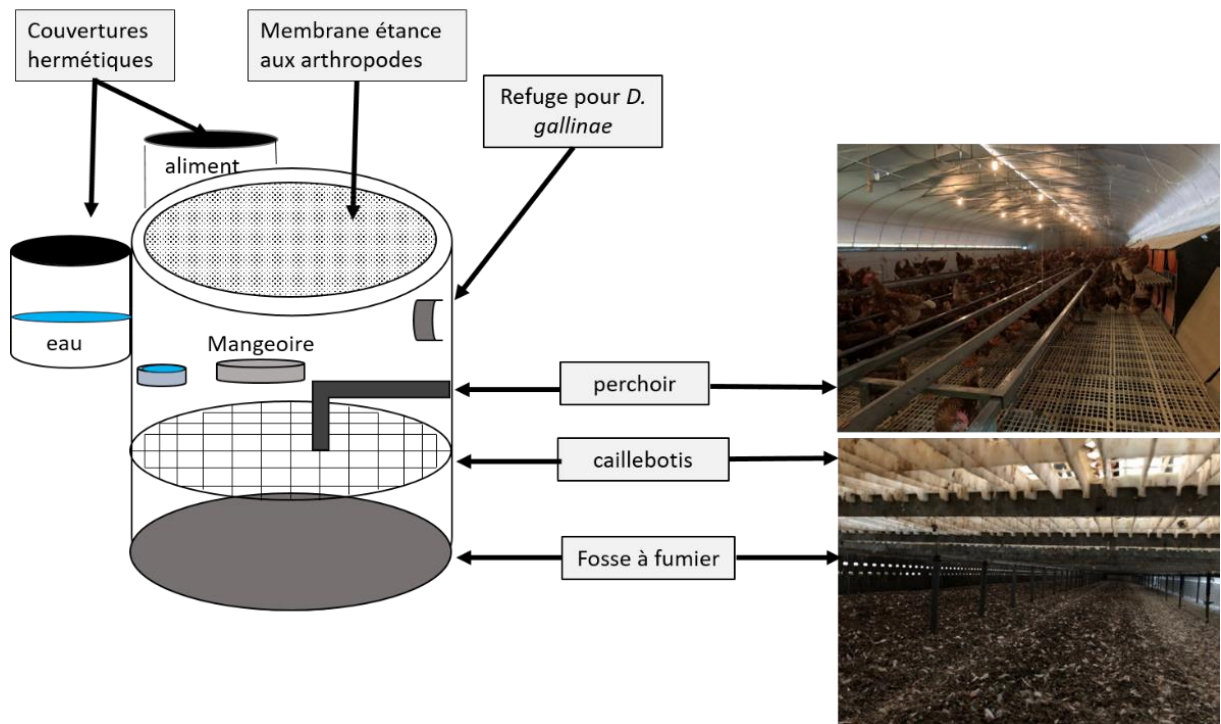


Figure 9. Concept du mésocosme de volaille (à gauche), mimant l'environnement du bâtiment d'élevage de poules pondeuses (à droite)

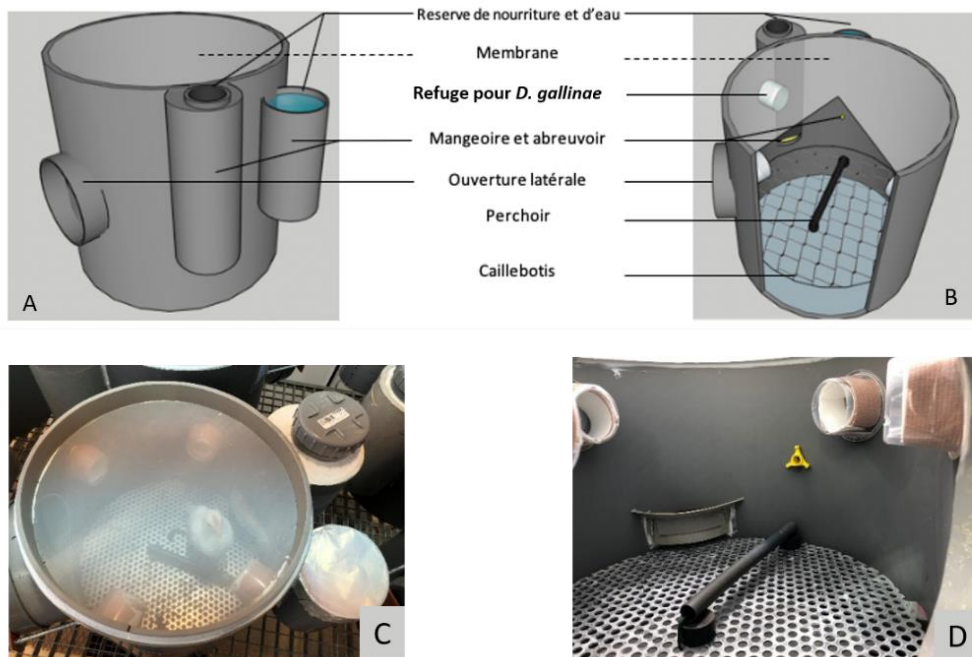


Figure 10. La construction de mésocosme : (A) image stéréoscopique vue extérieur, (B) image stéréoscopique vue intérieur, (C) mésocosme avec poussin vue extérieur, (D) mésocosme vue intérieure



Figure 11. Plusieurs exemplaires du modèle système en mésocosmes, expérience en laboratoire sous conditions contrôlées.

5 Organisation de la thèse

Cette thèse se divise en 3 chapitres, basés sur 4 articles, correspondant chacun à un aspect de notre recherche sur le rôle des prédateurs natifs dans la régulation naturelle de *D. gallinae*.

Le premier chapitre de cette thèse s'intéresse en premier lieu à identifier les interactions de prédation potentielles impliquant *D. gallinae* et les arthropodes qui se développent naturellement dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses [Article 1]. Etant donné que la majorité des arthropodes prédateurs natifs sont généralement considérés comme des généralistes et consomment plusieurs espèces de proies dont d'autres espèces prédatrices, nous avons évalué (1) la fréquence de prédation sur *D. gallinae* en présence de proies alternatives et (2) l'occurrence de la prédation entre les espèces prédatrices. Dans un deuxième temps, ce chapitre s'intéresse à évaluer l'effet de la prédation (à l'échelle de l'assemblage de prédateurs) sur la régulation naturelle de *D. gallinae* à l'échelle de l'agroécosystème du bâtiment d'élevage par une approche essentiellement corrélative [Article 2].

Le second chapitre de cette thèse s'inscrit également dans l'évaluation de l'impact de la communauté native d'arthropodes prédateurs sur la régulation de *D. gallinae*. Il se base sur les résultats obtenus dans le premier chapitre pour développer une nouvelle approche quant à l'investigation du rôle des prédateurs natifs dans la régulation des populations de *D. gallinae*. L'attribution d'un rôle régulateur aux prédateurs natifs exige de prouver quantitativement leur impact sur la dynamique des populations de leur proie (ravageur) (Luck, 1988). A ce titre, nous avons mesuré l'impact des prédateurs natifs sur *D. gallinae* à l'échelle de la population, et ce à travers un système expérimental de type système modèle : poule-acarien hématophage-prédateur(s) en mésocosme. Ce système a permis le développement de *D. gallinae* et de ses prédateurs, le contrôle de la composition de la communauté native d'arthropodes et la mesure de la croissance des populations de *D. gallinae* en présence et en absence de ses prédateurs natifs [Article 3].

Enfin, le troisième et dernier chapitre de cette thèse s'intéresse principalement à l'effet potentiel des pratiques actuelles de lutte contre *D. gallinae* sur les espèces d'arthropodes natives non-cibles dans les bâtiments d'élevage. La perturbation de la communauté native d'arthropodes peut influencer le fonctionnement de la communauté d'arthropodes natifs, et par conséquent, les services écosystémiques comme la régulation naturelle des ravageurs dont *D. gallinae*. La lutte biologique par inondation est la seule pratique de lutte biologique contre *D. gallinae* mise en œuvre dans les bâtiments d'élevage actuellement. Deux acariens prédateurs *A. casalis* et *C. eruditus* sont élevés en masse et introduits dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses pour contrôler les populations de *D. gallinae*. Dans ce dernier chapitre, nous avons examiné l'effet de ces prédateurs sur le développement d'espèces d'arthropodes non cibles dans la communauté native des bâtiments d'élevage de poules pondeuses [Article 4].

Cette étude s'achève sur une discussion générale des principaux résultats obtenus et sur les perspectives de recherche qui s'ouvrent à l'issue de nos travaux de recherche.



Chapitre 1

Prédation sur *D. gallinae* par les prédateurs natifs dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuse : réseau trophique établi à travers des tests in-vitro et des mesures de covariation des abondances à l'échelle de l'agroécosystème

Chapitre 1

Les interactions trophiques entre les arthropodes associés aux oiseaux sont globalement peu explorées. Dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses, la communauté native d'arthropodes comprend plusieurs espèces prédatrices généralistes dont la capacité de se nourrir de l'acarien parasite *D. gallinae* est toujours inexplorée. Dans ce chapitre, nous avons cherché 1) à identifier (*in-vitro*) les interactions de prédation impliquant les arthropodes prédateurs natifs avec *D. gallinae* [Article 1], et 2) à évaluer si les interactions de prédation mises en évidence à travers les tests *in-vitro* se traduisent par des covariations entre l'abondance de *D. gallinae* et ses prédateurs potentiels dans les bâtiments d'élevage [Article 2].

Nous avons considéré 14 espèces d'arthropodes comprenant l'acarien hématophage *D. gallinae* et les acariens détritivores (Astigmata) comme proies principales ainsi que 12 espèces de prédateurs. A travers les tests de prédation, nous avons 1) évalué la capacité de ces prédateurs de consommer *D. gallinae* en fonction de son stade de développement et de son état physiologique, 2) testé l'effet de la présence d'autres proies natives (principalement les acariens détritivores) sur la prédation de *D. gallinae*, et 3) identifié quelle espèce prédatrice est capable de consommer quelle autre espèce prédatrice comme proie. Dans 20 bâtiments d'élevage de poules pondeuses, nous avons estimé l'abondance de *D. gallinae* et des arthropodes natifs en nous focalisant sur les sept morphoespèces d'acariens autres que détritivores les plus fréquents, impliquant à la fois des acariens consommant fréquemment *D. gallinae in vitro* et des acariens qui ne le consomment pas communément. Cette estimation a été basée sur la technique de metabarcoding de l'ADN aérien en plus de recenser les acariens dans le fumier à travers un échantillonnage standardisé. Puis, nous avons calculé la corrélation de l'abondance entre *D. gallinae* et les différents espèces d'acariens prédateurs potentiels à l'échelle de l'agroécosystème (le bâtiment d'élevage).

Nos résultats montrent que 10 espèces d'arthropodes prédateurs natifs (acariens, insectes, pseudoscorpions et araignées) sont capables de consommer *in-vitro* le pou rouge avec une fréquence de prédation variable entre espèces. A l'échelle du bâtiment, l'abondance relative de *D. gallinae* a montré une covariation significative avec l'abondance relative de trois acariens prédateurs (*A. casalis*, *Macrocheles* spp. et *Cheyletus* spp.) qui ont montré une capacité importante à consommer *D. gallinae in-vitro*. La complexité et l'intensité des interactions de prédation identifiées sous des conditions contrôlées peuvent différer dans les conditions de l'agroécosystème. Cependant, les tests de prédation *in-vitro* ont permis de construire les réseaux trophiques potentiels impliquant *D. gallinae* et les arthropodes natifs des bâtiments d'élevage de poules pondeuses. Bien que les interactions de prédation mises en évidence à travers les tests *in-vitro* se traduisent par des covariations significatives entre l'abondance de ces prédateurs (et de ces prédateurs seulement) et celle de *D. gallinae* à l'échelle de l'agroécosystème, nos résultats ne démontrent pas la présence d'un effet régulateur sur *D. gallinae* par ces prédateurs natifs (les acariens prédateurs).

La combinaison entre les tests de prédation et l'analyse corrélative de l'abondance dans les bâtiments d'élevage a permis de mettre en évidence la prédation sur *D. gallinae* par ces prédateurs natifs dans les bâtiments d'élevage. Cependant, l'absence d'un effet régulateur

de la prédation sur *D. gallinae* à l'échelle du bâtiment d'élevage peut être due à des limitations de la méthode corrélatrice en présence de prédateurs omniprésents. En effet, l'omniprésence des acariens prédateurs dans les bâtiments d'élevages n'a pas permis de mesurer l'effet négatif potentiel des prédateurs natifs sur l'abondance relative de *D. gallinae*.

Article 1

Les interactions de prédation parmi les arthropodes naturellement présents dans les bâtiments d'élevages de poules pondeuses, avec un focus sur *Dermanyssus gallinae* comme proie (Publié dans Pest Management Science)

Zriki G., Blatrix R. & Roy L.

Résumé : Les réseaux trophiques des arthropodes spontanés dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses ont été peu explorés. L'analyse de ces réseaux peut aider à améliorer la lutte biologique contre le pou rouge de poule *Dermanyssus gallinae* (De Geer). La présente étude a eu pour objectif d'identifier les liens trophiques potentiels entre les arthropodes prédateurs natifs, *D. gallinae* et d'autres proies natives. Nous avons réalisé des tests de prédation *in-vitro* pour évaluer (i) la capacité des prédateurs natifs à se nourrir des stades juvéniles et adultes de *D. gallinae* (quand elles sont à jeun et fraîchement gorgées du sang) en absence de barrières physiques entre la proie et le prédateur, (ii) la préférence des prédateurs pour se nourrir de *D. gallinae* ou des acariens astigmatés, et (iii) la capacité des prédateurs de *D. gallinae* à se tuer entre eux. Dix taxons d'arthropodes se sont montrés capables de consommer *D. gallinae* sous les conditions contrôlées avec des taux de prédation variant entre 4% et 95%. Ces prédateurs appartenaient à (i), Acari : *Androlaelaps casalis* (Berlese), *Cheyletus* spp., *Macrocheles muscaedomesticae* (Scopoli), *M. penicilliger* (Berlese), *Parasitus fimetorum* (Berlese), *Dendrolaelaps* spp. et *Uroobovella fimicola* (Berlese); (ii) Arachnida (non-acariens) : *Lamprochernes nodosus* (Schrank) (Pseudoscorpionida) et une araignée Linyphiidae, et (iii) Insecta : *Lyctocoris campestris* (Fabricius). Ces prédateurs ont montré une différence dans leur préférence pour la prédation sur *D. gallinae* selon le stade de développement et l'état physiologique de l'individu. La majorité de ces prédateurs a montré une préférence significative pour se nourrir de *D. gallinae* en présence des acariens astigmatés comme proies alternatives. La prédation bidirectionnelle entre prédateurs de *D. gallinae* a été identifiée pour deux paires de prédateur (*M. penicilliger*–*Lamprochernes nodosus* et *A. casalis*–*Cheyletus* spp.), tandis que *M. penicilliger* a montré une prédation de 100% sur *A. casalis*.

Notre étude souligne le potentiel de plusieurs prédateurs natifs pour la lutte biologique par augmentation ou par conservation contre *D. gallinae* dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses. La prédation entre ces prédateurs devrait être prise en compte avant de développer des pratiques de lutte biologique contre *D. gallinae* les impliquant.

Predation interactions among henhouse-dwelling arthropods, with a focus on the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*

Ghais Zriki,^{*} Rumsaïs Blatrix and Lise Roy

Abstract

BACKGROUND: Analysis of the poorly explored food webs of henhouse-dwelling arthropods would improve biological control against the poultry red mite (PRM) *Dermanyssus gallinae* (De Geer). This study aimed to identify trophic links among native predatory arthropods, PRM, and alternative preys. *In vitro* predation tests were carried out to assess (i) the ability of native predators to feed on PRM juvenile and adult stages in two physiological statuses (unfed and freshly blood-fed) in the absence of any physical barrier, (ii) predator preferences between PRM and astigmatic mites, and (iii) predation interactions between PRM predators.

RESULTS: Ten arthropod taxa fed on PRM with predation rates ranging from 4% to 95% in our experimental conditions. They belonged to (i) Acari: *Androlaelaps casalis* (Berlese), *Cheyletus* spp., *Macrocheles muscaedomesticae* (Scopoli), *M. penicilliger* (Berlese), *Parasitus fimetorum* (Berlese), *Dendrolaelaps* spp. and *Uroobovella fimicola* (Berlese); (ii) other Arachnida: *Lamprochernes nodosus* (Schrank) (Pseudoscorpionida) and a linyphiid spider; and (iii) Insecta: *Lyctocoris campestris* (Fabricius). These predators varied in their preference for PRM stages and physiological statuses (unfed or freshly blood-fed). When given a choice, most predators preferred to feed on PRM than astigmatic mites. Bidirectional predation occurred within two pairs of PRM predators (*M. penicilliger*–*Lamprochernes nodosus* and *A. casalis*–*Cheyletus* spp.), and *M. penicilliger* had a 100% predation rate on *A. casalis*.

CONCLUSION: Our study highlights the potential of various arthropod predators occurring naturally in poultry houses for conservation and augmentative biological control of PRM. Predation interactions between these predators should be accounted for before developing biocontrol agents against PRM.

© 2020 Society of Chemical Industry

Keywords: *Dermanyssus gallinae*; poultry red mite; food webs; biological control; henhouses

1 INTRODUCTION

The poultry red mite (PRM) *Dermanyssus gallinae* (De Geer) is the most important pest of laying hens worldwide.^{1,2} PRM is a nidicolous ectoparasite attacking resting hens at night. After relatively rapid blood meal, it retires to hide in different microhabitats like cracks, crevices, and dry droppings in the farm building.^{3,4} PRM has a significant effect on the health and welfare of hens, it can cause anemia, decreased egg production and increased hen mortality.^{5,6} The typical conventional control of PRM by means of synthetic acaricides is often not sufficient. In addition, the use of synthetic products has become increasingly reduced by stricter legislation regarding active ingredients.^{7,8} Therefore, different alternative methods of control have been developed such as plant-derived product,⁹ inert substances such as diatomaceous earth and silica,¹⁰ electronic perches, biological control by means of natural enemies like entomopathogenic fungi^{11,12} and predatory mites,^{13,14} and research on vaccines is making progress.^{15,16}

The particular lifestyle of PRM as a nidicolous parasite living in a diversity of habitats in poultry farms makes this mite less likely to be reached by chemical treatment and more accessible for arthropod predators than ectoparasites living on the host. This suggests that PRM is an ideal target of biological control. Although biological control is well developed and has been successfully adopted

to control pest arthropods in crop farming, this method has more recently begun to be developed against pests in livestock production and is still in its infancy. To date, five predatory mites were experimentally shown to have potential in PRM biological control: *Cheyletus eruditus* (Schrank) and *C. malaccensis* (Oudemans), *Androlaelaps casalis* (Berlese), *Hypoaspis aculeifer* (Canestrini), and *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley).^{13,14,17–19} The two predatory mites *A. casalis* and *C. eruditus* are currently mass-reared and used as biocontrol agents of PRM in laying poultry farms,^{7,20} but their efficiency in the field should be improved by complementary research.^{18,20} Arthropods associated to poultry production^{21–25} include several predatory taxa some of which are known to feed on various prey mite species.^{13,25} However, the ability of the majority of these predators to feed on PRM has not been investigated. Amongst the naturally-occurring arthropod predators in poultry farms, various taxa are known to dwell in

^{*} Correspondence to: G Zriki, CEFE, Univ Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Univ Paul Valéry Montpellier 3, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier Cedex 5, France. E-mail: ghais.zriki@cefe.cnrs.fr

CEFE, Univ Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Univ Paul Valéry Montpellier 3, Montpellier, France

poultry manure.^{21,24–26} Several are typically active hunters that have been recurrently observed into microhabitats other than this substrate, including in PRM traps.¹³ This makes them promising agents for PRM control in layer farm buildings.

The effect of predator communities on their prey's population may depend on direct and indirect interactions between these predators like competition and intraguild predation.^{27,28} Intraguild predation is very common among generalist predators that exploit common food resources^{27,29} which could significantly affect the dynamics of their shared preys.^{28,30,31} The effect of intraguild predation on prey regulation can be antagonistic, though many case reports do not confirm it, and it may even be synergistic.^{32–34} When focal and alternative preys share the same predatory species,³⁵ the availability of alternative prey can also influence the behavior of the shared predator and can lead to either increased or decreased predation on focal prey.^{36,37} This depends on many factors including the relative size of prey populations and predator preferences. Astigmatic mites are microbivores/detrivores and they are the most frequent and abundant taxa in poultry manure.^{25,38} They may serve as main or alternative prey for many generalist predatory mites.^{39,40} Evaluating the preferences of potential predators of PRM between astigmatic mites (as possible alternative or competing prey) and PRM (as focal prey) is essential to predict the effect of these predators on pest regulation.⁴¹

The physiological status of PRM in terms of duration since the last blood meal may have a substantial effect on predation. One can expect from the fresh blood meal either a facilitating effect on predation owing to the weakening of the highly extended cuticle (making it possibly easier to be penetrated by the predator's chelicera) and the substantial slowing of PRMs' movements (akinesis is observed quickly after feeding⁴²), or an antagonistic effect owing to the oxidative stress produced by the ingestion of fresh blood and/or the toxic products of its digestion (see adaptation mechanisms in hematophagous arthropods to dealing with feeding on fresh blood^{43,44}). The physiological status of prey in interaction with other factors (species, sex, and size of the proposed preys) was shown to be an important driver of prey selection by a spider predator that feeds on mosquitoes.^{45,46} Lastly, adult individuals of certain prey species have a greater ability to escape and better defense responses against predators than juveniles.^{47,48} Prey consumption by several phytoseiid mite predators was inversely related to prey size.^{49–51} Hence, predators may be more or less prone to feed on freshly fed PRM and/or on different stages of PRM in farms.

This study aimed to characterize the potential trophic interactions involving PRM, alternative preys like microbivorous mites and arthropod predators that usually share the same microhabitats with PRM or those prone to hunt this mite in such microhabitats. Our specific objectives were to (i) identify potential predators of PRM based on their ability to consume various forms of PRM (different stages and physiological statuses) when no physical barriers hinder the access of these predators to their preys, (ii) evaluate the effect of the presence of alternative preys like astigmatic mites on the predation on PRM, and (iii) assess whether predation interactions can occur between PRM predators.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Arthropod sources

2.1.1 Arthropod predators and microbivore mites

To maximize the diversity of arthropod predators to be tested, we sampled arthropods from several barn layer farms located in the Drôme department (Rhône-Alpes-Auvergne region, France).

These farms were selected based on previous in farm surveys.²⁵ Barn layer farms have slatted flooring under which manure is allowed to accumulate over long periods (flock duration = ca 1 year) which permits an important development and establishment of manure-dwelling arthropods.⁵² We focused on 13 taxa of arthropods including 12 manure-dwelling taxa and one taxon of spiders. Certain mite taxa were multispecific and others were monospecific (Table 1). These arthropods were not reared or maintained on any transitional diet in the laboratory. Manure samples were kept into plastic containers covered with nylon-filter lids (mesh size 80 µm) before the extraction of arthropods.

Manure-dwelling arthropod individuals were extracted by dry sieving of manure samples using a series of stacked sieves with decreasing mesh size (from 1000 to 180 µm). In order to identify and differentiate mite taxa, we used the definition of morphospecies in Roy *et al.*²⁵ After performing predation tests on arthropods, the following taxa were identified at the species level: Pseudoscorpionida, Heteroptera (Insecta), *Macrocheles* spp. (Mesostigmata). For other morphospecies, the taxonomic level was simply the level discernible under the stereomicroscope according to Roy *et al.*²⁵ (species level for monospecific morphospecies, higher levels for others; see Table 1).

2.1.2 PRM

PRM aggregates were collected from two farm buildings in sealable plastic bags and kept fasting for 1 to 3 weeks in an incubator at 15 °C before tests. To produce freshly fed PRMs, fasted individuals were introduced into a polyvinyl chloride (PVC) cylindrical container (60 L, 40 cm in diameter) with a chick for 2 h at 25 ± 5 °C in complete darkness. The top of the container was sealed with mite-proof nylon mesh (100 µm × 100 µm, PE171.6, Diatex, France). Pieces of folded paper were put in the container to provide shelters for PRMs to aggregate after the blood meal and facilitate the collection of fed individuals.

2.2 Experimental arenas for predation tests

Predation tests were conducted following the protocol by El Adouzi *et al.*⁵³ In short, each predator was tested in an experimental arena constituted by a well (flat-bottomed, 7 mm diameter) of a transparent polystyrene microplate (Nunc™ 167 008 F96 MicroWell 96-well × 400 µL, external dimensions: 128 mm × 86 mm Cell Culture Microplate, Fyn, Denmark). We added 2–4 µL of 1.5% agarose gel into each well to prevent dehydration of the arthropods, a technique validated by El Adouzi *et al.*⁵³ Microplates were covered with stretched plastic paraffin film (Parafilm®, Bemis Co., Neenah, WI, USA).

2.3 Predation test experiment

A test consisted of confining one single predator and one or two preys (depending on the modality, see later) into a well of a 96-well microplate, wells of which were used as replicated experimental arenas. After a fixed contact duration, prey mortality was recorded in each arena. Controls consisted in the same single or paired prey(s) isolated into wells on the same microplate without any predator (same number of wells for controls as for tests with predators). Several different modalities of predator/prey(s) combination were tested on the same microplate and at the same time (= a series). To minimize the effect of random factors, (i) each predator modality was tested on different microplates successively, (ii) two to four different modalities of predator/prey(s) combination were tested together in each series, (iii) the set of modalities to be tested together was randomly rearranged for each series, so as to be free of dependencies between modalities. Each

Table 1 List of arthropods species/morphospecies collected from poultry farms and used in predation tests

Order	Suborder	Family	Species	Guild
Mesostigmata	Gamasina	Dermanyssidae	<i>Dermanyssus gallinae</i>	Hematophagous
	Gamasina	Laelapidae	<i>Androlaelaps casalis</i>	Predator
	Gamasina	Digamasellidae	<i>Dendrolaelaps presepum</i> (dominant species), <i>Dendrolaelaps</i> spp. and unidentified Digamasellidae	Predator
	Gamasina	Melicharidae	<i>Proctolaelaps parascolyti</i>	Fungivorous/omnivorous
	Gamasina	Parasitidae	<i>Parasitus fimetorum</i>	Predator
	Gamasina	Macrochelidae	<i>Macrocheles muscaedomesticae</i>	Predator
	Gamasina	Macrochelidae	<i>Macrocheles penicilliger</i>	Predator
	Uropodina	Urodinychidae	<i>Uroobovella fimicola</i>	Predator and detritivorous
	Uropodina	other families	Uropodina spp.	Predator and detritivorous
	Eleutherengonides	Cheyletidae	<i>Cheyletus</i> spp.	Predator
Trombidiformes	Astigmata	various families	—	Microbivore and detritivorous
Sarcoptiformes	Locheirata	Chernetidae	<i>Lamprochernes nodosus</i>	Predator
Pseudoscorpionida	Araneomorpha	Linyphiidae	Linyphiidae sp.	Predator
Aranea	Heteroptera	Anthoridae	<i>Lyctocoris campestris</i>	Predator

modality was replicated dozens of times on a microplate (one predatory individual per taxon and per well on two to four columns, i.e. 16 to 32 individual tests, and a similar number of control wells), and this was repeated two to three times in different series.

Predators were fasted for 24 h before being tested. Microplates were maintained in a climatic chamber at 25.0 ± 0.5 °C in complete darkness. Prey condition in each experimental arena was examined under a stereomicroscope after 24 h of test duration. A prey was deemed to be dead if no movement was triggered by contact with a thin paintbrush. Arachnid predators do not swallow prey but only suck internal body liquids,⁵⁴ making it difficult to differentiate predation events from prey natural mortality. Thus, in each series, prey mortality in predation tests was corrected by prey natural mortality recorded in the corresponding controls to obtain the predation rate.

2.4 Predation test types

2.4.1 Prey-choice tests

Prey choice tests were used to evaluate (i) the predation rate of each predator on each prey species and (ii) the preference of predators between the offered preys. The predation rate (i) was estimated as the frequency of predation on a given kind of prey. Two prey individuals with (test) or without (control) one predator individual were introduced per well. The preference (ii) was tested between two PRM developmental stages (unfed juveniles and unfed adult females), or two physiological statuses of PRM (freshly fed and unfed), or between unfed PRM and another prey mite, with a focus on Astigmatic mites. The preference according to the physiological status and between PRM and Astigmatic mites was tested both with PRM juvenile and adult females. All in all, 12 putative predatory taxa were tested in 31 modalities of prey-choice test (Table 2).

2.4.2 Predator-to-predator interactions

We evaluated whether six native predators engaged in predator-prey interaction when no shared prey was offered, following five combinations: (i) *A. casalis* versus *Cheyletus* spp., (ii) *A. casalis* versus *M. penicilliger*, (iii) *A. casalis* versus *Lamprochernes nodosus*, (vi) *Lamprochernes nodosus* versus *M. penicilliger*, and (v) *Dendrolaelaps* spp. versus *Proctolaelaps parascolyti*. The choice of these

combinations was driven by the availability of predators in the successive sampling campaigns. For each predator pair, one individual of each of the two species (test) or a single individual (control) were introduced per well. Note that since each of the two predators confronted in the test wells is also a prey, two controls (one for each taxon) are associated with each test. Combinations (i) to (v) were tested 39, 24, 24, 22 and 24 times respectively.

2.4.3 Complementary tests

We performed a few complementary tests with the same protocol as prey-choice tests (see Section 2.4.1) to document trophic relationships between tested arthropods excluding PRM. Five predatory taxa and microbivore mites were subjected to predation tests according to different combinations described in Table 2 (modalities 32–37).

2.5 Data analysis

A predation test replicate was discarded from analyses if any of predator(s) or prey(s) had escaped from the experimental arena, or if the predator was dead at the moment of rating. In the case of predator-to-predator interaction tests, the replicate was discarded when the two predators were dead at the time of rating. In addition, a test modality was considered invalid in a series where natural mortality of prey(s) (or predators in the case of predator-to-predator interactions), i.e. in controls, exceeded 15% or differed significantly between the two prey species (or the two predators in predator-to-predator interactions; we used the chi-squared test to check for independence of natural mortality rates between the two prey species).

To represent the potential trophic relationships between tested arthropod taxa, we considered the frequency of predation per putative predator on each prey species from all tests. The predation rate for each predator-prey pair in each test series was estimated by correcting prey mortality with natural mortality determined in the corresponding control (on the same series) using the Abbott formula.⁵⁵ The predation rate on each prey species and for each predator was calculated as the average corrected prey mortality over all test series. Predation rates on PRM were calculated by considering all PRM stages and physiological statuses tested indiscriminately.

Table 2 Modalities of predation tests performed between putative predators and preys

Predator species/ morphospecies	Prey combination (one individual of each type)						One or two prey species other than PRM
	Prey-choice tests					Complementary tests	
	Unfed N1 & Astigmata	Unfed N1 & unfed AF	Unfed N1 & fed N1	Unfed AF & fed AF	Unfed PRM & other prey		
<i>Androlaelaps casalis</i>	M1 (<i>n</i> = 37)	M8 (<i>n</i> = 76)	M15 (<i>n</i> = 42)	M22 (<i>n</i> = 27)	M28: unfed N1 & <i>Dendrolaelaps</i> spp. (<i>n</i> = 24) M29: unfed AF & <i>Uropodina</i> spp. (<i>n</i> = 29)	M32: Uropodina spp (15) ^a M33: Astigmatic mites (23) ^a M34: <i>Dendrolaelaps</i> spp & Astigmatic mites (37)	
<i>Dendrolaelaps</i> spp.	M2 (<i>n</i> = 43)	—	M16 (<i>n</i> = 21)	—	—		
<i>Proctolaelaps</i> <i>parascolyti</i>	M3 (<i>n</i> = 22)	M9 (<i>n</i> = 29)	—	—	—		
<i>Parasitus fimetorum</i>	—	—	M17 (<i>n</i> = 23)	—	—	M35: Astigmatic mites (15) ^a	
<i>Macrocheles</i> <i>muscaedomesticae</i>	M4 (<i>n</i> = 35)	M10 (<i>n</i> = 28)	M18 (<i>n</i> = 22)	M23 (<i>n</i> = 46)	M30: unfed N1 & <i>Dendrolaelaps</i> spp. (<i>n</i> = 15)	M36: <i>Dendrolaelaps</i> spp & Astigmatic mites (15)	
<i>Macrocheles penicilliger</i>	—	—	—	M24 (<i>n</i> = 23)	—		
<i>Uroobovella fimicola</i>	M5 (<i>n</i> = 75)	M11 (<i>n</i> = 31)	—	—	M31: unfed N1 & <i>Dendrolaelaps</i> spp. (<i>n</i> = 22)		
<i>Uropodina</i> spp.	—	M12 (<i>n</i> = 15)	—	—	—		
<i>Cheyletus</i> spp.	M6 (<i>n</i> = 37)	M13 (<i>n</i> = 67)	M19 (<i>n</i> = 56)	M25 (<i>n</i> = 56)	—		
<i>Lamprochernes</i> <i>nodosus</i>	M7 (<i>n</i> = 15)	—	M20 (<i>n</i> = 23)	M26 (<i>n</i> = 44)	—	M37: Astigmatic mites (22) ^a	
Linyphiidae sp.	—	M14 (<i>n</i> = 41)	—	—	—		
<i>Lyctocoris campestris</i>	—	—	M21 (<i>n</i> = 15)	M27 (<i>n</i> = 30)	—		

^aTwo individuals of the same prey species were offered.

Note: Each line corresponds to a predator taxon and each column to a prey combination it was confronted with. M1–M37, modality identifier; n = number of test replicates for each modality; (n) represent only the number of retained replicates of validated test in all test series (a replicate = one predator individual with two prey individuals into one well of a microplate); N1, protonymph of poultry red mite (PRM); AF, adult female of PRM.

To assess preferences of predators between prey species, chi-squared tests were applied to test for dependence between prey mortality and prey species in the presence of each predator. In prey-choice tests, to consider the three possible configurations (both prey dead, one prey dead, no prey dead), 2 × 2 contingency

tables were constructed as follows: prey A dead or live × prey B dead or live. In tests of predator-to-predator interactions, only tests where one and only one predator had died were included in the analysis and 2 × 2 contingency tables were constructed as follows: predator A or B × live or dead. All chi-squared tests

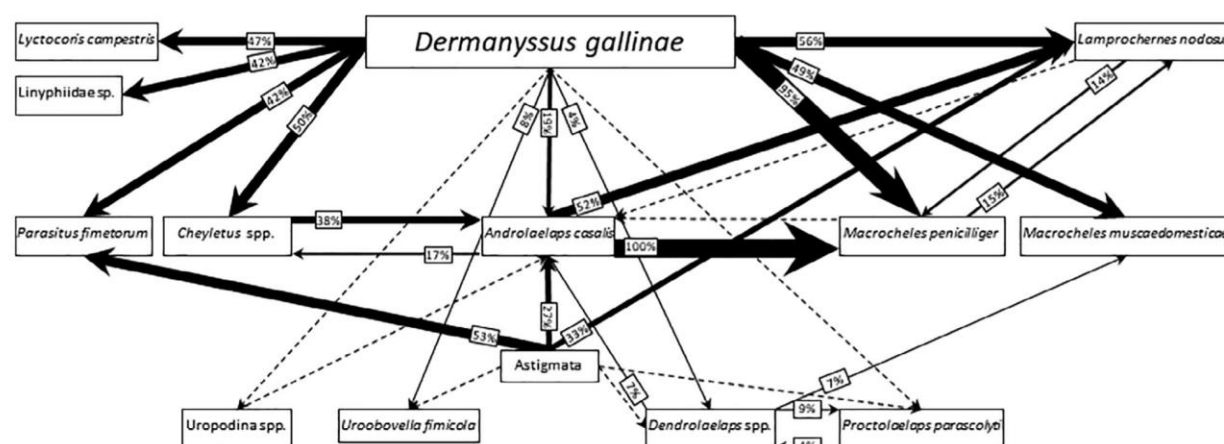


Figure 1 Primary reconstruction of potential food webs between arthropods in layer farms centered on the poultry red mite (PRM) *Dermanyssus gallinae* as a prey according to our *in vitro* tests. Arrows are orientated from prey to predator. Values at the start of the arrow indicate percentage of predation (with Abbott correction), thickness of arrows proportional to this percentage, dashed line = absence of interaction, no line = untested interaction.

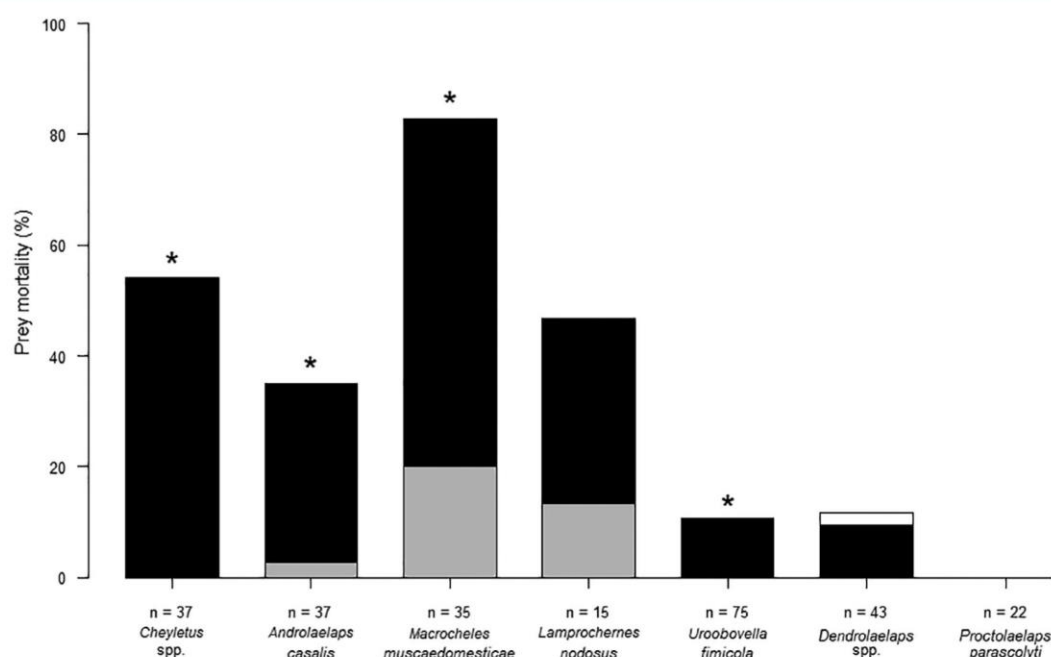


Figure 2 Mortality (%) in *Dermanyssus gallinae* and astigmatic mites in the presence of single predatory individuals. *n* = number of tested replicates; black block, mortality of *Dermanyssus gallinae*; white block, mortality of astigmatic mite; gray block, mortality of both preys. Bars are labeled with an asterisk (*) when mortality rates differ significantly between preys within the corresponding modality. Significant difference means predator preference for the prey with the highest mortality rate (black + gray for *Dermanyssus gallinae*, white + gray for astigmatic mite) ($P < 0.05$, chi-squared tests).

were conducted within the R environment,⁵⁶ *P* values were calculated by Monte Carlo simulation with 2000 replicates.

2.6 Ethical requirements

All the experiments involving hens were conducted in compliance with regulations on animal experimentation (reference number of the Ethics committee: 036; project number: APAFIS#2339–2 015 101 122 029 640 v4).

3 RESULTS

By bringing together the results of all types of predation tests, we provide an insight into the potential trophic interactions among selected henhouse-dwelling arthropods, showing that PRM could potentially be part of this partial food web (Fig. 1).

3.1 Predation on PRM

In our experiments, ten native arthropod taxa fed on PRM, with predation rates (Abbott-corrected prey mortality percent) ranging from 100% to 4%: *M. penicilliger*, *Lamprochernes nodosus*, *Cheyletus* spp., *M. muscaedomesticae*, *Lyctocoris campestris*, linyphiid spider, *Parasitus fimetorum*, *A. casalis*, *U. fimicola*, and *Dendrolaelaps* spp. (in order of decreasing predation rates, Fig. 1). The last two did so only occasionally (8% and 4% predation rates, respectively). In the presence of Uropodina spp. or of *Proctolaelaps parascolyti*, PRM mortality did not exceed natural mortality in the corresponding predator-free controls.

3.2 Preference of putative predators for PRM or astigmatic mites

Of the seven arthropods tested as predators, four fed significantly more on PRM than on astigmatic mites in our conditions (*Cheyletus* spp.: $\chi^2 = 27$, $P = 4.9 \times 10^{-4}$; *A. casalis*: $\chi^2 = 13$, $P = 9.9 \times 10^{-4}$;

M. muscaedomesticae: $\chi^2 = 21$, $P = 4.9 \times 10^{-4}$; *U. fimicola*: $\chi^2 = 8.5$, $P = 7.9 \times 10^{-3}$; Fig. 2). Neither *Cheyletus* spp. nor *U. fimicola* fed on astigmatic mites in the presence of PRM juveniles.

3.3 Effect of stage and physiological status of PRM preys on predation preference

Cheyletus spp. and *A. casalis* fed significantly more on juveniles than on adult females (*Cheyletus* spp.: $\chi^2 = 42$, $P = 4.9 \times 10^{-4}$; *A. casalis*: $\chi^2 = 12$, $P = 4.9 \times 10^{-4}$; Fig. 3). Predation by *M. muscaedomesticae* and the linyphiid spider did not differ significantly between the two stages.

The bug *Lyctocoris campestris* fed significantly more on freshly fed PRM juveniles than on unfed ones ($\chi^2 = 8$, $P = 8.9 \times 10^{-3}$, Fig. 4 (A)). *Cheyletus* spp. fed significantly more on unfed adult PRM females than on freshly fed ones ($\chi^2 = 17$, $P = 9.9 \times 10^{-4}$; Fig. 4(B)).

3.4 Predator-to-predator interactions

Predation occurred within all pairs of predators tested in our conditions (Fig. 5). Predation was significantly asymmetric between the pairs *M. penicilliger*–*A. casalis* ($\chi^2 = 48$, $P = 4.9 \times 10^{-4}$), and *Lamprochernes nodosus*–*A. casalis* ($\chi^2 = 13.1$, $P = 9.9 \times 10^{-4}$). *Androlaelaps casalis* did not kill any of these two other predators. It was more balanced and insignificant in the pair *A. casalis*–*Cheyletus* spp., but mortality was twice as high in *Cheyletus* spp. as in *A. casalis*. Predation interactions in the other pairs appear to be accidental.

4 DISCUSSION

4.1 Potential food web involving PRM

Although the predation interactions we observed occurred in the absence of any physical barrier between predator and prey, our

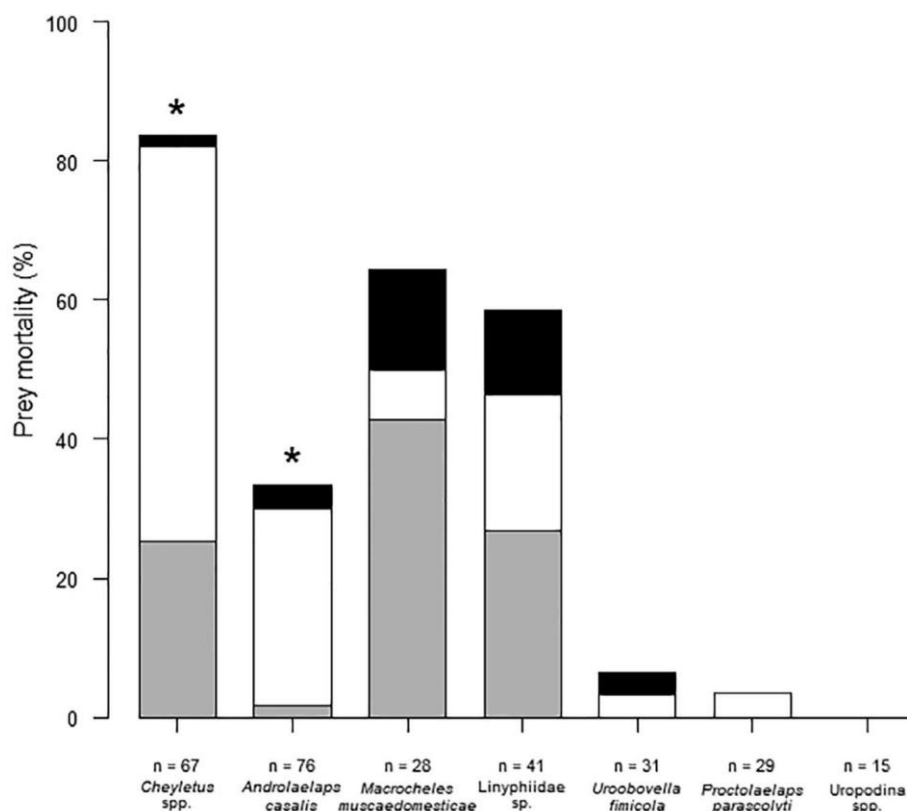


Figure 3 Mortality (%) of *Dermanyssus gallinae* females and juveniles in the presence of single predatory individuals over a 24-h contact period. *n* = number of tested predators; black block, mortality of unfed females; white block, mortality of unfed juveniles; gray block, mortality of both preys. Bars are labeled with an asterisk (*) when mortality rates differ significantly between preys within the corresponding modality. Significant difference means predator preference for the prey with the highest mortality rate (black + gray for females, white + gray for juveniles) ($P < 0.05$, chi-squared tests).

results suggest that PRM in barn layer farms could be embedded in a food web containing at least ten arthropod taxa able to feed on PRM. Eight of these taxa are recorded to feed on PRM for the first time here: *Lyctocoris campestris*, *Lamprochernes nodosus*, a linyphiid spider, *M. penicilliger*, *M. muscaedomesticae*, *Parasitus fimetorum*, *U. fimicola*, and *Dendrolaelaps* spp. The last two did so only occasionally. We also confirmed predation on PRM by natural populations of *Cheyletus* spp. and *A. casalis* which are currently commercially available for release in layer buildings as biocontrol agent of PRM,²⁰ although in our experimental design predation by *A. casalis* can be considered moderate (19% predation rate).

4.2 Predators' preference for different forms of PRM

Among the four tested arthropod taxa that showed substantial predation on PRM (predation rate > 10%), the largest-sized taxa (*M. muscaedomesticae* and the linyphiid spider) did not feed differentially on juveniles and adult PRM, whereas the smallest-sized (*Cheyletus* spp. and *A. casalis*) preferred juveniles, consistent with previous findings that larger predators use a wider range of prey sizes.^{57,58} Interestingly, PRM consistently form multi-layered clusters with juveniles remaining in the center and adult females staying at the top.⁴² This arrangement was considered a protective behavior to preserve juveniles from predators. Furthermore, predators with different prey-stage preferences do not affect the population dynamics of prey and predator in the same manner.⁵⁹ Mathematical modeling of prey–predator population dynamics

suggested that only predators with no prey-stage preference allow Lotka-Volterra periodic prey–predator oscillations to occur and be maintained.⁵⁹ Predators that prefer juvenile stages induce a rapid increase in the prey–predator oscillations' amplitude, which ultimately results in the extinction of both predator and prey.⁵⁹ Selective predation focused on young preys is thus more likely to lead to extinction than non-selective predation.^{59,60}

The predatory bug *Lyctocoris campestris* was the only tested taxon that fed more on freshly fed juveniles than on unfed ones. This is perhaps because of the slower movement owing to blood ingestion, as preference for slow moving preys over faster ones was reported in other predatory bugs.⁴¹ An alternative explanation (though not exclusive) is that *Lyctocoris campestris* could be prone to feed indirectly on vertebrate blood, as does an African jumping spider.⁴⁵ The preference of *Cheyletus* spp. for unfed females over freshly fed ones may be explained by the size and/or the motility of prey instead of deleterious effects of the blood meal as these predators did not show any preference for unfed/fed juveniles. In fact, individuals of predator taxa for which no preference for unfed/fed PRM (juveniles or adults) was detected frequently consumed both preys (fed and unfed PRM), showing no aversion to taking a potentially deleterious meal of vertebrate fresh blood. However, in these taxa, we may have missed preferences between unfed and fed PRM by hungry predators that may have recurrently chosen a particular status in the first act of predation.

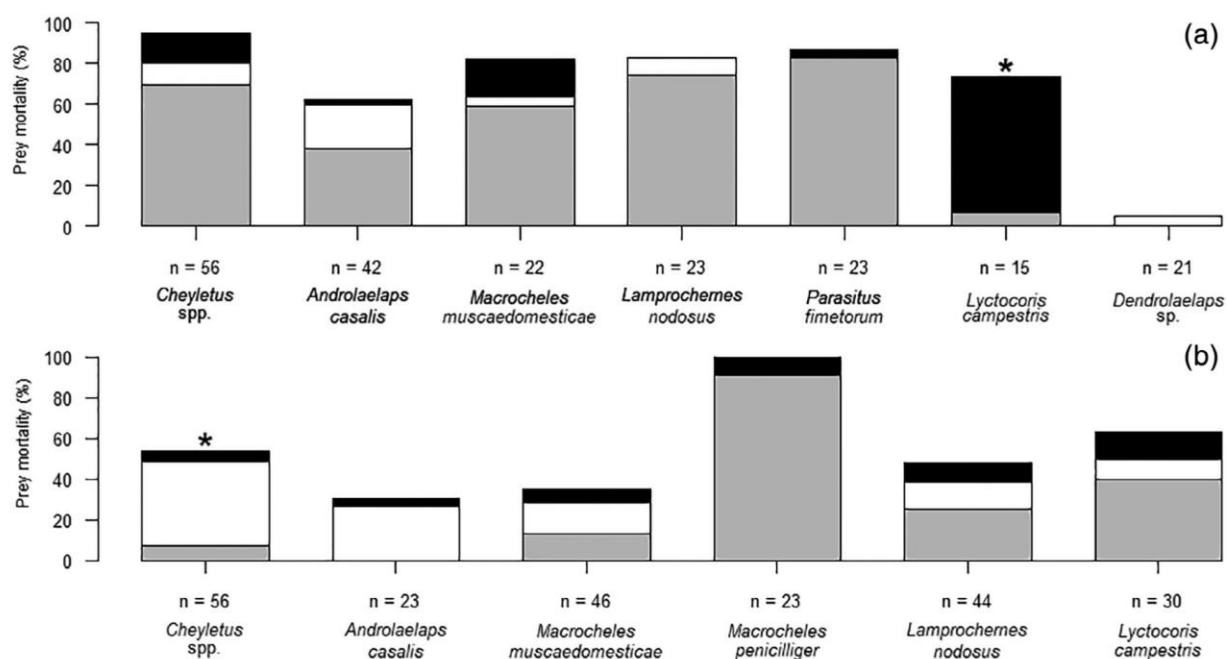


Figure 4 Mortality (%) in *Dermanyssus gallinae* with two physiological statuses over a 24-h contact period. (A) Unfed and freshly fed juveniles; (B) unfed and freshly fed females. n = number of tested predators; black block, predation on freshly fed prey; white block, predation on unfed prey; gray block, predation on both preys. Bars are labeled with an asterisk (*) when mortality rates differ significantly between preys within the corresponding modality. Significant difference means predator preference for the prey with the highest mortality rate (black + gray for freshly fed preys, white + gray for unfed preys) ($P < 0.05$, chi-squared tests).

4.3 Implications of interactions other than predator-PRM

The most abundant poultry mite taxon that can constitute an alternative prey to PRM predators is Astigmata. A significant preference for PRM over astigmatic mites was observed in *A. casalis*, *Cheyletus* spp., *Lamprochernes nodosus*, and *M. muscaedomesticae*. The former two are known to feed and successfully develop on several species of astigmatic mites.^{38,39,61–63} *Cheyletus* spp. is a sit-and-wait predator ('ambush' foraging mode) and it rarely

actively stalks its prey.⁶⁴ As astigmatic mites are very slowly moving,³⁸ these mites are less likely to encounter the cheyletid predator than the fast moving unfed PRM individual in the experimental arenas. This could partially explain the complete absence of predation on astigmatic mites by this predator in our experiments. As our results show that intraguild predation is possible between several of the PRM predators, the natural regulation of PRM populations might be affected by the predator diversity in farms. Geden *et al.*²¹ reported the negative impact of intraguild

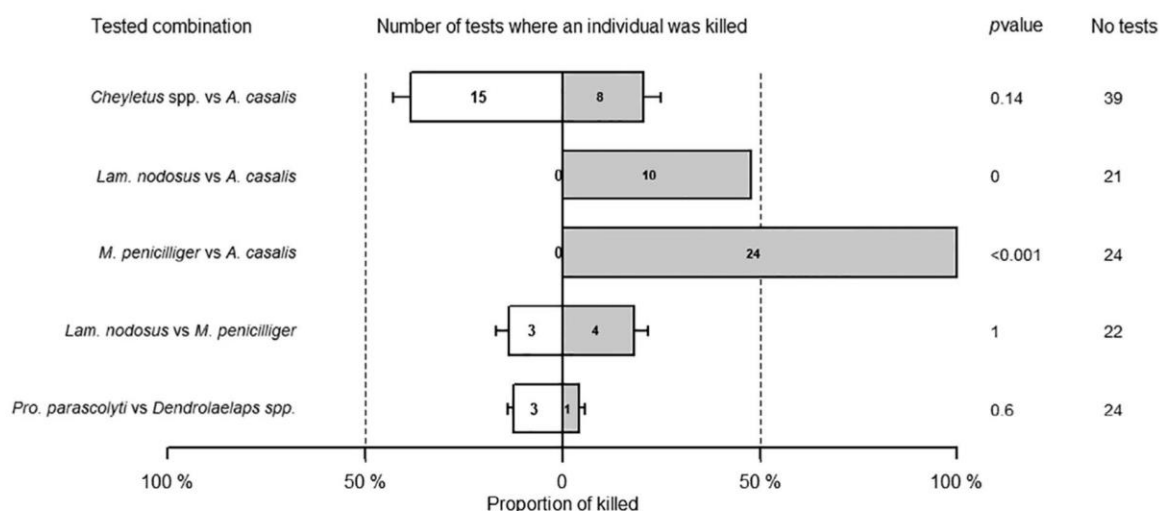


Figure 5 Proportion of killed individuals in different combination of native henhouse-dwelling arthropod predators. No extraguild prey was offered. No tests, number of test replicates for each combination (chi-squared tests).

predation between two naturally-occurring predatory mites, *Parasitus* sp. and *M. muscaedomesticae*, on the control of the house fly.

5 CONCLUSION AND PERSPECTIVES

Prior to the present study, information about native predators of PRM that have been recorded from poultry farms to date was limited to three species *A. casalis*, *C. eruditus* and *C. malaccensis*.^{13,14,19} Our study revealed that six additional taxa native to poultry farms are substantial predators of PRM, all with predation rates on PRM higher than that of *A. casalis*. Among these, two (*Parasitus fimetorum* and *M. penicilliger*) are only found occasionally in poultry farms, and thus, do not seem to establish sustainably in this environment. The other four (the bug *Lyctocoris campestris*, the pseudoscorpionid *Lamprochernes nodosus*, the mite *M. muscaedomesticae*, and the linyphiid spider) might be worth considering as additional candidates for augmentative biological control. They could also provide an unknown regulating ecosystem service that could be worth promoting via conservation biological control practices. Intricate interactions of varying degrees between arthropods in poultry ecosystems likely make actual food-webs different from the present reconstruction, as inferred from barrier-free tests. Ecosystem services provided by pest enemies are strongly dependent on spatial heterogeneity and layout coupled with the enemies' dispersal capabilities.^{65,66} Special attention should be paid to spatial mapping of prey-predator meeting points in henhouses and identification of their determining factors to anticipate impediments to biological control owing to limited penetration by predatory mites into pest-infested areas.⁶⁷ Further exploration of the potential of assemblages of native predators in controlling PRM through semi-field or field experiments would be most useful for future biological control applications in poultry houses.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Geoffrey Chiron (ITAVI) and all the poultry farmers for allowing us to take samples from their farms, Dr Jean-Claude Streito for identifying the bugs, and Dr Mark Judson for identifying the pseudoscorpions. In addition, the authors thank Tristan Gambin, Jordan Dijoux, and Dylan Tallon for expert laboratory technical assistance. We would also like to thank three anonymous reviewers whose comments were very helpful in improving the manuscript.

The FEADER (Fonds Européen Agricole pour le Développement Rural) European funds, the French Rhone-Alpes-Auvergne Region (grant number RRHA 160116CR0820011, project 'Bioptipou'), as well as the CNPO (Comité National pour la Promotion de l'OEuf, France) supported this work. Ghais Zriki was supported via a PhD fellowship from the CeMEB LabEx and the French Occitanie Region.

REFERENCES

- 1 Chauve C, The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778): current situation and future prospects for control. *Vet Parasitol* **79**: 239–245 (1998).
- 2 Sparagano O, Pavličević A, Murano T, Camarda A, Sahibi H, Kilpinen O *et al.*, Prevalence and key figures for the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* infections in poultry farm systems. *Exp Appl Acarol* **48**: 3–10 (2009).
- 3 Nakamae H, Fujisaki K and Kishi S, The new parasite ecology of chicken mites *Dermanyssus gallinae* parasitizing and propagating on chickens even in the daytime. *J Poult Sci* **34**:110–116 (1997).
- 4 Maurer V and Baumgärtner J, Temperature influence on life table statistics of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Exp Appl Acarol* **15**:27–40 (1992).
- 5 Kilpinen O, Roepstorff A, Permin A, Nørgaard-Nielsen G, Lawson LG and Simonsen HB, Influence of *Dermanyssus gallinae* and *Ascaridia galli* infections on behaviour and health of laying hens (*Gallus Gallus domesticus*). *Br Poultry Sci* **46**:26–34 (2005).
- 6 Wojcik AR, Grygon-Franckiewicz B, Zbikowska E and Wasielewski L, Invasion of *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) in poultry farms in the Toruń region. *Wiad Parazytol* **46**:511–515 (2000).
- 7 Sparagano OAE, George DR, Harrington DWJ and Giangaspero A, Significance and control of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Annu Rev Entomol* **59**:447–466 (2014).
- 8 Marangi M, Morelli V, Pati S, Camarda A, Cafiero MA and Giangaspero A, Acaricide residues in laying hens naturally infested by red mite *Dermanyssus gallinae*. *PLoS One* **7**:e31795 (2012).
- 9 George DR, Sparagano OAE, Port G, Okello E, Shiel RS and Guy JH, Environmental interactions with the toxicity of plant essential oils to the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Med Vet Entomol* **24**:1–8 (2010).
- 10 Maurer V and Perler E, Silicas for Control of the Poultry Red Mite *Dermanyssus gallinae*. Joint Organic Congress, Odense, Denmark, May 30–31, (2006).
- 11 Steenberg T and Kilpinen O, Fungus infection of the chicken mite *Dermanyssus gallinae*. *IOBC WPRS Bulletin* **26**:23–26 (2003).
- 12 Tavassoli M, Ownag A, Pourseyed SH and Mardani K, Laboratory evaluation of three strains of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* for controlling *Dermanyssus gallinae*. *Avian Pathol* **37**:259–263 (2008).
- 13 Maurer V, Baumgärtner J, Bieri M and Fölsch DW, The occurrence of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) in Swiss poultry houses. *Mitt Schweiz Entomol Ges* **66**:87–97 (1993).
- 14 Lesna I, Wolfs P, Faraji F, Roy L, Komdeur J and Sabelis MW, Candidate predators for biological control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Exp Appl Acarol* **48**:63–80 (2009).
- 15 Bartley K, Turnbull F, Wright HW, Huntley JF, Palarea-Albaladejo J, Nath M *et al.*, Field evaluation of poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) native and recombinant prototype vaccines. *Vet Parasitol* **244**: 25–34 (2017).
- 16 Price DR, Küster T, Øines Ø, Oliver EM, Bartley K, Nunn F *et al.*, Evaluation of vaccine delivery systems for inducing long-lived antibody responses to *Dermanyssus gallinae* antigen in laying hens. *Avian Pathol* **48**:S60–S74 (2019).
- 17 Ali W, George DR, Shiel RS, Sparagano OAE and Guy JH, Laboratory screening of potential predators of the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) and assessment of *Hypoaspis miles* performance under varying biotic and abiotic conditions. *Vet Parasitol* **187**:341–344 (2012).
- 18 Lesna I, Sabelis MW, van Niekerk TGCM and Komdeur J, Laboratory tests for controlling poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*) with predatory mites in small "laying hen" cages. *Exp Appl Acarol* **58**: 371–383 (2012).
- 19 Toldi M, Faleiro DCC, Da Silva GL and Ferla NJ, Life cycle of the predatory mite *Cheyletus malaccensis* (Acari: Cheyletidae) fed on poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Syst Appl Acarol* **22**:1422 (2017).
- 20 Knapp M, van Houten Y, van Baal E and Groot T, Use of predatory mites in commercial biocontrol: current status and future prospects. *Acarologia* **58**:7282 (2018).
- 21 Geden CJ, Stinner RE and Axtell RC, Predation by predators of the house fly in poultry manure: effects of predator density, feeding history, interspecific interference, and field conditions. *Environ Entomol* **17**:320–329 (1988).
- 22 Brady J, The mites of poultry litter: observations on the bionomics of common species, with a species list for England and Wales. *J Appl Ecol* **7**:331–348 (1970).
- 23 Proctor HC, Feather mites (Acari: Astigmata): ecology, behavior, and evolution. *Annu Rev Entomol* **48**:185–209 (2003).
- 24 Walter DE and Proctor HC, Mites in soil and litter systems. In *Mites: Ecology, Evolution & Behaviour*, Springer, Dordrecht, pp. 166–228 (2013).
- 25 Roy L, El Adouzi M, Moraza ML, Chiron G, Villeneuve de Janti E, Le Peutrec G *et al.*, Arthropod communities of laying hen houses: an integrative pilot study toward conservation biocontrol of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Biol Control* **114**:176–194 (2017).

- 26 Hinton JL and Moon RD, Arthropod populations in high-rise, caged-layer houses after three manure cleanout treatments. *J Econ Entomol* **96**:1352–1361 (2003).
- 27 Polis GA and Holt RD, Intraguild predation: the dynamics of complex trophic interactions. *Trends Ecol Evol* **7**:151–154 (1992).
- 28 Rosenheim JA, Wilhoit LR and Armer CA, Influence of intraguild predation among generalist insect predators on the suppression of an herbivore population. *Oecologia* **96**:439–449 (1993).
- 29 Rosenheim JA, Kaya HK, Ehler LE, Marois JJ and Jaffee BA, Intraguild predation among biological-control agents: theory and evidence. *Biological Control* **5**:303–335 (1995).
- 30 Schausberger P and Walzer A, Combined versus single species release of predaceous mites: predator–predator interactions and pest suppression. *Biol Control* **20**:269–278 (2001).
- 31 Croft BA and MacRae IV, Biological control of apple mites by mixed populations of *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) and *Typhlodromus pyri* Scheuten (Acari: Phytoseiidae). *Environ Entomol* **21**:202–209 (1992).
- 32 Rosenheim JA and Harmon JP, The influence of intraguild predation on the suppression of a shared prey population: an empirical reassessment. In *Trophic and Guild in Biological Interactions Control*, Springer, Dordrecht, pp. 1–20 (2006).
- 33 Ong TWY and Vandermeer JH, Coupling unstable agents in biological control. *Nat Commun* **6**:1–9 (2015).
- 34 Janssen A, Montserrat M, HilleRisLambers R, de Roos AM, Pallini A and Sabelis MW, Intraguild predation usually does not disrupt biological control, in *Trophic and Guild in Biological Interactions Control*. Springer, Dordrecht, pp. 21–44 (2006).
- 35 Holt R and Lawton JH, The ecological consequences of shared natural enemies. *Annu Rev Ecol Syst* **25**:495–520 (1994).
- 36 Desneux N and O'Neil RJ, Potential of an alternative prey to disrupt predation of the generalist predator, *Orius insidiosus*, on the pest aphid, *Aphis glycines*, via short-term indirect interactions. *Bull Entomol Res* **98**:631–639 (2008).
- 37 Chailleux A, Mohl EK, Teixeira Alves M, Messelink GJ and Desneux N, Natural enemy-mediated indirect interactions among prey species: potential for enhancing biocontrol services in agroecosystems: NE-mediated indirect interactions among prey species for biocontrol in agroecosystems. *Pest Manag Sci* **70**:1769–1779 (2014).
- 38 Brady J, Litter mites and their effects on poultry. *Worlds Poult Sci J* **26**: 658–668 (1970).
- 39 Barker PS, Bionomics of *Androlaelaps casalis* (Berlese) (Acarina: Laelapidae) a predator of mite pests of stored cereals. *Can J Zool* **46**: 1099–1102 (1968).
- 40 Žďárková E, Lukáš J and Horák P, Compatibility of *Cheyletus eruditus* (Schrank) (Acari: Cheyletidae) and *Cephalonomia tarsalis* (Ashmead) (Hymenoptera: Bethyidae) in biological control of stored grain pests. *Plant Prot Sci* **39**:29–34 (2003).
- 41 Eubanks MD and Denno RF, Health food versus fast food: the effects of prey quality and mobility on prey selection by a generalist predator and indirect interactions among prey species. *Ecol Entomol* **25**: 140–146 (2000).
- 42 Entrekin DL and Oliver JH, Aggregation of the chicken mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *J Med Entomol* **19**:671–678 (1982).
- 43 Graca-Souza A, Mayamonteiro C, Paivasilva G, Braz G, Paes M, Sorgine M *et al.*, Adaptations against heme toxicity in blood-feeding arthropods. *Insect Biochem Mol Biol* **36**:322–335 (2006).
- 44 Lehane MJ, *The Biology of Blood-Sucking in Insects*, 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge (2005).
- 45 Jackson RR, Nelson XJ and Sune GO, A spider that feeds indirectly on vertebrate blood by choosing female mosquitoes as prey. *Proc Natl Acad Sci USA* **102**:15155–15160 (2005).
- 46 Jackson RR, Deng C and Cross FR, Convergence between a mosquito-eating predator's natural diet and its prey-choice behaviour. *R Soc Open Sci* **3**:160584 (2016).
- 47 Pastorok RA, Prey vulnerability and size selection by Chaoborus larvae. *Ecology* **62**:1311–1324 (1981).
- 48 Sabelis MW, Predatory arthropods, in *Natural Enemies: The Population Biology of Predators, Parasites and Diseases*, ed. by Michael J. Crawley. Blackwell Scientific, Blackwell Scientific, Oxford, pp. 225–264 (1992).
- 49 Xiao Y and Fadamiro HY, Functional responses and prey-stage preferences of three species of predaceous mites (Acari: Phytoseiidae) on citrus red mite, *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae). *Biol Control* **53**:345–352 (2010).
- 50 Blackwood JS, Schausberger P and Croft BA, Prey-stage preference in generalist and specialist Phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) when offered *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) eggs and larvae. *Environ Entomol* **30**:1103–1111 (2001).
- 51 Ganjisaffar F and Perring TM, Prey stage preference and functional response of the predatory mite *Galenidromus flumenis* to *Oligonychus pratensis*. *Biol Control* **82**:40–45 (2015).
- 52 Lay DC, Fulton RM, Hester PY, Karcher DM, Kjaer JB, Mench JA *et al.*, Hen welfare in different housing systems. *Poult Sci* **90**:278–294 (2011).
- 53 El Adouzi M, Bonato O and Roy L, Detecting pyrethroid resistance in predatory mites inhabiting soil and litter: an in vitro test. *Pest Manag Sci* **73**:1258–1266 (2017).
- 54 Koehler HH, Predatory mites (Gamasina, Mesostigmata), invertebrate biodiversity as bioindicators of sustainable landscapes, Elsevier, Amsterdam, pp. 395–410 (1999).
- 55 Abbott WS, A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J Am Mosq Control Assoc* **3**:302–303 (1987).
- 56 Team RC and Core Team R, *R: a language and environment for statistical computing*, Vol. 2019. R Foundation for Statistical Computing, Vienna (2019).
- 57 Cohen JE, Pimm SL, Yodzis P and Saldana J, Body sizes of animal predators and animal prey in food webs. *J Anim Ecol* **62**:67 (1993).
- 58 Radloff FG and Du Toit JT, Large predators and their prey in a southern African savanna: a predator's size determines its prey size range. *J Anim Ecol* **73**:410–423 (2004).
- 59 Gurtin ME and Levine DS, On predator-prey interactions with predation dependent on age of prey. *Math Biosci* **47**:207–219 (1979).
- 60 Hastings A, Age-dependent predation is not a simple process. I. Continuous time models. *Theor Popul Biol* **23**:347–362 (1983).
- 61 da Silva GL, Ferla NJ, Toldi M and Faleiro DCC, Mite fauna (Acari) associated to commercial laying hens and bird nests in Vale do Taquari, Rio Grande do Sul, Brazil. *Biotemas* **26**:253–262 (2013).
- 62 Solomon ME, Experiments on predator-prey interactions of storage mites. *Acarologia* **11**:484–503 (1969).
- 63 Cebolla R, Pekár S and Hubert J, Prey range of the predatory mite *Cheyletus malaccensis* (Acari: Cheyletidae) and its efficacy in the control of seven stored-product pests. *Biol Control* **50**:1–6 (2009).
- 64 Wharton GW and Arlian LG, Predatory behaviour of the mite *cheyletus aversor*. *Anim Behav* **20**:719–723 (1972).
- 65 Collard B, Tixier P, Carval D, Lavigne C and Delattre T, Spatial organisation of habitats in agricultural plots affects per-capita predator effect on conservation biological control: an individual based modelling study. *Ecol Model* **388**:124–135 (2018).
- 66 Rusch A, Bommarco R, Jonsson M, Smith HG and Ekblom B, Flow and stability of natural pest control services depend on complexity and crop rotation at the landscape scale. *J Appl Ecol* **50**:345–354 (2013).
- 67 Sikorska D, Garnis J, Dąbrowski ZT, Sikorski P, Gozdowski D and Hopkins RJ, Thus far but no further: predatory mites do not migrate effectively into strawberry plantations. *Exp Appl Acarol* **77**:359–373 (2019).

Article 2

Évaluation du lien entre la prédation sur un ravageur et son contrôle comme un service rendu dans le monde d'acariens (Publié dans *Ecology and Evolution*)

Roy L., Taudière A., Papaix J., Blatrix R., Chiron G., Zriki G., Bonato O. & Barnagaud J-y

Résumé : La régulation des bioagresseurs par leurs ennemis naturels a un potentiel important pour diminuer l'usage des pesticides dans les agroécosystèmes. Cependant, le véritable rôle de la prédation comme un service écosystémique demeure largement spéculatif, particulièrement dans le monde des organismes minuscules comme les acariens. Les acariens prédateurs sont des ennemis naturels des arthropodes ectoparasites dans les bâtiments d'élevages d'animaux. Dans cette étude, nous avons testé à l'échelle de l'écosystème, l'effet régulateur d'un acarien parasite *Dermanyssus gallinae* par les autres acariens prédateurs naturellement présents dans le fumier accumulé dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses soumis à différents systèmes de gestions (conventionnel, au sol et organique). Nous avons utilisé une approche multi-échelles impliquant (i) des expériences de prédateurs comportementale *in-vitro*, (ii) un modèle statistique pour comparer la covariation entre les décomptes d'acariens dans les bâtiments d'élevages sous différents systèmes. Les expériences comportementales ont montré que trois acariens prédateurs sont potentiellement capables de se nourrir de *D. gallinae*. Dans l'ADN environnemental en suspension dans l'air et dans les échantillons d'acariens dans le fumier, nous avons observé une covariation entre l'abondance de *D. gallinae* et l'abondance de ces trois prédateurs uniquement à l'échelle du bâtiment. Dans la plupart des cas, l'ampleur de ces covariations était élevée et positive. Notre étude montre que la prédation sur une espèce parasite par les acariens prédateur a lieu naturellement dans les fermes de production animale. Cependant, la dynamique complexe du réseau trophique entre acariens ne permet pas l'émergence d'un signal cohérent de l'effet de prédation sur l'espèce parasite à l'échelle de l'assemblage. Sur la base de ces résultats, nous proposons des perspectives sur le contrôle d'un bioagresseur par les acariens prédateurs natifs et nous attirons l'attention sur la perturbation potentielle par l'application de pesticides et de médicaments vétérinaires de services écosystémiques potentiellement existants mais encore ignorés.

Contribution des auteurs : Dans ce deuxième article, j'ai contribué par la réalisation de tests de prédation *in-vitro* entre les arthropodes prédateurs natifs et leurs proies potentielles (*D. gallinae* et les acariens astigmatés). Lise Roy, Olivier Bonato et Geoffrey Chiron ont conçu l'étude, Jean-Yves Barnagaud et Julien Papaix ont conçu le modèle et le cadre de calcul et Lise Roy, Adrien Taudière, Rumsaïs Blatrix et Jean-Yves Barnagaud ont analysé les données. Lise Roy, Rumsaïs Blatrix, Ghais Zriki ont effectué les expériences. Adrien Taudière a conçu les figures. Lise Roy et Jean-Yves Barnagaud ont rédigé le manuscrit avec la participation de tous les auteurs.



ORIGINAL RESEARCH

Ecology and Evolution

Open Access

WILEY

Evaluating the link between predation and pest control services in the mite world

Lise Roy¹ | Adrien Taudière¹ | Julien Papaix² | Rumsais Blatrix¹ |
Geoffrey Chiron³ | Ghais Zriki¹ | Olivier Bonato⁴ | Jean-Yves Barnagaud⁵

¹CEFE, University of Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Université Paul-Valéry Montpellier 3, Montpellier, France

²UR 546 BioSP, INRA, Avignon, France

³Institut Technique de l'AViculture (ITAVI) Lyon, Lyon Cedex 07, France

⁴Interactions Plantes Microorganismes Environnement (IPME), IRD, Cirad, UM, Montpellier, France

⁵CEFE, University of Montpellier, CNRS, EPHE-PSL University, IRD, Université Paul-Valéry Montpellier 3, Montpellier, France

*Correspondence

Lise Roy, CEFE, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier cedex 5, France.
Email: lise.roy@univ-montp3.fr

Funding information

French Occitanie Region; CeMEB LabEx; French region Rhône-Alpes-Auvergne; Comité National pour la Promotion de l'Oeuf; FEADER, Grant/Award Number: RRHA 160116CR0820011

Abstract

1. Pest regulation by natural enemies has a strong potential to reduce the use of synthetic pesticides in agroecosystems. However, the effective role of predation as an ecosystem service remains largely speculative, especially with minute organisms such as mites.
2. Predatory mites are natural enemies for ectoparasites in livestock farms. We tested for an ecosystem level control of the poultry pest *Dermanyssus gallinae* by other mites naturally present in manure in poultry farms and investigated differences among farming practices (conventional, free-range, and organic).
3. We used a multiscale approach involving (a) in vitro behavioral predation experiments, (b) arthropod inventories in henhouses with airborne DNA, and (c) a statistical model of covariations in mite abundances comparing farming practices.
4. Behavioral experiments revealed that three mites are prone to feed on *D. gallinae*. Accordingly, we observed covariations between the pest and these three taxa only, in airborne DNA at the henhouse level, and in mites sampled from manure. In most situations, covariations in abundances were high in magnitude and their sign was positive.
5. Predation on a pest happens naturally in livestock farms due to predatory mites. However, the complex dynamics of mite trophic network prevents the emergence of a consistent assemblage-level signal of predation. Based on these results, we suggest perspectives for mite-based pest control and warn against any possible disruption of ignored services through the application of veterinary drugs or pesticides.

KEYWORDS

animal farming, assemblage dynamics, biological control, ecosystem services, predation, trophic interactions

1 | INTRODUCTION

Populations and assemblages in natural ecosystems are shaped by the interaction of bottom-up forces (resource limitation) and top-down forces (consumer regulation) (Leroux & Loreau, 2015). In agroecosystems, the bottom-up forces centered on the organism under production are fixed at a high level by human inputs (fertilizer, animal feed). Nevertheless, many top-down and bottom-up forces involve uncultivated organisms that interact at various levels. The setting of a biological control requires that antagonistic interactions, such as predation, trigger a top-down trophic cascade sufficient to regulate a pest in nonlimiting resource conditions (as defined by Ripple et al., 2016). If efficient at the ecosystem level, biological pest control can contribute significantly to reduce the use of agrochemicals, and particularly insecticides. The emergence of such process is often hypothesized to be favored by high biodiversity, assumed to multiply interacting top-down and bottom-up forces as a consequence of the complexification of trophic networks. The association between biodiversity and yields in agricultural landscapes varies, however, from highly positive to nil or even negative (Karp et al., 2018). Uncovering the relationships among regulating processes and species dynamics within assemblages is therefore necessary to evaluate the existence of an ecosystem service.

The link between a predation process and the associated service (pest control) is difficult to quantify at the scales of farms and agricultural landscapes, because it rarely emerges additively due to assemblage-level processes. The coexistence of multiple predators that attack a given pest may, as a consequence, either heighten or downplay the benefits of biological control (Caballero-López et al., 2012; Colfer & Rosenheim, 2001; Janssen et al., 2006; Losey & Denno, 1998). In addition, density-dependent interactions between the prey and its own resources can promote positive effects of predation (Abrams, 1992). Furthermore, pest-predator interactions and the resulting control service at an ecosystem level are strongly modulated by landscape composition and configuration (e.g., landscape complexity in Perez-Alvarez, Nault, & Poveda, 2019, and Winqvist et al., 2011, forest cover in Librán-Embid, De Coster, & Metzger, 2017). These effects typically range from positive to negative within single agroecosystems, with no obvious rule. The idiosyncratic nature of species responses to environmental variation, the complexity of biotic interactions, and the multidimensional multiscale structure of species assemblage may therefore hide clear associations between a given process and higher-level pattern (Micheli et al., 1999).

The link between predation and pest control services is generally assumed more than actually tested because both predation itself and the associated service are difficult to measure, especially when dealing with arthropod pests (Kremen & Miles, 2012). Most studies characterize either predation capacity *in vitro* with arthropods considered promising for biological control (e.g., Knoll, Ellenbroek, Romeis, & Collatz, 2017), or quantify the effects of various factors (landscape complexity, agricultural practices, etc.) on the diversity of predator guilds in agroecosystems (e.g., Flohre et al., 2011;

Hedde et al., 2015; Paoletti, Schweigl, & Favretto, 1995; Weibull & Östman, 2003). Only a handful of studies have combined methods from community ecology with tedious field experiments to evaluate the link between predation and a pest control service. For example, Perez-Alvarez et al. (2019) and Winqvist et al. (2011) measured the relationships between the diversity of predator guilds and the frequency of predation events recorded on artificially exposed pest individuals in the field. Others seek to determine whether the damage recorded on crops is significantly higher in modalities that exclude predators (e.g., nets impassable to birds and bats but permeable to butterfly pests Librán-Embid et al., 2017). These rare integrative studies have all revealed contrasting effects within a given ecosystem, that would have been missed by simpler studies. Painstaking explorations at various levels are thus needed in order to understand the full chain of processes involved in a pest control service, but may not be conclusive due to this complexity.

The type of farming practice can influence the expression of a given ecosystem service. Certified organic agriculture aims at ecological intensification, in particular by prohibiting the use of synthetic insecticides. Although the effect of landscape often surpasses that of practices applied within agricultural plots (Bengtsson, Ahnström, & Weibull, 2005; Weibull & Östman, 2003; Winqvist et al., 2011), Muneret et al. (2018) show that organic farming practices overall do favor the processes leading to services. However, this meta-analysis also detects a higher rate of pest infestation in organic farms than in nonorganic ones. Interestingly, the detection of the positive effect of organic practices is highly dependent on the indicator used: higher detection using functional traits of predatory insects than their taxonomic diversity (Hedde et al., 2015), for instance. Furthermore, pest species richness, not abundance or dominance, modulates the efficiency of pest control service (Dainese et al., 2019). The dependence to the choice of indicators suggests that exploring the emergent properties of pest-predator assemblages is a good way to advance the understanding on how agricultural practices affect the pest control service.

Hematophagous arthropods such as midges, bedbugs or poultry mites cause significant damage in animal production, but few studies addressed their regulation by natural enemies. These hematophagous arthropods are naturally prone to encounter various predators within livestock buildings as they spend most of their lives at a distance from their hosts in microhabitats such as cracks and crevices. Many predatory arthropods that do not interact directly with vertebrate hosts colonize livestock buildings from the surrounding environment by way of phoresis on manure-dwelling insects (e.g., in poultry, Brady, 1970a, 1970b; Horn, Körbes, Granich, Senter, & Ferla, 2016; Roy et al., 2017). The only published attempt to use native arthropods for biological control at the scale of a livestock production farm, to our knowledge, aimed to regulate nonhematophagous coprophilous flies in poultry production through amendments of the manure management (Hinton & Moon, 2003). However, whether predation affects hematophagous populations at the scale of poultry farms arthropod assemblages remains unknown, nor whether organic practices promote

these processes. The development of biological control in animal husbandry generally lags far behind that of crop production, in spite of being a foreground challenge in the current context of society's demand for a compromise between food safety and environmental protection, including pesticide reduction and animal welfare. Furthermore, land applications of recycled livestock manures are increasing worldwide (Motoyama et al., 2011) and generate environmental pollution by drug residues (Kaczala & Blum, 2016). Reducing such treatments in livestock housing is expected to reduce toxic residues in food of animal origin and substantially mitigate the impact of pesticides on biodiversity in farmlands at once.

The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) is a hematophagous mite that impairs poultry health and welfare, as a reservoir of *Salmonella* spp. (Valiente Moro, Chauve, & Zenner, 2007). Its widespread occurrence results into substantial economic impacts on the egg-producing sector worldwide (Sparagano, George, Harrington, & Giangaspero, 2014; Valiente Moro et al., 2007). The control of this pest mainly relies on synthetic neurotoxic acaricides (Brauneis, Zoller, Williams, Zschiesche, & Heckerroth, 2017; Chauve, 1998), which increases environmental pollution risk through contaminated manures. Implementing biological control against *D. gallinae* is in line with the current challenges defined by the One-Health initiative, a transdisciplinary approach to health management integrating human and veterinary medicine with environmental sciences (Destoumieux-Garzon et al., 2018; Lerner & Berg, 2017). Lab-reared predatory mites have been sold in recent years for in-undative biological control, although with limited success (Knapp, van Houten, van Baal, & Groot, 2018). Native mite assemblages from British, Brazilian, and French layer farms have been shown to be relatively rich (Brady, 1970a, 1970b; Horn, Granich, Horn Körbes, Liberato Da Silva, & Ferla, 2018; Roy et al., 2017), and several taxa have been shown to feed on *D. gallinae* in vitro (Zriki, Blatrix, & Roy, 2020). Nevertheless, no study has, to date, attempted to assess whether naturally occurring predators could affect the dynamics of *D. gallinae*.

Interactions between mites are difficult to test in their environment (Lindquist, 1975). They are small, often highly mobile, and live mainly in coarse substrates (manure, dust, soil) with grain sizes similar to those of prey and predators, impairing visual detection. Many studies have focused on predation among mites in highly simplified systems (rarely more than two species within in vitro systems; see Solomon, 1969, for review, Janssen, van Gool, Lingeman, Jacas, & van de Klashorst, 1997). Field demonstrations of control services by predatory mites in livestock farms are severely hampered by the low specificity of aggression marks on hosts (no typical lesions can be observed on birds as opposed to those produced on plants by crop pests), and in situ experiments are practically unfeasible. Even more generally, the effect of predation at the scale of mite assemblages has not really been tested and its consequences for pest regulation services not evaluated.

In the present study, we provide the first attempt to investigate mite predation on *D. gallinae* in poultry farms from the individual to

TABLE 1 Morphospecies considered. These distinct taxonomic entities, characterized by Roy et al. (2017), are distinguishable alive with a stereomicroscope, without recourse to their microscopic preparation

Morphospecies ID	Taxonomic content
Dg	<i>Dermanyssus gallinae</i> (Dermanyssoidea)
CHE	<i>Cheyletus</i> spp. (Cheyletoidea)
ME1	<i>Dendrolaelaps presepum</i> (dominant species), <i>Dendrolaelaps</i> sp., <i>Halolaelaps</i> sp. (Rhodacaroidea)
ME2	<i>Androlaelaps casalis</i> (incl. two cryptic species; Dermanyssoidea)
ME4	<i>Proctolaelaps parascolyti</i> (Ascoidea)
ME7	<i>Macrocheles muscaedomesticae</i> (dominant species), <i>Macrocheles</i> spp. (Eviphidoidea)
UR1	<i>Uroobovella fimicola</i> (Uropodina)
UR2	<i>Trichouropoda orbicularis</i> , <i>Uroobovella marginata</i> , <i>Nenteria</i> sp. (Uropodina)

the assemblage levels. We tested predation on *D. gallinae* through in vitro tests on mites taken directly from the field. Complementarily, we tested for a signal of predation at the level of mite assemblages through a statistical comparison of prey-predator correlations in three farm types (conventional, free-range, and organic), using metabarcoding on airborne DNA and a rapid biodiversity assessment method on manure mites.

We specifically tested the following three hypothesis-question pairs:

- naturally occurring mites can feed on the species of interest: Is predation on *D. gallinae* by naturally occurring mites possible?
- the prey and its predators are present together in the same hen-house, a prerequisite for biological pest control to take place: Can predation take place in real life?
- farming practices interfere with this possible service, with organic farms probably being the most favorable: Does this predation differ from one farming practice to another?

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 | System under study and sampling strategy

2.1.1 | Mites under test

We tested the interactions between the target pest *D. gallinae* and seven of the mite morphospecies defined in Roy et al. (2017), which consist in either a single or multiple true species, although all are taxonomically distinct (see Table 1). These mites were chosen among those most frequently recorded in henhouse manures and possible predators of mites according to literature.

In farms, the prey *D. gallinae* remains strictly confined to the hen-houses. Inside, it tends to reside preferentially in the upper stratum (where the hens are), while some predators (mesostigmatid mites) are often concentrated in the lower stratum (in manure under the slatted floor, Figure 1) and some others (*Cheyletus* spp.) are more evenly distributed between the two strata. However, even the predators that concentrate on the lower stratum are expected to impact the prey since they are vagile and active hunters that often travel between the low and high strata (Maurer, Baumgärtner, Bieri, & Fölsch, 1993; LR pers. obs.).

2.1.2 | Study sites

The study involved 6 conventional, 8 free-range, and 6 organic barn henhouses (Figure 1a) located in eastern France down to Jura mountains (Ain region; 10 henhouses; 1 organic, 5 conventional, 4 free-range) and south to the Rhône valley (Drôme region; 10 henhouses; 5 organic, 2 conventional, 3 free-range). The three farm types primarily differed in hen density (lowest in organic farms), pesticide and drug use (synthetic in free-range and conventional versus of natural origin in organic farms), and whether hens can accede an outdoor space (absent in conventional only, see Appendix S1).

The layout of French barn henhouses is similar in the three farm types however (Figure 1b). The inside always contains the basic equipment necessary for the hens. It is placed on the slatted floor

(high stratum, Figure 1b) under which manure accumulates (low stratum).

2.1.3 | Sampling design and mite inventories

We conducted four successive sampling campaigns in 2016 at 3-month intervals: March (13–22nd), June (9–15th), September (19–22nd), and December (12–15th). During each campaign, we systematically sampled manure and airborne particles from each henhouse (see below). Henhouses not operating at the time of a given campaign (empty period for sanitation once a year) were excluded from this campaign, and one henhouse was not sampled in September due to sanitary impediments. The start dates of the flocks (introduction of a new group of producing hens into a henhouse after a sanitary empty period) varied among farms; thus, the age of the flock varied between the farms at each sampling campaign (hereafter “flock age”). Additional campaigns were conducted to sample live predators for in vitro tests (see below).

During each sampling campaign and in each henhouse, we sampled airborne particles from two randomly selected points from ca. 30 cm above the slatted floor using a Coriolis[®] μ air sampler (Bertin Instruments). Airborne particles were collected into a PBS + 0.01% Tween32 medium at a rate of 0.1 m³ per min for 10 min. A 100–110 bp long DNA fragment of the variable region V7 in the gene coding the 18S rRNA from all Eukaryotes was amplified by PCR using the following primer pair: forward: 5'-TTTGTCTGTTAATTSCG-3' and

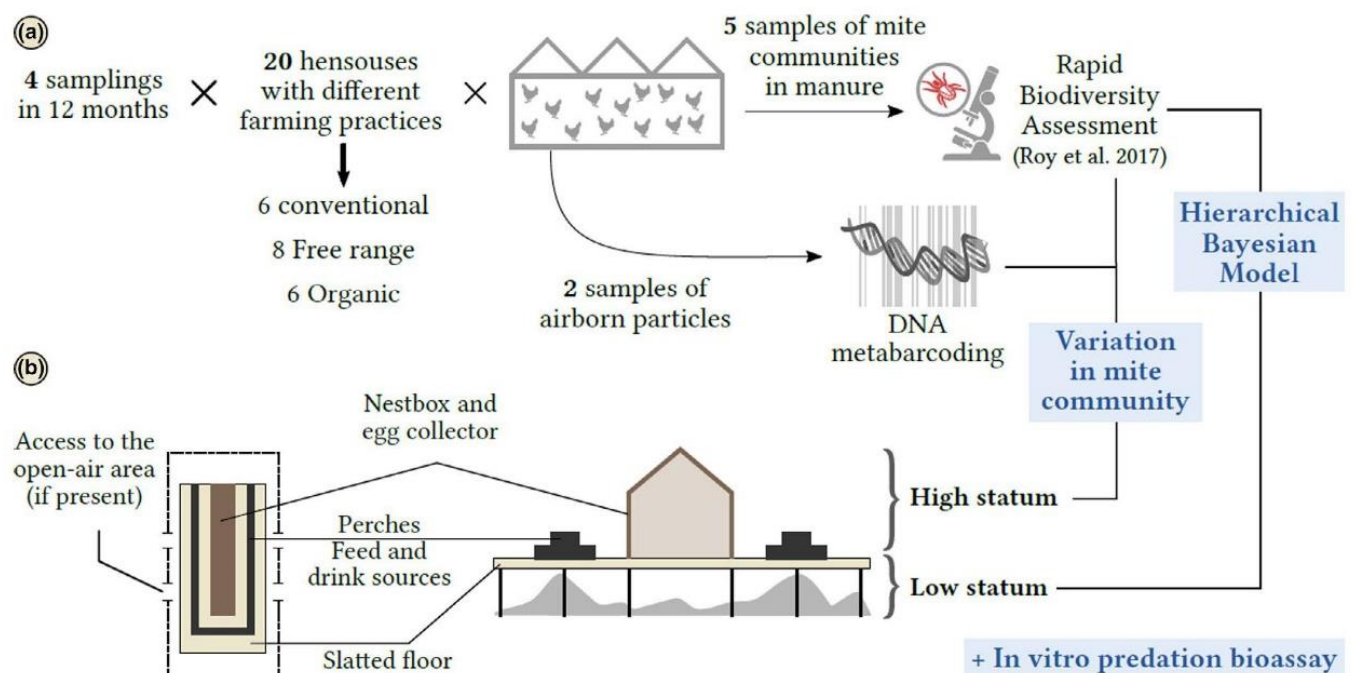


FIGURE 1 Sampling information. (a) Sampling design: 20 barn henhouses (in 16 farms) located in two different landscapes in Southeastern France (Ain and extended Drôme). Four successive sampling campaigns were processed, with effective airborne particles and manure sampling in each of farm buildings hosting a layer flock at the moment of sampling campaign. (b) Typical layout of a barn henhouse. Right, internal vertical cross-sectional view of a henhouse. Left, top view of a barn henhouse with an open-air area (free-range and organic types). In conventional farms, the trapdoors are just kept closed.

reverse 5'-CACAGACCTGTTATTGC-3' (Guardiola, et al., 2015). The PCR products were sequenced via Illumina MiSeq by Spygen. The obtained sequences were analyzed using the bioinformatics pipeline described in Appendix S2. In short, sequences were quality-filtered using Sickle (<https://github.com/najoshi/sickle>) and clustered into operational taxonomic units (OTUs) using vsearch (Rognes, Flouri, Nichols, Quince, & Mahé, 2016). Finally, each OTU was taxonomically classified using RDP-classifier (Wang, Garrity, Tiedje, & Cole, 2007).

We also collected five standard manure samples from randomly selected points, during each sampling campaign and in each henhouse ($n = 20 \times 4 \times 5$), to characterize manure mite assemblages following the methodology in Roy et al. (2017). Each sample consisted of 250 ml of manure taken from an area approximately 40 cm in diameter and 5 cm deep in a glass flask sealed with a rubber stopper. Exposure to saturating ethyl acetate vapors within one hour of sampling killed the arthropods and prevented further development of the assemblage.

All arthropods from these samples were identified and counted using the Rapid Biodiversity Assessment method developed by Roy et al. (2017) for sorting out mite morphospecies and counting them using a binocular stereomicroscope.

2.2 | Is predation on *D. gallinae* by naturally occurring mites possible?

We used in vitro tests to estimate the voracity of mites and their preference for *D. gallinae* over other farm-dwelling preys. We also assessed whether alternative mites may divert predators from the focus prey and differentiated predation among stages of *D. gallinae*.

We conducted tests by exposing pairs of mite preys for 24 hr to single starved predators individualized in transparent wells in microplates (El Adouzi et al., 2017). One test consisted of a well containing one putative predatory mite and a protonymph of *D. gallinae* plus either an Astigmatid mite (an alternative prey species commonly occurring in poultry farms) or an adult female *D. gallinae*. Test modalities were defined by the putative predator species and the identity of the alternative prey (adult female *D. gallinae* or Astigmata) accompanying the protonymph of *D. gallinae*. Several different modalities were tested on the same microplate and at the same time (= a series), with at least 15 test replicates (i.e., 15 mite predators in 15 microplate wells) per modality. To minimize the effect of confounding factors, (a) we tested each modality on different microplates successively (min. two), (b) we tested several modalities together in each series, and (c) we randomly rearranged the set of modalities tested together in each series. For each modality in each series, we tested a similar number of prey pairs in the absence of predator as controls to estimate their natural mortality during test.

We tested two commercially available species of Mesostigmatid mites (*Stratiolaelaps scimitus* and *Macrocheles robustulus*) as controls to validate the in vitro test system. These two mites are readily available in large numbers, and both are generalist soil mite predators.

We thus checked that mite predators were able to frequently feed on *D. gallinae* under our design. Live native predatory mites used in tests were collected from some of the henhouses sampled during the study.

Distinguishing between natural death of a prey and death due to predation is often impossible since mite predators mainly ingest liquids and do not swallow the prey body (Koehler, 1999). Therefore, we calculated a corrected prey mortality following Abbott (1925) to account for natural mortality of preys as estimated in controls.

We estimated the specific prey preferences for each predator using two-tailed binomial tests based on the null hypothesis that the probability of scores for one or the other prey is equal to 50% (the level of significance was 5% with Bonferroni correction). In these analyses, we considered only predators that killed a single prey, assuming that the others had made no choice.

2.3 | Can predation take place in real life?

Air DNA data provide a reasonable sampling of the mite assemblage composition throughout a henhouse as permanent ventilation shuffles the low and high strata permanently. We assigned each mite OTU from air DNA metabarcoding to one of the studied morphospecies to characterize mite assemblages from the entire henhouse. To do so, we compared OTU sequences with sequences previously obtained using classic Sanger sequencing from manure sampled in a previous study on the same set of farms (Roy et al., 2017).

We computed Spearman's rank correlations between the relative proportions of predatory morphospecies and *D. gallinae* in air DNA in search of a covariation between manure-dwelling predators and the pest at the whole-henhouse scale. We used the relative proportion instead of absolute values because the relationship between the number of sequences and the number of individuals varies sharply between taxa.

We compared the occurrence of each morphospecies in air (DNA) and manure (mite counts) data to assess the quality of the air data. We used Spearman's coefficients to correlate counts of morphospecies averaged from five manure samples per henhouse against counts of corresponding OTUs from two air samples per henhouse to refine the comparison.

2.4 | Does this predation differ from one farming practice to another?

We related the covariations in manure counts of *D. gallinae* to those of its putative predators in a hierarchical multispecies model implemented in a Bayesian framework (see details in Appendix S3). This additional analysis permitted to assess whether farm type, region, season, and flock age modulated a possible signal of predation at the scale of mite assemblages within henhouses. We decided to focus on manure data for this analysis so as to work on absolute values (direct mite inventories) rather than ratios of environmental DNA

(proportion of sequences of the different mite species). In short, this model described count variations of *D. gallinae* and its predators as Poisson distributions. We used mite counts as covariates explaining variations in *D. gallinae* counts, in interaction with four other covariates: farm type (conventional, free-range, organic), season (four seasons), flock age (the age of hens at the moment of sampling), and region (two regions). Farm types differed by hen density, nature of chemical inputs, and access to an outdoor space. Thus, the respective effects of these factors could not be disentangled and we used farm type as an integrative proxy for various farming practices.

3 | RESULTS

3.1 | Is predation on *D. gallinae* by naturally occurring mites possible?

The in vitro test system was considered correct since we recorded high frequencies of predation events on all mite preys (>80% wells with predation) and no significant preference according to the stage or the taxon with the control generalist predators (*M. robustulus* and *S. scimitus*; Figure 2).

Cheyletus spp. (CHE) and *M. muscaedomesticae* (ME7) had high predation frequencies on *D. gallinae* protonymphs (close to generalist

controls; Figure 2a). *Androlaelaps casalis* (ME2) and Digamasellidae spp. (ME1) had overall low predation frequency. Uropodina (UR1 and UR2) and *Proctolaelaps parascolyti* (ME4) preyed only anecdotally on any mite or were not reported to do so. *Androlaelaps casalis* (ME2) exhibited high variation in predation rate, with one record above 50% of predation in spite of a median below 10% (Figure 2a). Overall, our experimental tests revealed that the following three taxa are capable of substantial predation on *D. gallinae* in the absence of any physical barrier: *Cheyletus* spp. (CHE), *M. muscaedomesticae* (ME7) and *A. casalis* (ME2). They will be referred to as “pest predators” in the remaining text.

Androlaelaps casalis favored protonymphs (Figure 2b). *Cheyletus* spp. (CHE) and *M. muscaedomesticae* (ME7) both preferred significantly *D. gallinae* (any stage) versus Astigmata (Figure 2b). Predation on *D. gallinae* protonymphs by *A. casalis* was reduced in the presence of Astigmatid mites (5.6%) compared to adult *D. gallinae* (26.7%).

3.2 | Can predation take place in real life?

Assessment of the quality of air DNA analyses is provided in Appendix S2. Metagenomic data had satisfactory sensitivity and specificity: First, the selected DNA fragment allowed to distinguish all of the morphospecies except two (same sequence for the morphospecies ME1 and ME4); second, we recorded OTUs of arthropods previously

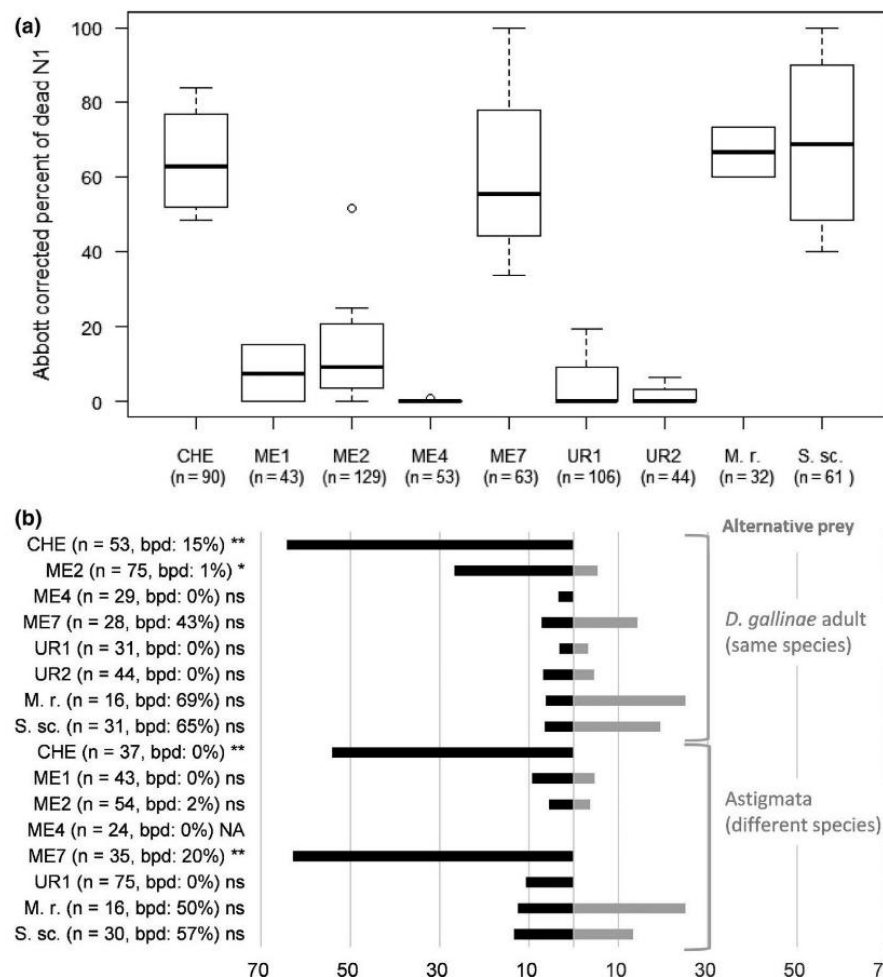


FIGURE 2 In vitro predation bioassays. (a) Boxplot of Abbott-corrected percentage of mortality of *Dermanyssus gallinae* protonymphs according to predator. (b) Distribution of choices according to predator and alternative prey (uncorrected % of all records). Here, only wells with a single prey dead are figured (either *D. gallinae* protonymphs or alternative prey). Morphospecies ID as in Table 1; S. sc., *Stratiolaelaps scimitus* and M. r., *Macrocheles robustulus* (control generalist predators); n, number of predatory mites under test; black horizontal bars, % of wells with *D. gallinae* protonymph killed; grey horizontal bars, % of wells with alternative preys killed; bpd (= both preys dead), percentage of wells where both prey were dead; signs following the parentheses, significance according to binomial exact test on choices: ns, not significant, * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$

TABLE 2 Percentage of detected occurrence of the three predators of *Dermanyssus gallinae* from manure and air data

	Per sample (manure data; <i>n</i> = 315)	Per henhouse × campaign (manure data; <i>n</i> = 63)	Per henhouse × campaign (manure and air data; <i>n</i> = 68)
<i>Androlaelaps casalis</i> (ME2)	41.90%	76.19%	86.76%
<i>Macrocheles</i> spp. (ME7)	53.97%	88.89%	85.29%
<i>Cheyletus</i> spp. (CHE)	40.63%	68.25%	95.59%

observed by the naked eye in the high stratum only (e.g., spiders, moths, staphylinid beetles); lastly, the number of sequences of *D. gallinae* in the air were well correlated with the number of individuals counted in manure (Spearman's $\rho = 0.56$). This makes us confident that the two indicators (airborne DNA and mite counts from manure) of the focus prey are good proxy to estimate the variations of pest populations in henhouses, a critical point when working on the abundance of *D. gallinae* in henhouses (see Mul et al., 2017, 2015).

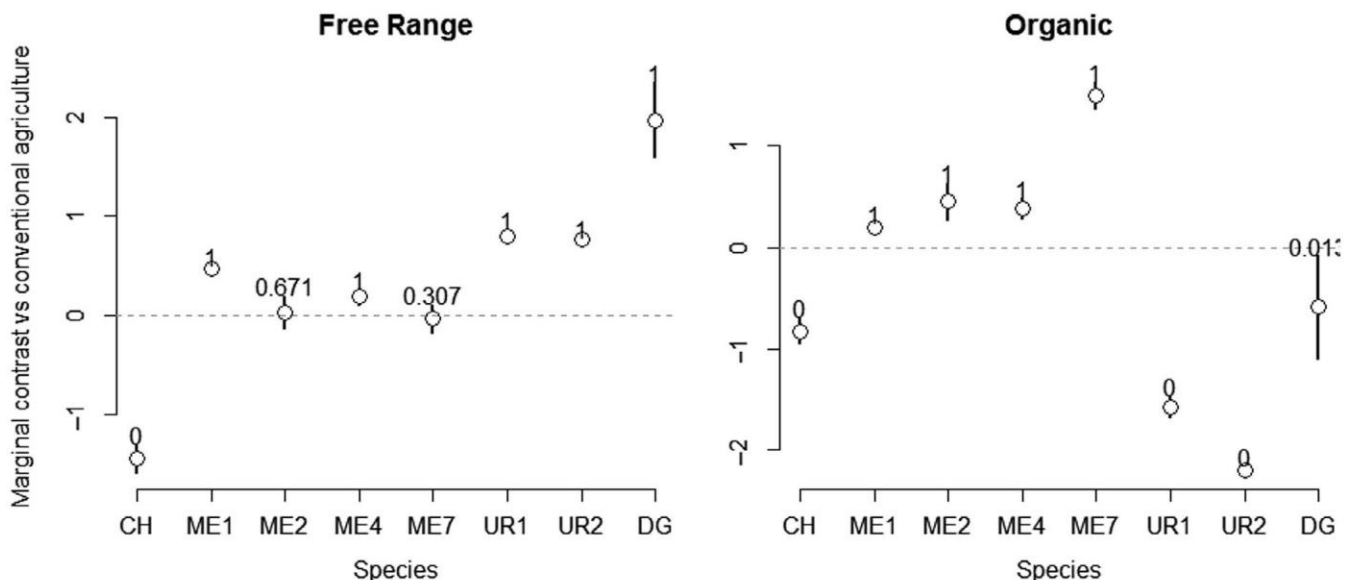
The relative abundances of *D. gallinae* assessed through airborne DNA were positively correlated with the relative abundances of the three predator taxa identified as predators during experimental tests (*Cheyletus* spp., $\rho = 0.31$, *Macrocheles* spp., $\rho = 0.31$, *A. casalis*, $\rho = 0.41$). None of the other potential predators (other mites, spiders, Pseudoscorpionida, bugs) correlated with *D. gallinae* in airborne DNA. However, we also found significant positive correlation between *D. gallinae* and Astigmatid mites ($\rho = 0.62$, $p = .0001$). Astigmatid mites are strictly detritivorous and incapable of predation. Looking at the air and manure data, the three pest predators were very common locally (manure sample) and almost ubiquitous at the barn level (Table 2).

3.3 | Does this predation differ from one practice to another?

The fit of our hierarchical model was adequate, as assessed by a Bayesian posterior predictive check (Appendix S3). As expected from

the exploration of count distributions, these checks did not reveal any major impact of count overdispersion. Farm type had a strong effect on mite counts in manure, but with considerable variation in sign and magnitude. Most morphospecies were more numerous in organic and to a lesser extent in free-range than in conventional farms, with the exception of *Cheyletus* spp. (CHE), Uropodina (UR1 and UR2) and *D. gallinae* (Figure 3). Counts of *Cheyletus* spp. (CHE) and of the Uropodine morphospecies (UR1 and UR2) were higher in conventional farms than in organic farms. Despite high variation, counts of *D. gallinae* (DG) in manure samples were higher in free-range and lower in organic farms than in conventional farms (Figure 3).

Conforming to our experimental conclusions, our model revealed covariations between *D. gallinae* and the three mites identified as predators in in vitro predation tests, but not with any other morphospecies. Covariations were constantly positive between *D. gallinae* and *A. casalis*, but alternated between positive and negative for the two other predators (Figure 4). Irrespective of farm type, counts of *D. gallinae* were positively correlated with counts of *A. casalis* (ME2) ($p(\beta_{ME2} > 0) = 0.914$) and negatively correlated with counts of *Cheyletus* sp. (CHE) ($p(\beta_{CHE} > 0) = 0.145$) (Figure 4, "all types"). Within each of the three farm types, counts of *D. gallinae* were positively correlated with counts of *A. casalis* (ME2) ($p(\beta_{ME2} > 0) = 1$), but their correlation with counts of *Cheyletus* spp. (CHE) and of *Macrocheles* spp. (ME7) depended on farm type ($p(\beta_{CHE} > 0) = 1$ in conventional farms, and $p(\beta_{CHE} > 0) = 0$ elsewhere; $p(\beta_{ME7} > 0) = 0$ in free-range

**FIGURE 3** Posterior densities of the morphospecies abundance (log) contrast between types of farm management with the conventional type as a reference

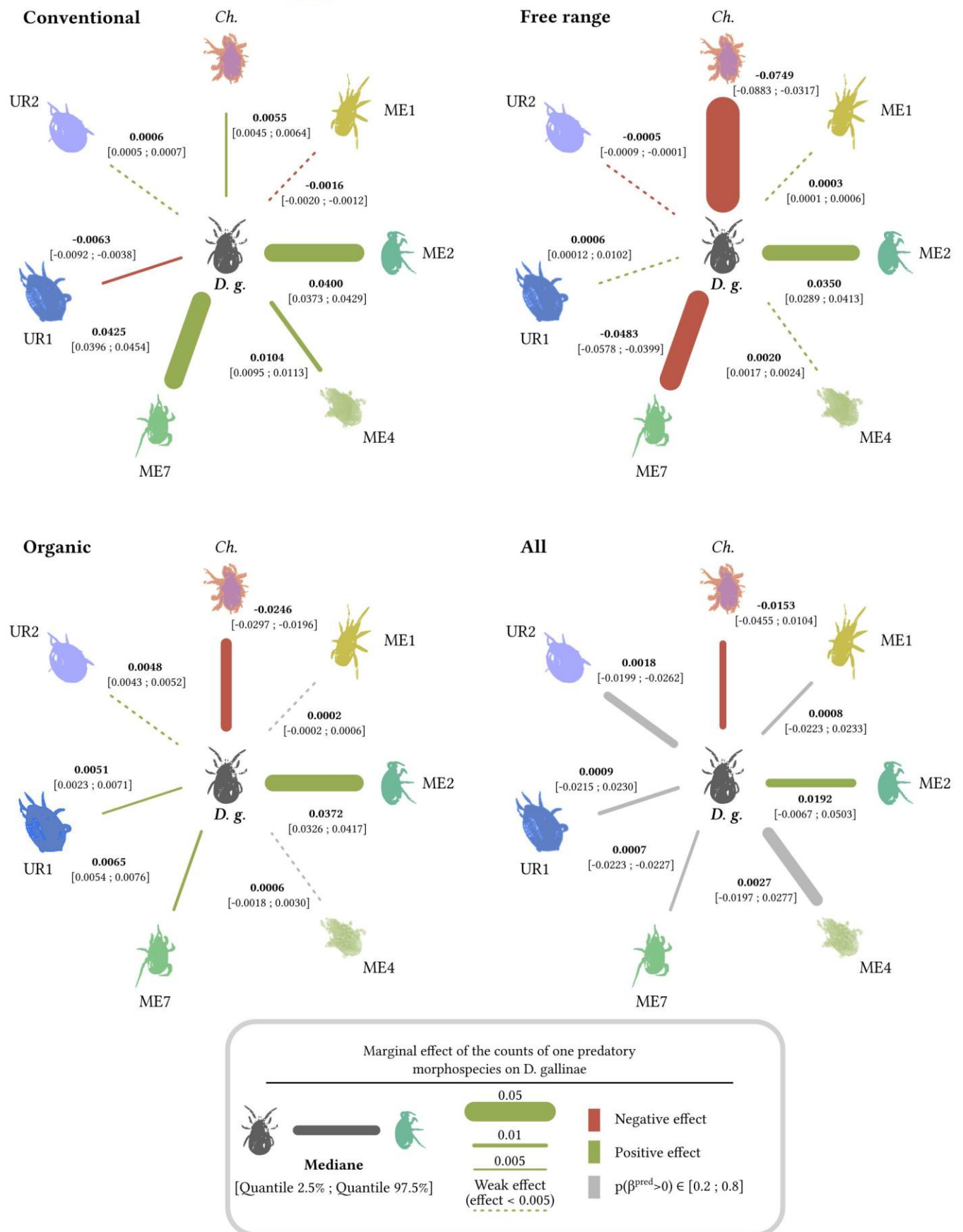


FIGURE 4 Prey-predator covariations as inferred from the Bayesian hierarchical model

farms, $p(\beta_{ME7} > 0) = 1$ elsewhere). Weak or null effects were associated with all other combinations of type of farm management and morphospecies.

The other covariates also had a strong effect (Appendix S3): Flock age was associated with higher counts of all morphospecies but ME2 and ME4 ($p(\beta_{flock} > 0) = 0$ for ME4, 0.48 for ME2 and 1 for all others). The gamasine mesostigmatic mites (ME1, ME2, ME4, ME7) were less numerous in the Ain than in the Rhône ($p(\beta_{Ain} > 0) = 0$), while *Cheyletus* spp. and uropodine mites exhibited the inverse pattern ($p(\beta_{Ain} > 0) = 1$). Counts peaked in spring and summer, followed with a decrease in autumn in *P. parascolyti* (ME4), *Macrocheles* spp. (ME7), Uropodina (UR2) and *D. gallinae* (Appendix S3). *Cheyletus* spp. (CHE) exhibited an inverse dynamic, with a peak in autumn, followed by a sharp decline in winter-spring, then a slight increase in summer. Seasonal variations were lower in ME1, ME2 and UR1. All $p(\beta_{season} > 0)$ were either <0.01 or >0.99 (Appendix S3).

4 | DISCUSSION

We provided unique empirical evidence for trophic interactions in a mite assemblage compatible with a local regulating effect on pest populations within livestock farms. The combination of in vitro predation tests and correlative analyses supported an assemblage-level effect of predation on the targeted hen parasite, *D. gallinae*, by three mite predators. Farming practices did not, however, seem to affect consistently this pattern. Even if our results do not demonstrate the existence of a biological control service in livestock farms, they should call attention toward the possible emergence of ignored spontaneous biological control services in commercial livestock farms.

In our study system, the pest control service results from predation among organisms that are difficult to study because of their tiny size and their association with vertebrates. Studying a predation process in this context was challenging because no in situ observations or experiments can be done in the same way as for phytophagous insects: as a hematophagous species, *D. gallinae* is too fragile and too mobile to be subjected to controlled designs in the field. Predator exclusion is also impracticable because predators and pests are similar in size. Furthermore, signs of damage induced by the pest are undetectable since no visible skin lesions are induced by *D. gallinae* on hens. In the present study, we bypassed these difficulties by combining correlative approaches and an in vitro experiment, complemented by inventories based on different techniques. Even if our study did not produce clear-cut answers to our initial questions due to the impossibility of any direct observation of the process of interest, we have truly explored prey-predator interactions in the poultry mite world for the first time.

4.1 | Possible explanations for the overrepresentation of positive prey-predator covariations

Two groups of explanations can be considered, one linked to the dynamics and demography of the species under consideration, the

other to a methodological bias. First, the predation observed in vitro did not translate in the field through simple negative prey-predator regulating dynamics. Instead, most correlations between the prey and its predators were positive, implying either that the prey population is limited more by the resource (bottom-up) than by predation (top-down), or that predation has a positive influence on the prey population. The limitation of the prey population by the resource largely dominates the limitation by predation at different trophic levels in some aquatic systems (e.g., Osenberg & Mittelbach, 1996). If the same is true for our system, positive correlations between predator and prey are therefore compatible with the actual occurrence of predation under the nonlimiting resource conditions that prevail in farms. However, this imbalance between bottom-up and top-down limitation is not so obvious in terrestrial systems (Krebs, Boonstra, Boutin, & Sinclair, 2001). The predation of *Cheyletus* spp. by *A. casalis* observed in the laboratory (Zriki et al., 2020) may induce a cascade effect in henhouses, which could result in a positive effect of *A. casalis* on *D. gallinae* (Abrams, 1992). Furthermore, the antibodies that are produced by hens in response to native *D. gallinae* antigens significantly reduce the mite population growth (Bartley et al., 2017). Thus, *D. gallinae* likely has a direct negative effect on its own growth rate per individual, and predation at a key point in this dynamics could increase equilibrium pest density (Abrams, 1992) by inhibiting antibody production.

Positive prey-predator covariations can alternatively be explained by the omnipresence of predators in our sample. The expected negative covariation between a regulating predator and its prey should result from a limitation in the temporal dynamic of the prey by the predation process (Osenberg & Mittelbach, 1996). In our correlative field study, we measure prey-predator covariations on the basis of local prey and predator populations sampled in space and time, but without time series (different sampling points in each campaign). Therefore, the expected negative covariation between effective predator and prey can only be measured if both predator-exposed and unexposed populations of *D. gallinae* are represented in the dataset. The frequency of predators in field samples determines the possibility of detecting a negative effect of the predation process: consistent with Burt, Chow, and Babbitt (1991), strictly positive prey-predator covariations are expected in datasets where the predator is omnipresent (as is the case here for *A. casalis*). Opposite to our results, but consistent with this, a significant negative covariation was reported between *Androlaelaps casalis* and *Dermanyssus gallinae* in starling nestboxes (Lesna et al., 2009). Since *A. casalis* is an active hunter, moving individually for several meters in search of prey (Barker, 1968), the fragmented environment provided by nestbox-based colonies may impair its dispersal. As a result, the layout of bird colonies in nesting boxes may trigger heterogeneity in predation pressure on *D. gallinae*, while the layout of poultry houses allows for homogeneous predation pressure. This contrast explains well why we found an opposite correlation between the same two species in our more connected study system. Hence, the positive prey-predator covariations that we observed do not confirm the possibility of a regulating service in henhouses, although

our data did not allow to demonstrate its existence or absence. A similar conclusion was drawn from spider-insect positive covariations (Cotes et al. 2018) and exclusion experiments showed that ignored biological control is exerted by naturally occurring enemies in crops (e.g., Dainese, Schneider, Krauss, & Steffan-Dewenter, 2017; Librán-Embid et al., 2017; Rusch, Bommarco, Jonsson, Smith, & Ekbom, 2013). The impact of predation may alternatively emerge as a result of assemblages dynamics, although the ubiquity of predators impairs its species-level identification. Since exclusion of mites in poultry houses is not feasible, an efficient, yet costly improvement would aim to compare the evolution of *D. gallinae* populations in the presence or absence of predators in mite-proof isolators equipped to house hens for several generations of mites.

4.2 | No consistent signal about the positive effect of organic practices on the predation process

Contrary to our predictions, organic practices did not seem to foster mite predation on *D. gallinae* despite the absence of synthetic insecticide and the observed higher mite diversity. The effects of farm type on pest-predator interactions were unclear overall, although substantial negative covariations were limited to organic, as expected, and free-range farms. These obscure patterns are consistent with previous correlative studies at similar scales on crop production systems (e.g., Bengtsson et al., 2005; Paoletti et al., 1995; Winqvist et al., 2011). The idiosyncratic directions of prey-predator covariations could be a consequence of food web complexity and species' independent variations (Karp et al., 2018; Librán-Embid et al., 2017; Paine, Tegner, & Johnson, 1998). The rare cases of negative covariation could result from a less homogeneous distribution of the predators concerned, which would simply make it possible to detect differences in the demographic development of *D. gallinae* between points with a predator and points without any predator. More specifically the organic farms may contain points with and without *Cheyletus* spp. with effectively dampened *D. gallinae* dynamics in the second group. This is consistent with the lower number of *Cheyletus* spp. counted in these farms compared to other farm types. Free-range farms may contain more points where *Macrocheles* spp. is absent than other farm types, but this species did not seem to be less abundant in free-range than in conventional farms. The negative covariation that we observed in free-range farms between *D. gallinae* and *Macrocheles* spp. could also result from *M. muscaedomesticae* feeding disproportionately more on *D. gallinae* when its preferred preys, nematodes, are less abundant (prey switching, Murdoch, 1969). Synthetic deworming treatments are almost exclusively and systematically applied in free-range farms and the only deworming molecule applied in the present free-range farms is harmless to arthropods (benzimidazoles; Lumaret & Errouissi, 2002). Prey switching from nematodes to mites may thus be an unintended beneficial consequence of a farming practice (deworming in free-range) which indirectly contributes to regulate *D. gallinae*. Similarly, if the methodological bias related to the ubiquity of predators is not the reason

for the lack of detected effects, a disruption of the natural pest control service due to the use of insecticides (Mohammed et al., 2017; Tscharnkte et al., 2016) in conventional farms could partly explain the lack of negative prey-predator covariation. Anti-fly neurotoxic insecticides are used in conventional farms and neurotoxic insecticides may reduce the ability of arachnid predators to catch preys (Řezáč, Řezáčová, & Heneberg, 2019). Neurotoxic anti-fly insecticides are, however, also used in free-range farms. In conclusion, the farming practices tested here do not have a strong enough effect to unambiguously affect prey-predator interactions at the poultry house level, or interactions with various factors not studied explain the contradictions found.

5 | CONCLUSION

Our study provided evidence for predation by mites on a major parasite in poultry farms, but this process did not unambiguously translate into an assemblage-level signal, which prevents us from inferring a major pest regulation service. This conclusion comes with caution however, since multiple predation-compatible processes may explain many of the covariations that we observed at the assemblage-scale. In order to clearly detect the footprint of a service in our system where predators are pervasive, we must go through more experimental approaches that would bypass limitations of correlative studies. Terrestrial mesocosms such as those of soil arthropods (e.g., Cortet et al., 2006; D'Annibale et al., 2015) would be good tools to assess the suppressive effect of different predators on *D. gallinae*. On the whole, a good knowledge of the functional ecology of the assemblages surrounding the farming system is crucial to stack promising and productive ecosystem services into an operational, profitable and sustainable whole ("ecostacking" sensu Hokkanen, 2017). Our results demonstrate the necessity of advancing the understanding of trophic interactions among small organisms to achieve coherent ecological intensification of agriculture and reduce massive manure-driven environmental pollution.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to warmly thank Audrey Poncet, Stéphane Gastinel, Pauline Castillo, Pauline Gindre and Patrick Chabrol for valuable information and advices, Dr Maxime Ferrero (Bioline In vivo) for kindly providing mass-reared predatory mites and astigmatid mites, Marine El Adouzi, Tristan Gambin, Guénolé Le Peutrec, Sandra Enaud, Etienne Villeneuve de Janti and Dylan Tallon for expert laboratory technical assistance, and all the poultry farmers. All the experiments were performed at the "Plateforme d'Analyses Chimiques en Ecologie" (PACE) or at the "Terrain d'expériences" (TE), both technical facilities of the LabEx CeMEB (Montpellier). The FEADER (Fonds Européen Agricole pour le Développement Rural) European funds, the French Rhone-Alpes-Auvergne Region [grant number RRHA 160116CR0820011], as well as the CNPO (Comité National pour la Promotion de l'OEuf, France) supported this work. Ghais Zriki was supported via a PhD fellowship from the CeMEB LabEx and the French Occitanie Region.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTION

Lise Roy: Conceptualization (lead); Data curation (equal); Formal analysis (equal); Funding acquisition (lead); Methodology (equal); Project administration (equal); Supervision (lead); Visualization (equal); Writing-original draft (lead); Writing-review & editing (equal). **Adrien Taudière:** Data curation (equal); Formal analysis (equal); Methodology (equal); Software (equal); Validation (equal); Visualization (equal); Writing-review & editing (equal). **Julien Papaix:** Formal analysis (equal); Validation (equal); Writing-review & editing (equal). **Rumsais Blatrix:** Formal analysis (equal); Investigation (equal); Writing-review & editing (equal). **Geoffrey Chiron:** Conceptualization (equal); Funding acquisition (lead); Project administration (equal); Writing-review & editing (equal). **Ghais Zriki:** Investigation (equal); Writing-review & editing (equal). **Olivier Bonato:** Conceptualization (equal); Writing-review & editing (equal). **Jean-Yves Barnagaud:** Formal analysis (equal); Investigation (equal); Software (equal); Validation (equal); Writing-original draft (lead); Writing-review & editing (equal).

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Data on airborne DNA sequences (ILLUMINA) have been deposited on Dryad (<https://doi.org/10.5061/dryad.nzs7h44pf>). This dataset is mentioned in Sections 2.1.3 and 2.3 of the Materials and Methods section and has been used in the Results section to answer the question "Can predation occur in real life?". Mite morphospecies count data from manure per sample with farm, management type, sampling season, and flock age information have been deposited on Dryad (doi: <https://doi.org/10.5061/dryad.ghx3ffbzk>). This dataset is mentioned in Sections 2.1.3, 2.3 and 2.4 of the Materials and Methods section and was used in the Results section to answer the question "Does this predation differ from one practice to another?" In order to refine the taxonomic assignment of air DNA data, this dataset has also been cross-referenced with the previous dataset and with Sanger sequencing data obtained on the same mites in the framework (see end of Section 2.3).

ORCID

Lise Roy  <https://orcid.org/0000-0001-8833-1717>

Adrien Taudière  <https://orcid.org/0000-0003-1088-1182>

Rumsais Blatrix  <https://orcid.org/0000-0003-1662-7791>

Ghais Zriki  <https://orcid.org/0000-0002-1861-2705>

REFERENCES

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 3(2), 438–443.
- Abrams, P. A. (1992). Why don't predators have positive effects on prey populations? *Evolutionary Ecology*, 6, 449–457. <https://doi.org/10.1007/BF02270691>
- Barker, P. S. (1968). Bionomics of *Androlaelaps casalis* (Berlese) (Acarina: Laelapidae) a predator of mite pests of stored cereals. *Canadian Journal of Zoology*, 46, 1099–1102. <https://doi.org/10.1139/z68-157>
- Bartley, K., Turnbull, F., Wright, H. W., Huntley, J. F., Palarea-Albaladejo, J., Nath, M., & Nisbet, A. J. (2017). Field evaluation of poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) native and recombinant prototype vaccines. *Veterinary Parasitology*, 244, 25–34. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.06.020>
- Bengtsson, J., Ahnström, J., & Weibull, A.-C. (2005). The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: A meta-analysis: Organic agriculture, biodiversity and abundance. *Journal of Applied Ecology*, 42, 261–269. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2005.01005.x>
- Brady, J. (1970a). Litter mites and their effects on poultry. *World's Poultry Science Journal*, 26, 658–668. <https://doi.org/10.1079/WPS19700022>
- Brady, J. (1970b). The mites of poultry litter: Observations on the bionomics of common species, with a species list for England and Wales. *Journal of Applied Ecology*, 7, 331. <https://doi.org/10.2307/2401384>
- Brauneis, M. D., Zoller, H., Williams, H., Zschiesche, E., & Heckerroth, A. R. (2017). The acaricidal speed of kill of orally administered fluralaner against poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*) on laying hens and its impact on mite reproduction. *Parasites Vectors*, 10, 594. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2534-5>
- Burt, E. H., Chow, W., & Babbitt, G. A. (1991). Occurrence and demography of mites of tree swallow, house wren, and eastern bluebird boxes. In J. E. Loye, & M. Zuk (Eds.), *Bird-parasite interactions: Ecology, evolution, and behaviour* (pp. 104–122). Oxford, UK: Oxford University Press.
- Caballero-López, B., Bommarco, R., Blanco-Moreno, J. M., Sans, F. X., Pujade-Villar, J., Rundlöf, M., & Smith, H. G. (2012). Aphids and their natural enemies are differently affected by habitat features at local and landscape scales. *Biological Control*, 63, 222–229. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.03.012>
- Chauve, C. (1998). The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778): Current situation and future prospects for control. *Veterinary Parasitology*, 79, 239–245. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00167-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00167-8)
- Colfer, R. G., & Rosenheim, J. A. (2001). Predation on immature parasitoids and its impact on aphid suppression. *Oecologia*, 126, 292–304. <https://doi.org/10.1007/s004420000510>
- Cortet, J., Joffe, R., Elmholt, S., Coeurdassier, M., Scheifler, R., & Krogh, P. H. (2006). Interspecific relationships among soil invertebrates influence pollutant effects of phenanthrene. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, 120. <https://doi.org/10.1897/05-173R.1>
- Cotes, B., González, M., Benítez, E., De Mas, E., Clemente-Orta, G., Campos, M., & Rodríguez, E. (2018). Spider Communities and Biological Control in Native Habitats Surrounding Greenhouses. *Insects*, 9, 33. <https://doi.org/10.3390/insects9010033>
- Dainese, M., Martin, E. A., Aizen, M. A., Albrecht, M., Bartomeus, I., Bommarco, R., ... Steffan-Dewenter, I. (2019). A global synthesis reveals biodiversity-mediated benefits for crop production. *Science Advances*, 5, eaax0121. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax0121>
- Dainese, M., Schneider, G., Krauss, J., & Steffan-Dewenter, I. (2017). Complementarity among natural enemies enhances pest suppression. *Scientific Reports*, 7, 8172. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08316-z>
- D'Annibale, A., Larsen, T., Sechi, V., Cortet, J., Strandberg, B., Vincze, É., ... Krogh, P. H. (2015). Influence of elevated CO₂ and GM barley on a soil mesofauna community in a mesocosm test system. *Soil Biology and Biochemistry*, 84, 127–136. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.02.009>
- Destoumieux-Garzon, D., Mavingui, P., Boetsch, G., Boissier, J., Darriet, F., Duboz, P., ... Voituron, Y. (2018). The one health concept: 10 years old and a long road ahead. *Frontiers in Veterinary Science*, 5, 14. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00014>
- El Adouzi, M., Bonato, O., ... Roy, L. (2017). Detecting pyrethroid resistance in predatory mites inhabiting soil and litter: An in vitro test. *Pest Management Science*, 73(6), 1258–1266. <https://doi.org/10.1017/S0031182019001379>

- Flohre, A., Fischer, C., Aavik, T., Bengtsson, J., Berendse, F., Bommarco, R., ... Tschantke, T. (2011). Agricultural intensification and biodiversity partitioning in European landscapes comparing plants, carabids, and birds. *Ecological Applications*, 21, 1772–1781. <https://doi.org/10.1890/10-0645.1>
- Guardiola, M., Uriz, M. J., Taberlet, P., Coissac, E., Wangenstein, O. S., & Turon, X. (2015). Deep-sea, deep-sequencing: metabarcoding extracellular DNA from sediments of marine canyons. *PLoS one*, 10, e0139633. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139633>
- Hedde, M., Mazzia, C., Decaëns, T., Nahmani, J., Pey, B., Thénard, J., & Capowiez, Y. (2015). Orchard management influences both functional and taxonomic ground beetle (Coleoptera, Carabidae) diversity in South-East France. *Applied Soil Ecology*, 88, 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.11.014>
- Hinton, J. L., & Moon, R. D. (2003). Arthropod populations in high-rise, caged-layer houses after three manure cleanout treatments. *Journal of Economic Entomology*, 96, 1352–1361. <https://doi.org/10.1093/jee/96.4.1352>
- Hokkanen, H. M. (2017). Ecostacking: Maximising the benefits of ecosystem services. *Arthropod-Plant Interactions*, 11, 741–742. <https://doi.org/10.1007/s11829-017-9575-8>
- Horn, T. B., Granich, J., Horn Körbes, J., Liberato Da Silva, G., & Ferla, N. J. (2018). Mite fauna (Acari) associated with the poultry industry in different laying hen management systems in Southern Brazil: A species key. *Acarologia*, 58(1), 140–158. <https://doi.org/10.24349/ACAROLOGIA/20184233>
- Horn, T. B., Körbes, J. H., Granich, J., Senter, M., & Ferla, N. J. (2016). Influence of laying hen systems on the mite fauna (Acari) community of commercial poultry farms in southern Brazil. *Parasitology Research*, 115, 355–366. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4756-9>
- Janssen, A., Montserrat, M., HilleRisLambers, R., de Roos, A. M., Pallini, A., & Sabelis, M. W. (2006). Intraguild predation usually does not disrupt biological control. In J. Brodeur, & G. Boivin (Eds.), *Trophic and guild in biological interactions control, progress in biological control* (pp. 21–44). Dordrecht, the Netherlands: Springer.
- Janssen, A., van Gool, E., Lingeman, R., Jacas, J., & van de Klashorst, G. (1997). Metapopulation dynamics of a persisting predator–prey system in the laboratory: Time series analysis. *Experimental and Applied Acarology*, 21, 415–430. <https://doi.org/10.1023/A:1018479828913>
- Kaczala, F., & Blum, S. E. (2016). The occurrence of veterinary pharmaceuticals in the environment: A review. *Current Analytical Chemistry*, 12, 169–182. <https://doi.org/10.2174/1573411012666151009193108>
- Karp, D. S., Chaplin-Kramer, R., Meehan, T. D., Martin, E. A., DeClerck, F., Grab, H., ... Zou, Y. (2018). Crop pests and predators exhibit inconsistent responses to surrounding landscape composition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115, E7863–E7870. <https://doi.org/10.1073/pnas.1800042115>
- Knapp, M., van Houten, Y., van Baal, E., & Groot, T. (2018). Use of predatory mites in commercial biocontrol: Current status and future prospects. *Acarologia*, 58, 72–82. <https://doi.org/10.24349/ACAROLOGIA/20184275>
- Knoll, V., Ellenbroek, T., Romeis, J., & Collatz, J. (2017). Seasonal and regional presence of hymenopteran parasitoids of *Drosophila* in Switzerland and their ability to parasitize the invasive *Drosophila suzukii*. *Scientific Reports*, 7, 40697. <https://doi.org/10.1038/srep40697>
- Koehler, H. H. (1999). Predatory mites (Gamasina, Mesostigmata). In M. G. Paoletti (Ed.), *Invertebrate biodiversity as bioindicators of sustainable landscapes* (pp. 395–410). Amsterdam, the Netherlands: Elsevier.
- Krebs, C. J., Boonstra, R., Boutin, S., & Sinclair, A. R. E. (2001). What drives the 10-year cycle of snowshoe hares? *BioScience*, 51, 25. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2001\)051\[0025:WDTYCO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0025:WDTYCO]2.0.CO;2)
- Kremen, C., & Miles, A. (2012). Ecosystem services in biologically diversified versus conventional farming systems: Benefits, externalities, and trade-offs. *Ecology and Society*, 17, art40. <https://doi.org/10.5751/ES-05035-170440>
- Lerner, H., & Berg, C. (2017). A comparison of three holistic approaches to health: one health, ecohealth, and planetary health. *Frontiers in Veterinary Science*, 4, 163. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00163>
- Leroux, S. J., & Loreau, M. (2015). Theoretical perspectives on bottom-up and top-down interactions across ecosystems. In T. C. Hanley, & K. J. La Pierre (Eds.), *Trophic ecology* (pp. 3–28). Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Lesna, I., Wolfs, P., Faraji, F., Roy, L., Komdeur, J., & Sabelis, M. W. (2009). Candidate predators for biological control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Experimental and Applied Acarology*, 48, 63–80. <https://doi.org/10.1007/s10493-009-9239-1>
- Librán-Embí, F., De Coster, G., & Metzger, J. P. (2017). Effects of bird and bat exclusion on coffee pest control at multiple spatial scales. *Landscape Ecology*, 32, 1907–1920. <https://doi.org/10.1007/s10980-017-0555-2>
- Lindquist, E. E. (1975). Associations between mites and other arthropods in forest floor habitats. *Canadian Entomologist*, 107, 425–437. <https://doi.org/10.4039/Ent107425-4>
- Losey, J. E., & Denno, R. F. (1998). Interspecific variation in the escape responses of aphids: Effect on risk of predation from foliar-foraging and ground-foraging predators. *Oecologia*, 115, 245–252. <https://doi.org/10.1007/s004420050513>
- Lumaret, J.-P., & Errouissi, F. (2002). Use of anthelmintics in herbivores and evaluation of risks for the non target fauna of pastures. *Veterinary Research*, 33, 547–562. <https://doi.org/10.1051/vetres:2002038>
- Maurer, V., Baumgärtner, J., Bieri, M., & Fölsch, D. W. (1993). The occurrence of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) in Swiss poultry houses. *Mitteilungen Der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft = Bulletin De La Société Entomologique Suisse*, 66, 87–97. <https://doi.org/10.5169/SEALS-402510>
- Micheli, F., Cottingham, K. L., Bascompte, J., Bjornstad, O. N., Eckert, G. L., Fischer, J. M., ... Rusak, J. A. (1999). The dual nature of community variability. *Oikos*, 85, 161. <https://doi.org/10.2307/3546802>
- Mohammed, A. A. A. H., Desneux, N., Fan, Y., Han, P., Ali, A., Song, D., & Gao, X.-W. (2017). Impact of imidacloprid and natural enemies on cereal aphids: Integration or ecosystem service disruption? *Entomologia*, 37, 47–61. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2017/0471>
- Motoyama, M., Nakagawa, S., Tanoue, R., Sato, Y., Nomiya, K., & Shinohara, R. (2011). Residues of pharmaceutical products in recycled organic manure produced from sewage sludge and solid waste from livestock and relationship to their fermentation level. *Chemosphere*, 84, 432–438. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.03.048>
- Mul, M. F., van Riel, J. W., Meerburg, B. G., Dicke, M., George, D. R., & Groot Koerkamp, P. W. G. (2015). Validation of an automated mite counter for *Dermanyssus gallinae* in experimental laying hen cages. *Experimental and Applied Acarology*, 66, 589–603. <https://doi.org/10.1007/s10493-015-9923-2>
- Mul, M. F., van Riel, J. W., Roy, L., Zoons, J., André, G., George, D. R., ... Groot Koerkamp, P. W. G. (2017). Development of a model forecasting *Dermanyssus gallinae*'s population dynamics for advancing Integrated Pest Management in laying hen facilities. *Veterinary Parasitology*, 245, 128–140. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.07.027>
- Muneret, L., Mitchell, M., Seufert, V., Aviron, S., Djoudi, E. A., Pétilon, J., ... Rusch, A. (2018). Evidence that organic farming promotes pest control. *Nature Sustainability*, 1, 361–368. <https://doi.org/10.1038/s41893-018-0102-4>
- Murdoch, W. W. (1969). Switching in General Predators: Experiments on Predator Specificity and Stability of Prey Populations. *Ecological Monographs*, 39, 335–354. <https://doi.org/10.2307/1942352>
- Osenberg, C. W., & Mittelbach, G. G. (1996). The relative importance of resource limitation and predator limitation in food chains. In G. A. Polis, & K. O. Winemiller (Eds.), *Food webs* (pp. 134–148). Boston, MA: Springer.

- Paine, R. T., Tegner, M. J., & Johnson, E. A. (1998). Compounded perturbations yield ecological surprises. *Ecosystems*, 1, 535–545. <https://doi.org/10.1007/s100219900049>
- Paoletti, M. G., Schweigl, U., & Favretto, M. R. (1995). Soil macroinvertebrates, heavy metals and organochlorines in low and high input apple orchards and a coppiced woodland. *Pedobiologia*, 39, 20–33.
- Perez-Alvarez, R., Nault, B. A., & Poveda, K. (2019). Effectiveness of augmentative biological control depends on landscape context. *Scientific Reports*, 9, 8664. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45041-1>
- Řezáč, M., Řezáčová, V., & Heneberg, P. (2019). Contact application of neonicotinoids suppresses the predation rate in different densities of prey and induces paralysis of common farmland spiders. *Scientific Reports*, 9, 5724. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42258-y>
- Ripple, W. J., Estes, J. A., Schmitz, O. J., Constant, V., Kaylor, M. J., Lenz, A., ... Wolf, C. (2016). What is a trophic cascade? *Trends in Ecology & Evolution*, 31, 842–849. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.08.010>
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., & Mahé, F. (2016). VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>
- Roy, L., El Adouzi, M., Moraza, M. L., Chiron, G., Villeneuve de Janti, E., Le Peutrec, G., & Bonato, O. (2017). Arthropod communities of laying hen houses: An integrative pilot study toward conservation biocontrol of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Biological Control*, 114, 176–194. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.08.006>
- Rusch, A., Bommarco, R., Jonsson, M., Smith, H. G., & Ekbom, B. (2013). Flow and stability of natural pest control services depend on complexity and crop rotation at the landscape scale. *Journal of Applied Ecology*, 50, 345–354. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12055>
- Solomon, M. E. (1969). Experiments on predator-prey interactions of storage mites. *Acarologia*, 11, 484–503.
- Sparagano, O. A. E., George, D. R., Harrington, D. W. J., & Giangaspero, A. (2014). Significance and control of the poultry Red Mite, *Dermanyssus gallinae*. *Annual Review of Entomology*, 59, 447–466. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162101>
- Tscharntke, T., Karp, D. S., Chaplin-Kramer, R., Batáry, P., DeClerck, F., Gratton, C., ... Zhang, W. (2016). When natural habitat fails to enhance biological pest control – Five hypotheses. *Biological Conservation*, 204, 449–458. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.10.001>
- Valiente Moro, C., Chauve, C., & Zenner, L. (2007). Experimental infection of *Salmonella enteritidis* by the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Veterinary Parasitology*, 146, 329–336. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.02.024>
- Wang, Q., Garrity, G. M., Tiedje, J. M., & Cole, J. R. (2007). Naïve Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 5261–5267. <https://doi.org/10.1128/AEM.00062-07>
- Weibull, A.-C., & Östman, Ö. (2003). Species composition in agroecosystems: The effect of landscape, habitat, and farm management. *Basic and Applied Ecology*, 4, 349–361. <https://doi.org/10.1078/1439-1791-00173>
- Winqvist, C., Bengtsson, J., Aavik, T., Berendse, F., Clement, L. W., Eggers, S., ... Bommarco, R. (2011). Mixed effects of organic farming and landscape complexity on farmland biodiversity and biological control potential across Europe: Organic farming and landscape affect bio control. *Journal of Applied Ecology*, 48, 570–579. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2010.01950.x>
- Zriki, G., Blatrix, R., & Roy, L. (2020). Predation interactions among henhouse-dwelling arthropods, with a focus on the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Pest Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.5920>

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section.

How to cite this article: Roy L, Taudière A, Papaix J, et al. Evaluating the link between predation and pest control services in the mite world. *Ecol Evol*. 2020;00:1–13. <https://doi.org/10.1002/ece3.6655>

Supplementary material S1. Information of henhouses and farming practices.

Henhouse ID	Type of farm management	Region	Open-air access available	Hen density at the start of flock (hens /m ²)	Regular deworming treatment (every 5-6 weeks)	Recorded deworming active substances	Recorded treatments during empty period				Recorded treatment during flock (sampling campaigns 1+2+3)							
							pyrethroid (approved)	disinfectant	flora	quicklime	pyrethroid (not approved)	organophosphate (approved)	cyromazin	grease in PRM hiding places	soap or soapy water	disinfectant	wasp (against flies)	Predatory mite against PRM
F1	organic	Ain	yes	5,1	yes	plant extracts ...		x						x	x			
F10	free-range	Ain	yes	9,0	yes	flubendazole		x				x						
F11	organic	Drôme (exten	yes	6,0	no	plant extracts ...		x							x	x		
F12	free-range	Ain	yes	7,5	no	-		x				x						
F13	conventional	Ain	no	8,4	no	-	x	x						x				
F14a	conventional	Ain	no	8,9	no	-	x	x	x		?	?						
F14b	conventional	Ain	no	8,6	no	-	x	x	x		?	?		x				
F15	free-range	Ain	yes	7,5	no	-	x				?							
F16	organic	Drôme (exten	yes	6,0	yes	plant extracts ...		x		x					x			
F2	conventional	Drôme (exten	no	7,3	yes	flubendazole	x	x	x							x		
F3a	free range	Drôme (exten	yes	9,7	yes	flubendazole						x	x					
F3b	free range	Drôme (exten	yes	9,7	yes	flubendazole						x	x					
F4	free range	Drôme (exten	yes	8,9	yes	flubendazole		x						x			x	
F5a	organic	Drôme (exten	yes	5,6	yes	plant extracts ...		?	x	x				x			x	
F5b	organic	Drôme (exten	yes	6,5	yes	plant extracts ...		?	x	x				x			x	
F6a	conventional	Ain	no	9,0	no	-	x	x						x				
F6b	conventional	Ain	no	9,2	no	-	x	x						x				
F7	free range	Drôme (exten	yes	9,3	no	-		x										
F8	organic	Drôme (exten	yes	4,5	yes	plant extracts ...		x	x									
F9	free range	Ain	yes	10,3	yes	flubendazole	x	x						x				x

"Ain" is a French department. The "Drôme (extend.)" area is located mainly in the Drôme department, with some extension in adjacent departments (one farm in the Gard, one in the Vaucluse)

Supplementary material S2.

Information on mite communities from airborne DNA

Bioinformatics pipeline

See page 3.

Sensitivity and specificity

To assess our Illumina sequencing data, we checked the sensitivity of the method for mite inventories by (1) checking whether the DNA sequences obtained from a subsample of manure-dwelling mites recorded during the study were present in the Illumina dataset, (2) estimating the discriminating power of the 18S fragment using the present pipeline by checking whether the assignment of the sequences to taxa corresponding to the different morphospecies was correct, (3) measuring correlation between air Illumina and manure visual records per henhouse. We also estimated the sensitivity of the detection of the different morphospecies in airborne DNA by (4) comparing molecular and visual occurrences in the different farms. Here are the obtained results:

- (1) For all mite morphospecies, including the seven predatory morphospecies and *D. gallinae* under test here, plus ME5 (excluded from the present tests as unfrequent) and Astigmatid mites (typically detritivorous and abundant mites), the corresponding Sanger-sequenced DNA fragments from Roy et al. (2017) were effectively present within the Illumina dataset.
- (2) The bioinformatics pipeline resulted in their assignment to distinct OTUs with consistent taxonomic assignment, except for ME1 and ME4. The discriminating power of the selected DNA fragment was satisfying as it allowed to distinguish all of the morphospecies except two (same sequences for ME1 and ME4). The latter two were both shown not to directly interact with *D. gallinae* (null effect size and absence of *in-vitro* predation), so this lack of specificity is considered devoid of any consequence here.
- (3) This was supported by the significant positive Spearman rho values obtained with molecular and visual counts of five mite morphospecies (*Cheyletus sp.*, ME2, ME7, UR1, *D. gallinae*) and several other arthropod species (below table). The absence of any

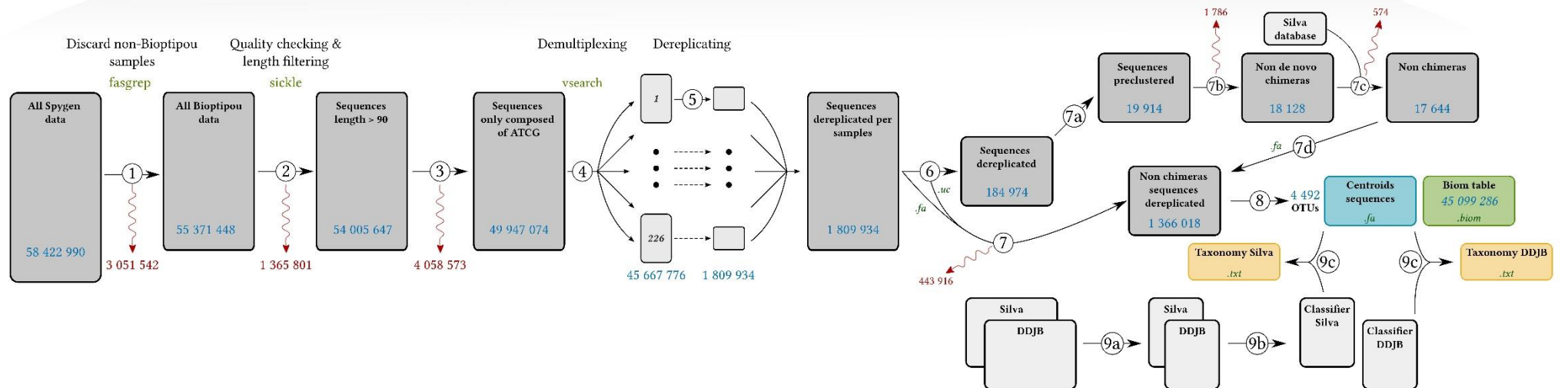
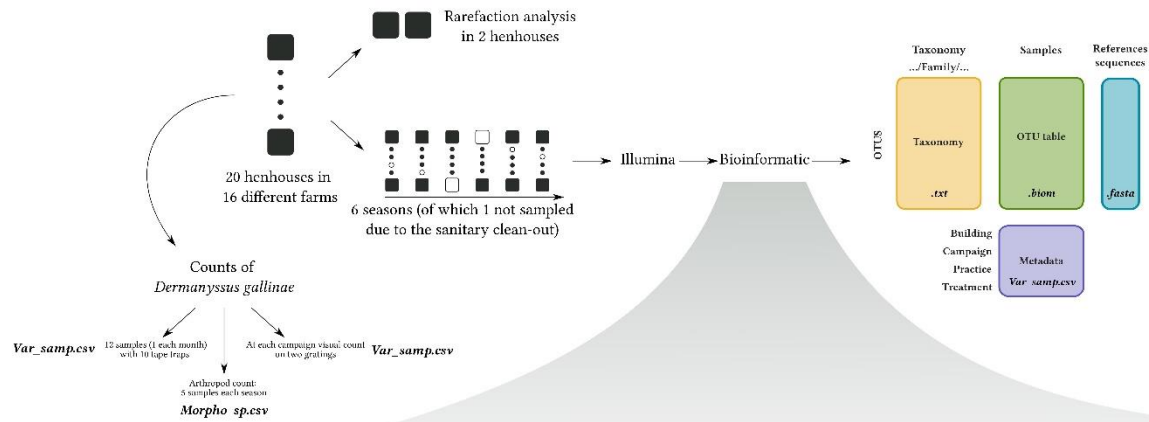
significant correlation with a few morphospecies may be explained by either too much rare occurrence and preferred habitat different from poultry manure (ME5, Oribatida) or discrepancies in terms of sequencing efficiency (UR1, UR2).

Table. Comparison between molecular and visual counts (from manure samples) of mite morphospecies. The first four columns depict the number of samples where each morphospecies was found (i) both molecularly and visually, (ii) neither molecularly nor visually, (iii) only molecularly and (iv) only visually. The *rho* column indicates the strength of the correlation of molecular abundance and visual abundance using the non-parametric Spearman rank test. P, associated p-value from the Spearman rank test.

	Double presence	Double absence	Molecular detection (air) only	Visual detection (manure) only	<i>rho</i>	p
Astigmata	67	0	0	1	0.329	0.00634
<i>Cheyletus</i> spp.	39	3	19	7	0.317	0.00847
<i>D. gallinae</i> (PRM)	67	0	1	0	0.575	0.00001
ME1 + ME4	66	0	0	2	-0.034	0.78048
ME2	30	9	9	20	0.384	0.00123
ME5	4	45	13	6	0.158	0.19714
ME7	18	10	1	39	0.291	0.01611
Oribatida	1	48	18	1	0.129	0.29433
UR1	16	10	1	41	0.495	0.00002
UR2	2	2	0	64	0.232	0.05735

(4) In terms of sensitivity of air DNA analyses, a satisfying detection power for *Cheyletus*, ME1+ME4, ME5, as well as most of other arthropod morphospecies was recorded, with the majority of visual and molecular records concordant in terms of presence/absence assessment. Some failures to molecularly detect ME2, ME7 and UR1 from airborne particles were recorded (20/59, 39/58 and 41/58 positive samples, resp.).

An overall satisfying sensitivity and specificity of the 18S sequencing from airborne DNA as well as a good concordance between the different record means (mite individuals from manure and DNA sequences from airborne particles) were observed.



Legends

Software or script sources

File extension format

Command

Option when different from default

Number of sequences/clusters conserved

Number of discarded sequences

① Filter non-Biopitipou samples

```
fasgrep                               fasgrep
-v --fastq -d "(SPY1603029|SPY1603035|
SPY1603036|SPY1603037|Cpcri|CPCR|Cext)"
```

② Check quality and filter sequences by length

```
sickle                               sickle se
-t sanger -q 33 -l 90
```

③ Discard sequences with other letter than ATCG

```
fasgrep                               fasgrep
-v -s "[bdefhijklmnopqrstuvwxyz]"
```

④ Demultiplex (one files per sample)

```
perl
-pc 'if(>/>)/sample="(.*?)"; $s="$1"; $s="$1\n"/> FILE.fasta
awk '/^>/ {name=$2} {print ">> name".fasta}'
```

⑤ Dereplication in each samples

```
awk
NR--1 {print ; next} {printf "%s\n" $1} END {printf "%s\n" FILE.fasta}
FILE_linear.fasta
vsearch --derep_fulllength
--fasta_width 0 --sizeout --strand plus
--minuniquesize 2
```

⑥ Dereplication in the entire dataset

```
vsearch --derep_fulllength
--fasta_width 0 --sizeout --strand plus
--minuniquesize 2
```

⑦ Chimera removal

```
(a) vsearch --cluster_size
--id 0.98 --strand plus --sizein --sizeout
(b) vsearch --uchime_denovo
--sizein --sizeout --fasta_width 0
(c) vsearch --uchime_ref
--db UNITE --sizein --sizeout --fasta_width 0
(d) perl script map.pl
```

From <https://github.com/torognes/vsearch/wiki/VSEARCH-pipeline>

⑧ Clustering and making OTU table

```
vsearch --cluster_size
--sizein --sizeout --fasta_width 0 --id 0.97 4 492
--strand plus --relabel OTU --centroids centroids.fasta
--biomout map.biom
```

⑧ Alternative clustering

```
vsearch --cluster_size
--iddef 0 4 142
--iddef 1 7 427
--iddef 2 4 492
--iddef 3 4 602
--iddef 4 7 427
vsearch --id 0.99 --cluster_size
- usearch 4 145
vsearch --id 0.97 --cluster_size
- usearch 4 240
vsearch --id 0.97 --cluster_size
- usearch --id 0.97 --cluster_size
4 492
```

⑨ Extract the barcoding region, train the classifier and classify the centroids sequences using Silva and DDJB database

```
(a) qiime2 feature-classifier extract-reads
--p-f-primer TTTGCTCTGTTAATTSCG
--p-r-primer CACAGACCTGTTATTGC
(b) qiime2 feature-classifier fit-classifier-naive-bayes
(c) qiime2 feature-classifier classify-sklearn
--p-n-jobs 1
--p-reads-per-batch 10000
```

⑨bis Alternative taxonomic assignment

```
qiime1 RDP assign_taxonomy.py
-c 0.80 -m rdp --rdp_max_memory 8000
```

Supplementary material S3. Detailed description of our Bayesian model, fit assessment and effect of remaining covariates from its outputs (manure data).

Model description

We developed a hierarchical Bayesian model to estimate covariations between the abundance of seven putative predators and the abundance of *D. gallinae* from manure records.

We first summed mite counts per morphospecies, henhouse (5 samples of 250 mL manure per henhouse), and sampling campaign (4), and considered it as a proxy of predator abundance N_{pred} per sample i , predator morphospecies s and season k . We further assumed that N_{pred} was an exact count since variations in detectability are not adequately estimated with overly dispersed Poisson data (Knape et al., 2018). Due to the low probability of detecting mites present in small numbers in coarse substrates, we used a method of extracting mites designed to optimize mite recovery from poultry manure (Roy et al., 2017) and considered that the proportions of mites correctly represented community composition. Hence, $N_{pred_{i,s,k}} \sim P(\lambda_{i,s,k}^{pred})$ where the intensity $\lambda_{i,s,k}^{pred}$ was a log-linear function of species-specific effects of farm type (conventional, free-range or organic), flock age, season and region, with a species-specific intercept α and linear coefficients β :

$$\log(\lambda_{i,s,k}^{pred}) = \alpha_s^{pred} + \beta_{s,farmtype(i)}^{(1)} + \beta_s^{(2)} * flockage_{i,k} + \beta_{s,k}^{(3)} + \beta_{s,region(i)}^{(4)}$$

We then modelled *D. gallinae* abundance, N_{prey} , in a sample i and a season k as a Poisson distribution with intensity $\lambda_{i,k}^{prey}$, a log-linear function of predator abundances, farm type, flock age and region:

$$N_{prey_{i,k}} \sim P(\lambda_{i,k}^{prey})$$

$$\log(\lambda_{i,k}^{prey}) = \alpha_{farmtype(i)}^{prey} + \sum_{s=1}^S (\gamma_{s,farmtype(i)}^{(1)} \times \lambda_{i,s,k}^{pred}) + \gamma^{(2)} \times flockage_{i,k} + \gamma_k^{(3)} + \gamma_{region(i)}^{(4)}$$

We assigned hierarchical hyperpriors to $\gamma^{(1)}$ with common means μ_s per predator species and a common variance σ , in order to estimate predator-specific effects on *D. gallinae* abundance irrespective of farm type:

$$\gamma_{s,farmtype(i)}^{(1)} \sim N(\mu_s, \sigma)$$

We then assigned a hierarchical hyperprior to μ_s with common mean $\bar{\mu}$ across all species and common variance σ' , in order to estimate the overall (mean) effect of predators on the prey:

$$\mu_s \sim N(\bar{\mu}, \sigma')$$

We fixed $\alpha_{\text{conventional farms}}^{\text{pred}}$, $\alpha_{\text{conventional farms}}^{\text{prey}}$, $\beta_{\text{autumn}}^{(3)}$, $\gamma_{\text{autumn}}^{(3)}$, $\beta_{\text{Ain}}^{(4)}$, $\gamma_{\text{Ain}}^{(4)}$ to 0 to ensure model identifiability. We specified non-informative normal priors to mean parameters ($N(0,1000)$) and uniform priors to the inverse of variance parameters ($U(0,100)$).

We estimated the model parameters with Monte-Carlo-Markov-Chain algorithms under Jags 3.1.0 (Plummer, 2003).

Assessment of the fit

We ran 3 chains of 40 000 iterations, discarding the 20 000 first as a burn-in and thinning by 20. Gelman's Rhat (Gelman, 2014) and visual chain exploration revealed adequate parameter convergence (Rhat < 1.1 for all parameters; see table S3-1). We evaluated fit by comparing observed Npred or Nprey to values replicated by the model through a Bayesian posterior predictive check (Fig. S3-1, S3-2).

In a Bayesian framework, parameters uncertainty is assessed with empirical credible intervals corresponding to empirical 2.5% and 97.5% quantiles computed on the MCMC samples. We used Bayesian p-values to assess the extent to which each parameter departed from 0 ; these p-values are continuous and computed as frequencies ($p = \text{Number of iterations} > 0 / \text{MCMC chain length}$, hence $p = 0.5$ implies that the parameter is centered on 0).

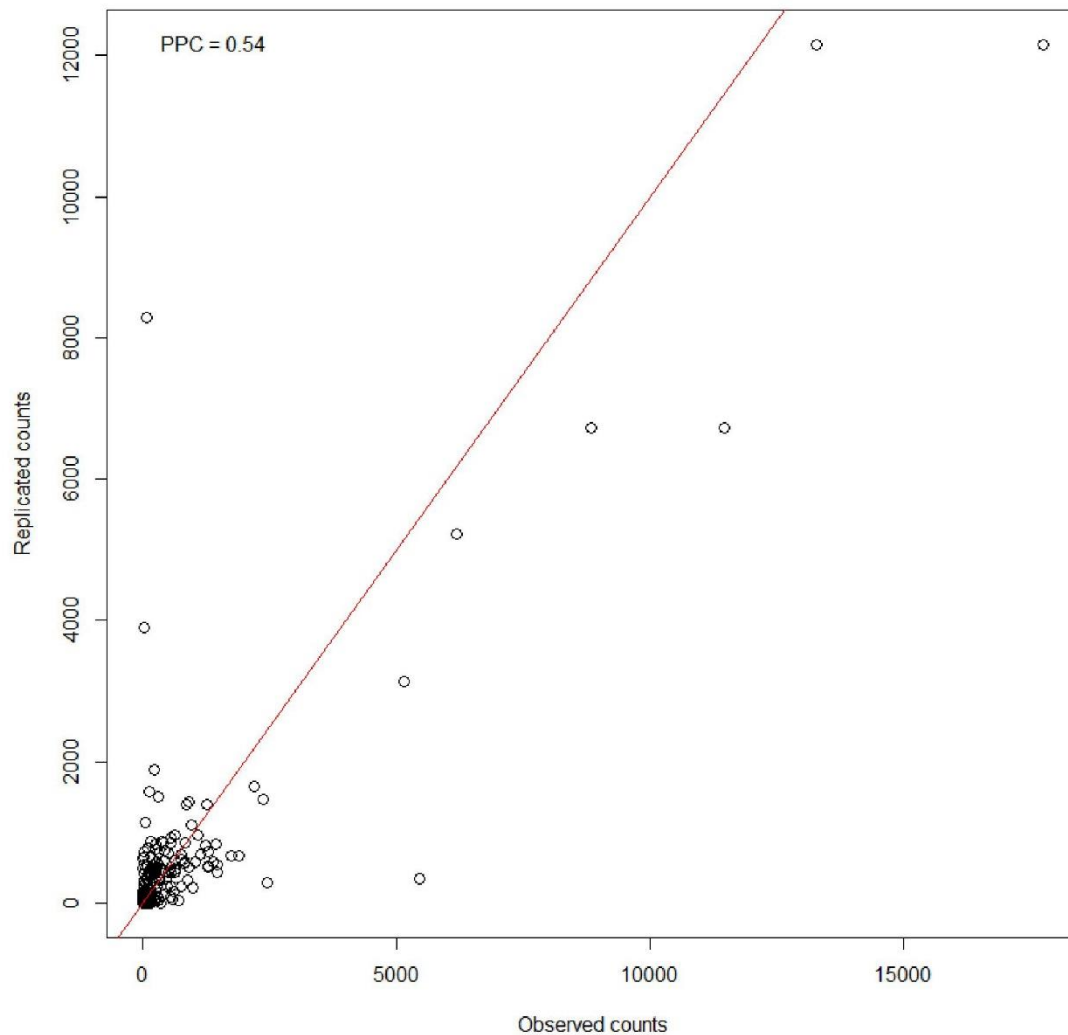


Figure S3-1. Comparison of observed counts and model-replicated counts. The red line indicates the 0,1 relationship. The posterior predictive check (PPC) quantifies the proportion of replicated counts above the observed counts; a PPC = 0.5 is expected for adequate fit.

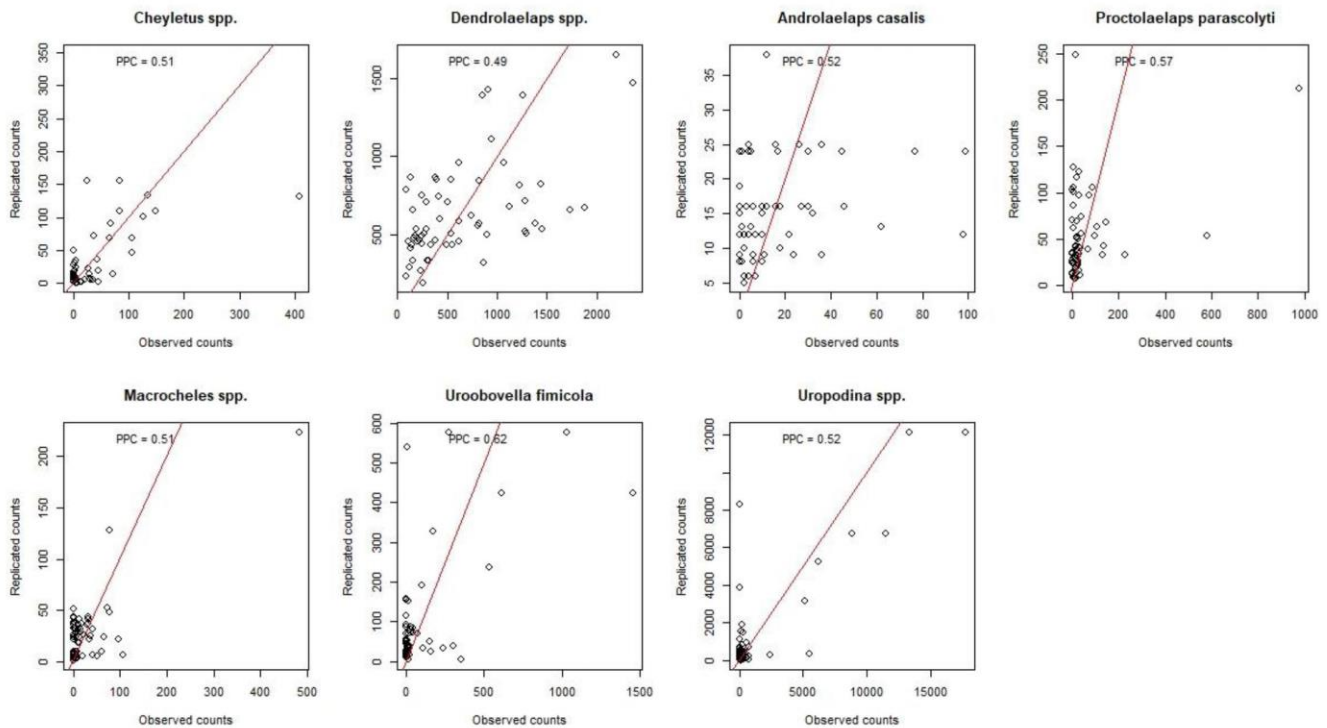


Figure S3-2. Comparison of observed counts and model-replicated counts, per morphospecies. The red line indicates the 0,1 relationship. The posterior predictive check (PPC) quantifies the proportion of replicated counts above the observed counts ; a PPC = 0.5 is expected for adequate fit.

Table S3-1. Rhat values.

Parameter	Morphospecies	Modality	Rhat
beta.pred	Cheyletus spp. (CHE)	conventional	0.99961471
beta.pred	Dendrolaelaps spp. (ME1)	conventional	1.00422149
beta.pred	Androlaelaps casalis (ME2)	conventional	1.00085459
beta.pred	Proctolaelaps parascolyti (ME4)	conventional	1.00417468
beta.pred	Macrocheles spp. (ME7)	conventional	1.00066885
beta.pred	Uroobovella fimicola (UR1)	conventional	1.00084038
beta.pred	Uropodina spp. (UR2)	conventional	0.99992939
beta.pred	Cheyletus spp. (CHE)	organic	1.00084247
beta.pred	Dendrolaelaps spp. (ME1)	organic	1.00099342
beta.pred	Androlaelaps casalis (ME2)	organic	1.00151887
beta.pred	Proctolaelaps parascolyti (ME4)	organic	1.00075446
beta.pred	Macrocheles spp. (ME7)	organic	1.00032727
beta.pred	Uroobovella fimicola (UR1)	organic	0.9998926
beta.pred	Uropodina spp. (UR2)	organic	0.99988926
beta.pred	Cheyletus spp. (CHE)	free-range	1.00036749
beta.pred	Dendrolaelaps spp. (ME1)	free-range	0.99991236
beta.pred	Androlaelaps casalis (ME2)	free-range	0.99951034

beta.pred	Proctolaelaps parascolyti (ME4)	free-range	0.99981805
beta.pred	Macrocheles spp. (ME7)	free-range	0.99951844
beta.pred	Uroobovella fimicola (UR1)	free-range	0.99953987
beta.pred	Uropodina spp. (UR2)	free-range	0.99965012
alphadg	Dermanyssus gallinae (DG)		fixed
alphadg	Dermanyssus gallinae (DG)		1.00191013
alphadg	Dermanyssus gallinae (DG)		0.99965291
beta.flock	Cheyletus spp. (CHE)		0.99959922
beta.flock	Dendrolaelaps spp. (ME1)		1.00056249
beta.flock	Androlaelaps casalis (ME2)		1.00039663
beta.flock	Proctolaelaps parascolyti (ME4)		0.99979044
beta.flock	Macrocheles spp. (ME7)		0.99959922
beta.flock	Uroobovella fimicola (UR1)		0.99975344
beta.flock	Uropodina spp. (UR2)		0.99957734
beta.flock.DG	Dermanyssus gallinae (DG)		0.99999338
alpha	Cheyletus spp. (CHE)	conventional	fixed
alpha	Cheyletus spp. (CHE)	organic	0.99986105
alpha	Cheyletus spp. (CHE)	free-range	0.9996903
alpha	Dendrolaelaps spp. (ME1)	conventional	fixed
alpha	Dendrolaelaps spp. (ME1)	organic	0.99961512
alpha	Dendrolaelaps spp. (ME1)	free-range	0.99979896
alpha	Androlaelaps casalis (ME2)	conventional	fixed
alpha	Androlaelaps casalis (ME2)	organic	1.00102493
alpha	Androlaelaps casalis (ME2)	free-range	1.00097036
alpha	Proctolaelaps parascolyti (ME4)	conventional	fixed
alpha	Proctolaelaps parascolyti (ME4)	organic	1.00015619
alpha	Proctolaelaps parascolyti (ME4)	free-range	0.99972301
alpha	Macrocheles spp. (ME7)	conventional	fixed
alpha	Macrocheles spp. (ME7)	organic	1.00000373
alpha	Macrocheles spp. (ME7)	free-range	0.99962006
alpha	Uroobovella fimicola (UR1)	conventional	fixed
alpha	Uroobovella fimicola (UR1)	organic	0.99960734
alpha	Uroobovella fimicola (UR1)	free-range	1.00069861
alpha	Uropodina spp. (UR2)	conventional	fixed
alpha	Uropodina spp. (UR2)	organic	1.00153488
alpha	Uropodina spp. (UR2)	free-range	1.0009188
alphadg	Dermanyssus gallinae (DG)		fixed
alphadg	Dermanyssus gallinae (DG)		1.00191013
alphadg	Dermanyssus gallinae (DG)		0.99965291
beta.seas	Cheyletus spp. (CHE)	AUTUMN	fixed
beta.seas	Dendrolaelaps spp. (ME1)	AUTUMN	fixed
beta.seas	Androlaelaps casalis (ME2)	AUTUMN	fixed
beta.seas	Proctolaelaps parascolyti (ME4)	AUTUMN	fixed
beta.seas	Macrocheles spp. (ME7)	AUTUMN	fixed
beta.seas	Uroobovella fimicola (UR1)	AUTUMN	fixed
beta.seas	Uropodina spp. (UR2)	AUTUMN	fixed

beta.seas	Cheyletus spp. (CHE)	SPRING	1.00058064
beta.seas	Dendrolaelaps spp. (ME1)	SPRING	1.0000975
beta.seas	Androlaelaps casalis (ME2)	SPRING	0.99955887
beta.seas	Proctolaelaps parascolyti (ME4)	SPRING	1.00166962
beta.seas	Macrocheles spp. (ME7)	SPRING	1.00361104
beta.seas	Uroobovella fimicola (UR1)	SPRING	0.99978807
beta.seas	Uropodina spp. (UR2)	SPRING	1.02914811
beta.seas	Cheyletus spp. (CHE)	SUMMER	0.99977783
beta.seas	Dendrolaelaps spp. (ME1)	SUMMER	0.99977864
beta.seas	Androlaelaps casalis (ME2)	SUMMER	0.99951544
beta.seas	Proctolaelaps parascolyti (ME4)	SUMMER	1.00202803
beta.seas	Macrocheles spp. (ME7)	SUMMER	1.0042838
beta.seas	Uroobovella fimicola (UR1)	SUMMER	0.99960857
beta.seas	Uropodina spp. (UR2)	SUMMER	1.02835725
beta.seas	Cheyletus spp. (CHE)	WINTER	0.9995864
beta.seas	Dendrolaelaps spp. (ME1)	WINTER	0.99966079
beta.seas	Androlaelaps casalis (ME2)	WINTER	0.99959972
beta.seas	Proctolaelaps parascolyti (ME4)	WINTER	1.0011229
beta.seas	Macrocheles spp. (ME7)	WINTER	1.00314713
beta.seas	Uroobovella fimicola (UR1)	WINTER	0.99957573
beta.seas	Uropodina spp. (UR2)	WINTER	1.02633448
beta.seas.dg	Dermanyssus gallinae (DG)		fixed
beta.seas.dg	Dermanyssus gallinae (DG)		0.99989192
beta.seas.dg	Dermanyssus gallinae (DG)		0.99961169
beta.seas.dg	Dermanyssus gallinae (DG)		0.9998028
beta.reg	Cheyletus spp. (CHE)	Ain	fixed
beta.reg	Dendrolaelaps spp. (ME1)	Ain	fixed
beta.reg	Androlaelaps casalis (ME2)	Ain	fixed
beta.reg	Proctolaelaps parascolyti (ME4)	Ain	fixed
beta.reg	Macrocheles spp. (ME7)	Ain	fixed
beta.reg	Uroobovella fimicola (UR1)	Ain	fixed
beta.reg	Uropodina spp. (UR2)	Ain	fixed
beta.reg	Cheyletus spp. (CHE)	Drôme	1.00046663
beta.reg	Dendrolaelaps spp. (ME1)	Drôme	0.99988255
beta.reg	Androlaelaps casalis (ME2)	Drôme	1.00080716
beta.reg	Proctolaelaps parascolyti (ME4)	Drôme	0.9995639
beta.reg	Macrocheles spp. (ME7)	Drôme	0.99990598
beta.reg	Uroobovella fimicola (UR1)	Drôme	1.00023259
beta.reg	Uropodina spp. (UR2)	Drôme	1.00120093
beta.reg.dg	Dermanyssus gallinae (DG)		fixed
beta.reg.dg	Dermanyssus gallinae (DG)		1.00081788
mubetapred	Cheyletus spp. (CHE)		1.0000416
mubetapred	Dendrolaelaps spp. (ME1)		1.00157852
mubetapred	Androlaelaps casalis (ME2)		1.00101365
mubetapred	Proctolaelaps parascolyti (ME4)		0.99976735
mubetapred	Macrocheles spp. (ME7)		0.99985868

mubetapred	Uroobovella fimicola (UR1)	1.00000286
mubetapred	Uropodina spp. (UR2)	0.99968712
mubetapred1	all predators	1.0001926

Effect of the remaining covariates

Figures S3-3 to S3-5 provide contrasts from outputs of the Bayesian model according to flock age, region and season respectively.

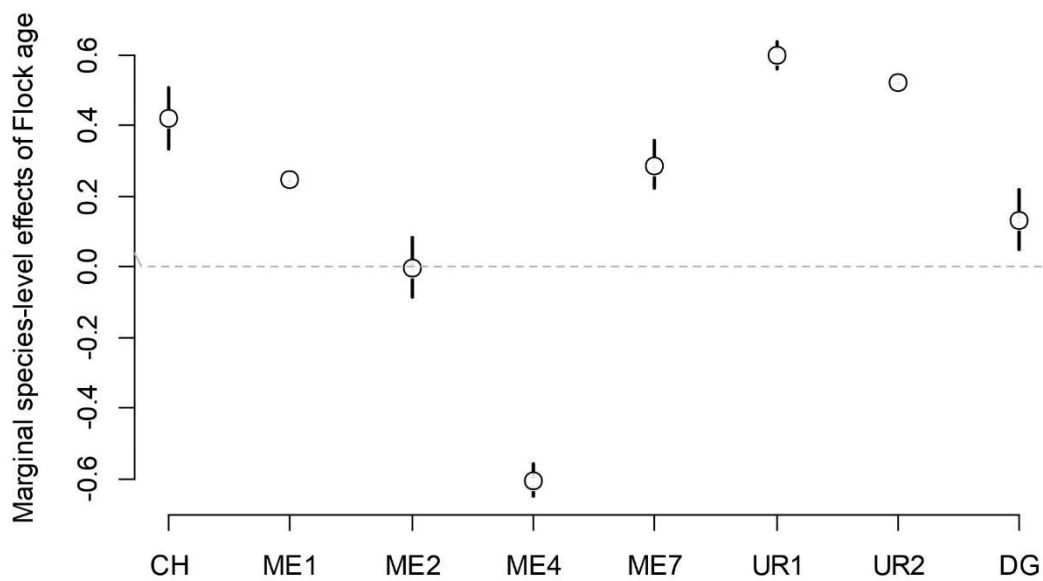


Fig. S3-3. Effect of the flock age.

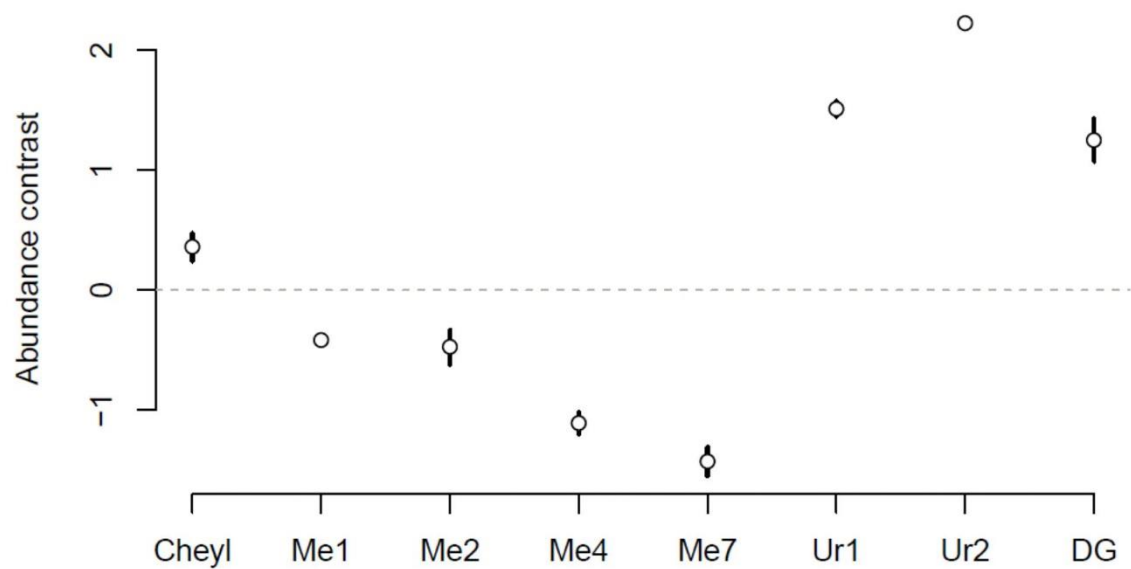


Fig. S3-4. Effect of the region (difference between Ain (reference) and Drôme).

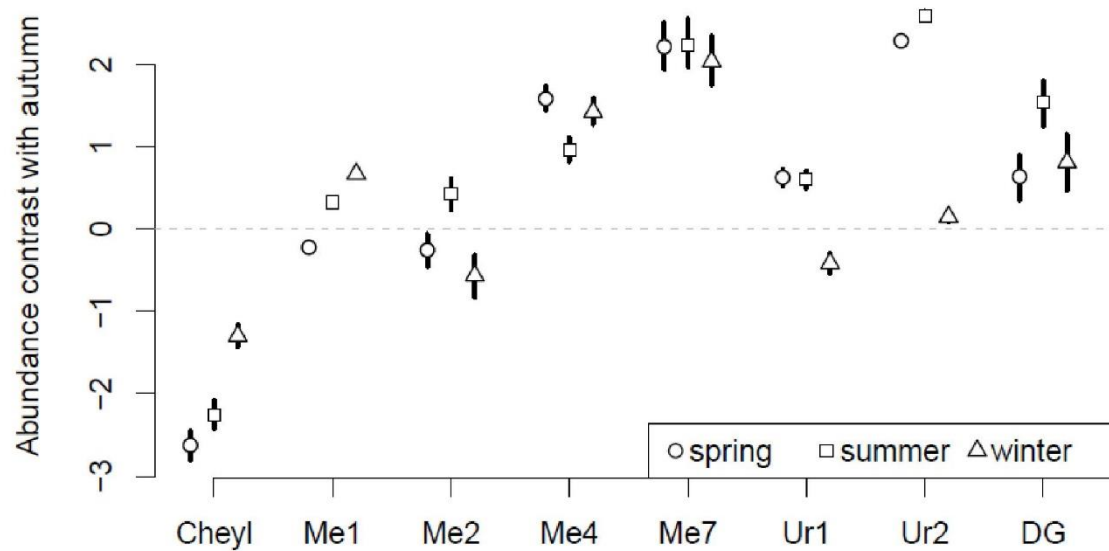


Fig. S3-5. Effect of the season (difference between fall (reference) and the other three seasons).

Chapitre 2

La régulation des populations de *Dermanyssus gallinae* par les prédateurs natifs des bâtiments d'élevages de poules pondeuses

Chapitre 2

Dans le chapitre précédent, nous avons mis en évidence la capacité de plusieurs espèces de prédateurs natifs des bâtiments d'élevage de poules pondeuses, à consommer *in-vitro* l'acarien hématophage *D. gallinae* et que ces prédateurs ont montré une disparité importante dans la fréquence de prédation. Nous avons également démontré la complexité des liens trophiques potentiels impliquant *D. gallinae*, les prédateurs natifs et les acariens détritivores. Nous avons aussi montré la présence d'une covariation significative entre l'abondance de *D. gallinae* et de trois de ces acariens identifiés comme prédateurs potentiels dans les tests de prédation *in-vitro*. Ces acariens prédateurs appartiennent aux genres *Androlaelaps*, *Cheyletus* et *Macrocheles*.

Bien que la combinaison des informations issues de tests de prédation et de l'analyse corrélative de l'abondance des acariens à l'échelle du bâtiment d'élevage ait suggéré une association entre *D. gallinae* et ces acariens prédateurs, cela n'a pas permis d'inférer un effet régulateur clair de l'assemblage des acariens prédateurs sur la population *D. gallinae*. Comme l'omniprésence des trois genres de prédateurs de cette proie peut avoir simplement empêché de détecter un effet de la présence des prédateurs sur la croissance de la population de proie, on ne peut pas conclure à l'absence du service de régulation sur la base de ces résultats. Evaluer l'impact des prédateurs sur *D. gallinae* à l'échelle de la population nécessite que l'on puisse comparer la croissance des populations de la proie cible en présence et en l'absence de prédateurs. En plus, expliquer les dynamiques complexes des populations des prédateurs natifs et de *D. gallinae* à l'échelle de l'agroécosystème nécessite une approche expérimentale qui permette de contrôler les différentes variables impliquées dans ces dynamiques.

Ce deuxième chapitre s'intéresse à l'évaluation du potentiel régulateur des prédateurs natifs sur les populations de *D. gallinae*. Afin d'explorer réellement le rôle dans la régulation des populations de *D. gallinae* de ces prédateurs omniprésents, nous avons adopté une approche expérimentale qui permet de contrôler la présence et l'absence de ces prédateurs ainsi que d'évaluer leur effet sur la dynamique temporelle (démographique) de *D. gallinae* à l'échelle de la population. De telles approches expérimentales ont été utilisées pour mesurer l'impact des ennemis naturels sur la croissance de populations de certains ravageurs des plantes en conditions de terrain. Cependant, dans le cas de l'agroécosystème « bâtiment d'élevage de poules pondeuses », la mise en place de telles approches expérimentales présente des contraintes méthodologiques et pratiques importantes liées à la structure des bâtiments d'élevage, aux contraintes de la manipulation d'animaux vertébrés et à la nécessité de contrôler la composition de communautés d'arthropodes que l'on ne peut pas sélectionner par des moyens physiques. L'exclusion des acariens prédateurs de la communauté d'arthropodes dans les bâtiments d'élevage est pratiquement impossible surtout que ces prédateurs ont globalement une taille similaire à celle de *D. gallinae*.

En raison de ces difficultés, nous avons mis en place un système expérimental en mésocosme qui mime les conditions environnementales de bâtiment d'élevage et permet de contrôler la composition de la communauté d'arthropodes dans ce système. La mise en œuvre de ce système a été un défi méthodologique. Ce système devait à la fois permettre le développement d'un hôte vertébré (la poule), d'un acarien hématophage et des arthropodes

(prédateurs et détritivores) habitant dans le fumier, tout en évitant les flux de ces arthropodes minuscules avec l'environnement et en respectant les réglementations afférentes à l'expérimentation animale. Ce système a été validé par un comité d'éthique et a permis de tester à l'échelle de la population et de la communauté, l'effet des arthropodes prédateurs sur l'acarien hématophage obligatoire en présence de son hôte vertébré. Bien que le processus de cascade trophique ait été reproduit expérimentalement pour mesurer l'effet de certains arthropodes ravageurs sur la production végétale, cela n'a jamais été mise en place en production animale. Grâce à notre système expérimental nous avons pu mesurer l'effet de la présence des arthropodes prédateurs natifs prometteurs (identifiés dans le chapitre 1) sur le développement d'une population de *D. gallinae* sur plusieurs générations et en présence des acariens détritivores typiques des bâtiments d'élevage de poules pondeuses comme proies natives alternatives.

Article 3

Impact des arthropodes prédateurs natifs sur le pou rouge des poules *Dermanyssus gallinae* à l'échelle des populations (Soumis à International Journal for Parasitology)

Zriki G., Blatrix R., Bicout D.J., Gimenez O, Soulié A.S., Dadu L., Degueldre D., Chiron G., Sleecks N. & Roy L.

Résumé : La lutte biologique par conservation consiste à stimuler le contrôle des ravageurs par leurs ennemis naturels natifs. L'évaluation des services fournis par ces ennemis naturels est un verrou majeur pour l'agriculture durable, et elle est confrontée à des contraintes méthodologiques liées à la complexité du fonctionnement des écosystèmes. Dans l'agroécosystème des bâtiments d'élevage de poules pondeuses, la stimulation des activités prédatrices des arthropodes prédateurs spontanés représente une stratégie prometteuse pour progresser dans le développement de la gestion durable d'un ravageur majeur dans cet agroécosystème, le pou rouge des poules *Dermanyssus gallinae*. Pour intégrer le potentiel suppresseur des prédateurs natifs dans la lutte contre *D. gallinae*, il est nécessaire de déterminer la contribution effective de ces ennemis naturels dans la régulation de *D. gallinae* à l'échelle de l'agroécosystème (le bâtiment d'élevage). Dans cet objectif, nous avons reproduit sous conditions contrôlées des parties de cet agroécosystème, de manière à permettre le développement de plusieurs générations de *D. gallinae* en présence d'un poussin et des acariens détritivores typiques dans les bâtiments d'élevages (les acariens Astigmates omniprésents en grandes densités dans la litière et le fumier des poules). Nous avons comparé la croissance des populations de *D. gallinae* dans ces systèmes expérimentaux en présence et en absence de prédateurs natifs, en nous focalisant sur les acariens prédateurs *Androlaelaps casalis* et *Cheyletus* spp. Malgré le fait que les ratios initiaux prédateur-proie étaient élevés et que les populations de prédateurs natifs se soient bien développées, aucun effet de ces prédateurs sur la croissance de la population de *D. gallinae* n'a été détecté, que ce soit en présence d'un seul prédateur ou d'un assemblage des prédateurs. L'absence d'un effet des prédateurs peut être liée partiellement à une prédation plus élevée sur les proies alternatives (les acariens astigmatés) que sur *D. gallinae*. Une explication complémentaire probable est que la croissance des populations de *D. gallinae* est soumise à des mécanismes régulateurs de type *bottom up* plutôt que de type *top down*. Notre étude a également permis de dévoiler des lacunes importantes dans la compréhension de la biologie de *D. gallinae*.

Population-level impact of native arthropod predators on the Poultry Red Mite *Dermanyssus gallinae*

Ghais Zriki^{a*}, Rumsais Blatrix^a, Dominique J Bicout^b, Olivier Gimenez^a, Anne-Sophie Soulié^a, Liza Dadu^a, David Degueldre^a, Geoffrey Chiron^c, Nathalie Sleenckx^d, Lise Roy^a

^a CEFE, University of Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Université Paul-Valéry Montpellier 3, Montpellier, France

^b Techniques de l'Ingénierie Médicale et de la Complexité Informatique, Mathématique et Applications (TIMC, UMR CNRS 5525) Grenoble Alpes University, VetAgro Sup, Marcy l'Etoile, France

^c Institut Technique de l'AViculture (ITAVI) Lyon, Lyon Cedex 07, France

^d Experimental Poultry Centre, Geel, Belgium

*Corresponding author: G. Zriki - CEFE, 1919 route de Mende, 34000 Montpellier, France - ghais.zriki@cefe.cnrs.fr

Note: Supplementary data associated with this article

Abstract

Stimulating the regulation of pests by their natural enemies is a way to improve the sustainability of agriculture and respect for the environment. However, the presence of natural enemies does not guarantee the existence of a pest control service. To determine to what extent predatory mites commonly found in henhouses are actually able to regulate a major pest mite in the egg industry, *Dermanyssus gallinae*, we have experimentally recreated portions of a poultry house ecosystem allowing the pest development over several generations in the presence of a chick and detritivorous mites that are ubiquitous and abundant in layer farms (Astigmata). In these conditions, we compared the growth of *D. gallinae* populations in the presence and absence of native predatory arthropods. No effect of native predators on the growth of the *D. gallinae* population could be detected despite high initial predator-to-prey ratios and satisfactory growth of predator populations. Prey switching to the alternative prey Astigmata likely dilutes the effect of predation on the target prey. Further exploration is needed to see whether action could be taken to enhance the effect of top-down regulation.

Key-words:

Biological control, prey-predator interactions, predatory mites, native assemblages, *Dermanyssus gallinae*, Poultry Red Mite

1. Introduction

Taking advantage of the top-down regulation of prey populations induced by predation or parasitism is the basis of biological pest control. Trophic cascades involving natural pest enemies of crops or livestock can lead to improved agricultural production (e.g. Karp and Daily, 2014). Provided that biological control is effective, the spread of this practice allows to replace pesticides and thus mitigate the environmental impact of agricultural activities (Bale et al., 2008; Tracy, 2015). However, the effectiveness of biological control requires that the enemy-pest-production cascade be complete, i.e. that the process of predation or parasitism has negative repercussions right up to the level of the pest's population (Macfadyen et al., 2015). This is not necessarily the case, even from a theoretical point of view (Abrams, 1992). While it is relatively easy to demonstrate antagonistic interactions between individuals, it is far from easy to demonstrate a complete trophic cascade, or even simply the regulation of pest populations by natural enemies at appropriate scales in agrosystems (Furlong and Zalucki, 2010; Luck et al., 1988). Unlike parasitism rates that can be measured when dealing with parasitoids, predation events are notoriously difficult to identify (Furlong and Zalucki, 2010), especially with small arthropods such as mites (Koehler, 1999; Lindquist, 1975). This major hurdle makes it difficult to establish a link between the predation process and any reduction of the damage to plants or livestock (or any increase in production).

Taking advantage of biological pest control can be done either by locally releasing in agroecosystems exogenous natural enemies or by stimulating the development and activity of native natural enemies (Bale et al., 2008). In the latter case, it is expected that indigenous natural enemies will spread to farms from surrounding or nested uncultivated areas (e.g. grass strips, multi-species hedges) (Begg et al., 2017). In crop production, a long and rich experience of the different methods of biological control in different systems (Bale et al., 2008; Begg et al., 2017; Luck et al., 1988) makes it possible to implement integrative pest management strategies through the stacking of biodiversity service providers by cross-referencing data from various experiments (Hokkanen, 2017). In animal production, the development of biological control is still in its infancy, likely due to major interdisciplinary barriers between medicine on the one hand and environmental sciences on the other hand (Destoumieux-Garzón et al., 2018). Biological control in livestock relies almost exclusively on a few cases of augmentative biological control (e.g. Knapp et al., 2018; Lesna et al., 2012; Skovgård and Nachman, 2004). Strategies related to conservation biological control are barely mentioned in the literature and have essentially been targeted against flies. Axtell (1986) suggested increasing the enemy density of flies of several species on rare farms with low enemy densities without specifying how, except that he advised against the introduction of exogenous species. Hinton and Moon (2003) obtained promising results in poultry farms by acting on manure management to regulate fly infestations, but have not led to operational implementation to our knowledge.

In crops, several meta-analyses have revealed patterns that are sometimes counter-intuitive which can be explained by the intrinsic complexity of ecosystems (e.g. Dainese et al., 2019; Karp et al., 2018). For instance, although conserving non-crop habitats almost always results in increased biodiversity, this does not come along with a spontaneous enhancement of pest control, or even sometimes triggers undesired effects (Karp et al., 2018). Higher-level trophic cascades and other biotic interactions interfering with the enemy-pest-crop cascade explain part of these counter-intuitive results (Abrams, 1992; Chailleux et al., 2014). The effects of multiple predators on pest populations can be either increased or decreased

compared to those of a single predator due to intraguild predation (predators feeding on each other) or to competition (Caballero-López et al., 2012; Colfer and Rosenheim, 2001; Finke and Denno, 2004, 2005; Janssen et al., 2006; Ong and Vandermeer, 2015). And their effects can be emergent (i.e., not simply additive) (Sih et al., 1998). Although generalist predators are proven to be effective biocontrol agents (Symondson et al., 2002), predation by generalist predators can be density-dependent (Abrams, 2004) and the relative abundance of a focal prey to other alternative prey may result in prey-switching behavior (Van Baalen et al., 2001). As a result, the co-occurrence of pest and closely related non-pest species could also dilute the foraging effort of predators, resulting in a decreased control effect (e.g. Cardinale et al., 2003). Therefore, it is difficult, if not impossible, to predict the effect of a predator in an agroecosystem based solely on the effect of this single predator on a single prey.

Developing biological control in poultry farms is a major challenge for the sustainability of egg production to control the economically most important pest of laying hens worldwide, *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Mul, 2017; Sparagano et al., 2014). This haematophagous mite affects hen survival and egg-laying rate (Kilpinen et al., 2005; Wojcik et al., 2000) and is a reservoir and vector of several avian pathogens (Pugliese et al., 2019; Valiente Moro et al., 2009). In Europe, over 80% of layer farms are infested with *D. gallinae* and the annual cost of infestation control and production losses is estimated at 231 million euros (Van Emous, 2017). However, the implementation of efficient biological control is largely hampered by the general lack of knowledge about natural enemies and trophic cascades in poultry farming. Whilst native parasitoids are rare in European commercial henhouses (Roy et al., 2017), a high diversity of arthropod predators has been reported from these strongly anthropized systems (Axtell and Arends, 1990; Brady, 1970; Faleiro et al., 2015; Horn et al., 2016; Lesna et al., 2009; Roy et al., 2017; Silva et al., 2013; Young et al., 2019). The potential for predation on *D. gallinae* by several native predatory mites, a spider, a pseudoscorpion and three insects has been reported from *in-vitro* tests (Lesna et al., 2009; Stockton, 2004; Toldi et al., 2017; Zriki et al., 2020). Significant covariations between abundances of three taxa of predatory mites and of *D. gallinae* suggest that these predators are indeed associated to the pest in henhouses (Roy et al., 2020). Yet the link between predation processes and the regulating service of *D. gallinae* in farms could not be demonstrated (Roy et al., 2020), while it exists with one of the above mite taxa (*Androlaelaps casalis*) in the nests of wild birds (Lesna et al., 2009). The three predators of *D. gallinae* proved to be almost ubiquitous in the farms studied, making it impossible to measure their specific effect in henhouses, unlike in the bird nests studied. It is therefore necessary to apply an experimental approach allowing to work on a population scale while controlling the presence or absence of predators. Lesna et al. (2012) conducted the only study of this type available today, but they only tested the individual effect of two non-native predator populations separately on *D. gallinae* as a single prey.

In order to make progress in developing biological control in an agroecosystem as poorly understood as henhouses, we need to better embrace what can happen in the henhouse ecosystem, accounting for potential emerging effects of native multiple predators and the impact of alternative prey. Besides the multiple predators reported from henhouses, ubiquitous detritivorous mites represent very abundant native alternative prey (Roy et al., 2017) and may dilute the impact of the native predators on *D. gallinae*. Our study aims at documenting the potential of native predators to regulate *D. gallinae* populations in a farm-like system. We experimentally measured the effect of the presence or absence of one or

more native predators, collected directly from farms, on the growth of a *D. gallinae* population in the presence of alternative native prey. We addressed the following three questions, focusing on the two most promising candidates for biological control of *D. gallinae* according to Roy et al. (2020), namely *Androlaelaps casalis* and *Cheyletus* spp:

- Do native predators affect *D. gallinae* population growth in the presence of non-limiting quantities of alternative prey?
- Do increased complexity of predator assemblages maximize or minimize the effect of predation on *D. gallinae* population growth?
- How do initial biotic conditions determine the suppressive effect of predators on *D. gallinae*?

2. Materials and Methods

2.1. Study system

2.1.1. Arthropod source

Dermanyssus gallinae individuals were collected in sealable plastic bags from aggregates found in hiding places in several barn layer farms located in the Drôme department (Rhône-Alpes-Auvergne region, France) and kept in the lab at 17°C. They were used in experiments after one to two weeks of fasting. This procedure resulted in synchronising the next gonotrophic cycle as females lay one clutch of eggs after each blood meal and need less than four days at 15-20°C for the whole process (Tucci et al., 2008). This was meant to reduce variation in population dynamics across replicates due to potential sampling bias regarding female physiological status.

In barn layer farms, manure is allowed to accumulate over the flock period (ca. 12 months) and hosts a high diversity of arthropods (Brady, 1970; Roy et al., 2017). Manure, as a source of arthropods, was collected from the same farm buildings as *D. gallinae* and stored at room temperature for one to two weeks before the start of the experiments. Live arthropods were extracted by dry sieving of manure immediately before being used in the experiments. Mite taxa were classified following morphospecies defined in Roy et al. (2017). The source of astigmatic mites was either a population from farm kept pure and multiplied in the laboratory on yeast flakes, or a pure monospecific lab population. As astigmatic mites are omnipresent and at high density in poultry manure (Brady, 1970; Roy et al., 2017), they were inoculated in large quantities in all experimental units to mimic conditions in farm buildings. Table 1 gives the list of arthropod taxa used in the experiments.

2.1.2. Chicks materials

Specific-pathogen-free chicks belonging to the PA12 White Leghorn lineage were provided by the Plateforme d'Infectiologie Expérimentale (INRAE, Nouzilly, France). Each experiment was run with chicks from a single clutch.

2.2. Experimental setup and general protocol

The regulating effect of various native arthropod assemblages on *D. gallinae* population development was tested through manipulative experiments using medium-sized experimental units, called hereafter mesocosms (details in Supplementary data 1). Mesocosms were polyvinyl chloride cylinders, 40 cm in diameter, 39 cm high, designed to simulate the environment of a barn layer farm building and to host a chick (1- to 7-week old)

Table 1. Arthropod taxa used to test the regulating effect of assemblages of native arthropods on *D. gallinae*. ^a in vitro tests from Zriki et al. (2020).

Order	Family	Species	Guild	Predation on <i>D. gallinae</i> ^a
Mesostigmata	Dermanyssidae	<i>Dermanyssus gallinae</i>	Hematophagous	-
	Laelapidae	<i>Androlaelaps casalis</i>	Predator	Effective
	Digamasellidae	<i>Dendrolaelaps presepum</i> (dominant species), <i>Dendrolaelaps</i> spp. and unidentified Digamasellidae	Predators	No predation
	Melicharidae	<i>Proctolaelaps parascolyti</i>	Fungivorous, omnivorous	Casual
	Parasitidae	<i>Parasitus fimetorum</i>	Predator	Effective
	Macrochelidae	<i>Macrocheles muscaedomesticae</i>	Predator	Effective
	Other families	Uropodina spp.	Predator, detritivorous	No predation
	Ameroseiidae	-	Predators, fungivorous	Not tested
Trombidiformes	Cheyletidae	<i>Cheyletus</i> spp.	Predator	Effective
Sarcoptiformes	Various Astigmatic mites (Acaridae, Tyroglyphidae, etc.)	Several species	Microbivore, detritivorous	-
Pseudoscorpionida	Chernetidae	<i>Lamprochernes nodosus</i>	Predator	Effective
Coleoptera	Histeridae	<i>Carcinops pumilio</i>	Predator	Effective
Diptera	Several families	Several species	Coprophagous	-

with feed and drink *ad libitum*. Chick water supply was regulated using a Stilla pipette screwed through the mesocosm wall (UFS, Guichainville, France). The top of mesocosms was fitted with a nylon-filter lid (mesh size 80 μm) allowing air flow while preventing arthropods exchange with the surrounding. Each mesocosm was provided with three artificial shelters mimicking places sought by *D. gallinae* to aggregate and reproduce in poultry farm buildings (Supplementary data 1). Each of these shelters occupied 0.46 % of the internal volume of the mesocosm. Some details of the protocol were adjusted from one experiment to the next to take advantage of the knowledge acquired in the previous ones. These adjustments were meant to improve the capacity to detect any putative effect of native arthropods on *D. gallinae* population, and are explained for each experiment (see next section and Table 2).

One week before the end of each experiment, the chicks were removed from the mesocosms and the development of arthropods was stopped by freezing at -20°C for 24 hours. To recover arthropods from mesocosms, a flotation method used to extract arthropods from soil samples (Edwards, 1991) combining washing and wet sieving was adapted. Arthropods from artificial shelters and from the coarse substrate (manure + dust + feed + feathers) of the remaining content were extracted separately and stored in 96 % ethanol in distinct jars. Arthropods other than mites were directly identified and counted on large-mesh sieves. For mites, abundance was estimated by extrapolating numbers of individuals from counts in four aliquots of $1/33^{\text{rd}}$ and four of $1/75^{\text{th}}$ volume for artificial shelters and coarse substrate respectively. Mites were counted in each aliquot following the method of Roy et al. (2017): they were filtered out through a nylon membrane, spread over the membrane, identified and counted under a stereomicroscope. As protonymphs cannot be unambiguously assigned to morphospecies, only adult-like individuals (deutonymphs and adult males and females) were counted. Astigmatic mites were introduced as a ubiquitous component of the poultry environment (role in degradation of manure and potential prey of introduced predators). Thus, their development was assessed through a qualitative check, but abundance was not estimated. They reached a high level of development in all mesocosms.

2.3. Population-level impact of native arthropod assemblages on *D. gallinae* regulation

To test for an effect of native arthropods on the regulation of *D. gallinae* at the population level, three successive experiments were conducted in which the composition, the complexity and the richness of the assemblage of native arthropods was manipulated. Each experiment consisted in ten mesocosms for each of two to three modalities: one control and one to two test modalities. All mesocosms received one chick (replaced when dead) and were inoculated with Astigmatic mites and *D. gallinae* sampled from farm. For test modalities, mesocosms were additionally inoculated with a specific assemblage of other arthropods (Table 2). Arthropod populations in the mesocosms were left untouched until the end of the experiment (for four to nine weeks according to the experiments).

2.3.1. Experiment A. Impact of assemblage complexity: one versus two predatory species

The effect on *D. gallinae* regulation of potential interactions between two native predatory mites known for reciprocal predation (Zriki et al., 2020) was investigated using two test modalities (Table 2). They consisted in inoculating either *Cheyletus* spp. alone or *Cheyletus* spp. and *A. casalis* (Table 2). Inoculum of *D. gallinae* consisted in 400 adult females (their large size allowed discrimination from males and other stages using a stereomicroscope) and was given a one week head start over predators.

Table 2. Condition details of the three experiments testing the regulating effect of assemblages of native arthropods on *D. gallinae*. Numbers in brackets refer to numbers of individuals. All mesocosms were inoculated with 3000-4000 astigmatic mites. ^a same in control and test modalities. Numbers of replicates in brackets are those used in analyses, after removing those with technical

	Experiment A	Experiment B	Experiment C
Composition of the initial arthropod assemblage (in brackets: numbers of individuals) in test modalities	Modality 1: <i>Cheyletus</i> spp (40) Modality 2: <i>A. casalis</i> (20) <i>Cheyletus</i> spp (20)	<i>A. casalis</i> (20) <i>Cheyletus</i> spp (20) <i>Dendrolaelaps</i> spp. (20) <i>Pr. parascolyti</i> (20) Uropodina spp. (50) <i>M. muscaedomesticae</i> (10) <i>L. nodosus</i> (10) <i>Ca. pumilio</i> (10) Diptera (10)	<i>A. casalis</i> (20)
No. of <i>D. gallinae</i> ^a	400 adult females	25 adult females	100 protonymphs
Head start of <i>D. gallinae</i> on arthropod assemblage (days)	7	7	0
Contact time of <i>D. gallinae</i> and chick (days)	39	50	28
Contact time of <i>D. gallinae</i> and arthropod assemblage (days)	69	50	28
No. of control replicates	10 (9)	10 (9)	10 (10)
No. of test replicates	10 (for each modality)	10 (10)	10 (10)

problems.

2.3.3. Experiment B: Impact of assemblage complexity (continued): a nine-taxa assemblage

The effect on *D. gallinae* regulation of a high-complexity assemblage of nine native arthropods (mites and insects), including five predators of *D. gallinae* was investigated using a single test modality (Table 2). Experiment A revealed high levels of development of *D. gallinae*, suspected to blur any potential effect of predators and to lead to chick premature death. For ethical reasons, the size of the inoculum was reduced to 25 adult females of *D. gallinae* to delay the growth phase and thus limit the lethality of the infestation. At the same time, this allowed us to increase the predator-to-prey ratio. This number was fixed based on predictions using the population growth model of Huber et al. (2011) to lead to a final number of *D. gallinae* lower than the ones that induced chick mortality in experiment A. Simulations were conducted in R (R Core Team, 2020) with the deSolve package (Soetaert et al., 2010). The scripts are provided as a Supplementary data 2 and 3.

2.3.4. Experiment C. Impact of a juvenile-feeding predator on a juvenile inoculum of *D. gallinae*.

The effect of the predatory mite *A. casalis* when the inoculum of *D. gallinae* was composed of protonymphs was investigated using a single test modality (Table 2). Using protonymphs instead of adult females was meant to increase the probability to detect any effect of the predator on *D. gallinae* population, for two reasons. First, as this predator has a strong preference for protonymphs of *D. gallinae* over adult females and astigmatic mites (Zriki et al., 2020), it should be more efficient impacting population growth in experiment C than in the previous ones. Second, there would be less age variation within the first batch of adult females. As the number of eggs laid per clutch is correlated with age in *D. gallinae* females (Dotson, 1982), less age variation across inocula should translate into less heterogeneity in growth rates and final numbers of *D. gallinae*, and thus, more statistical power to detect a putative effect of predators on population growth. In addition, as the secondary sex ratio in *D. gallinae* seems balanced (Oliver Jr, 1966), an inoculum of 100 protonymphs in experiment C should yield 50 adult females, reducing heterogeneity compared to the low initial number of females in experiment B. *Dermanyssus gallinae* were not given a head start on predators in order to maximize the effect of the predator on the initial stage of population growth.

2.4. Data analysis

Assuming an exponential growth of the population (Nordenfors et al., 1999), the rate of population increase (r) was calculated for each arthropod taxon in each mesocosm as, $r = \ln[(N_f+1)/N_i]/t$, where N_i is the initial number of individuals, N_f the final number of individuals (for mites, only adult-like individuals were counted, see section 2.2), and t the time period (in days) during which the resource of the focal taxon was available (the chick for *D. gallinae*, the rest of the set up for native arthropods, see Table 2). In the formula of the rate, 1 was added to N_f to allow computation of the logarithm even when no *D. gallinae* individuals were found at the end of the experiment. Comparing r among control modalities tested differences in intrinsic rate of increase of *D. gallinae* population among experiments. The regulating effect of arthropod assemblages on *D. gallinae* population was tested for each experiment by comparing the estimated final number of *D. gallinae* between control and test modalities. Comparisons were performed using Kruskal-Wallis and/or pairwise Mann-Whitney tests. P-values were adjusted with Holm's method in case of multiple comparisons. To test for a more subtle effect of predators on *D. gallinae* population in each experiment, we tested for a

correlation between r of *D. gallinae* and the final number of native predators for each experiment (control and test modalities pooled). Statistical analyses were performed with R (R Core Team, 2020).

In order to determine whether the growth of *D. gallinae* in mesocosms ran successfully, the data obtained were compared with predictions from the mathematical model by Huber et al. (2011). This was not trivial because the groups of individuals counted were not equivalent. The model considers and simulates the populations as a function of time for three groups of individuals: (1) eggs & larvae, (2) proto- & deutonymphs and (3) adult females; no number of adult males nor of dead individuals are provided. In our experiments, the number of individuals at the end of the experiment in each mesocosm was evaluated on the basis of the global count of adult-like individuals (deutonymphs + adult males and females). In addition, we did not distinguish between the dead and the living individuals. As a result, observed data consist in the summation of the whole model's group (3), part of model's group (2), adult males and dead individuals (all sexes and stages). To compare predicted and observed numbers of mites in different experiments, the predicted number of adult females (group 3) at $t+n$ (n = duration of the experiment) was considered as the lower limit and the total sum of predicted individuals (all stages) as the upper limit of what could be expected as the number of adult-like individuals counted per mesocosm. In the latter, the absence of the model's group (1) from the experimental mite counts is likely to be only partially compensated for by the addition of the dead individuals. Indeed, in an experiment of comparable duration (6 weeks), the percentage of mortality estimated every week was $< 3.5\%$ and eggs accounted for about 25% of the population at $t+35$ days and $t+42$ days in the study by Wang et al. (2018) conducted in individual cages. Therefore eggs are likely to be more as are dead individuals at the end of experiment.

2.5. Ethics approval

The experiments were approved by the Languedoc Roussillon ethics committee n°36 (project reference: APAFIS#1549-201805251343835v3). All experiments involving birds were conducted in compliance with relevant guidelines and regulations.

3. Results

3.1. Population increase of *D. gallinae* in control modalities

Estimated final numbers of *D. gallinae* in control modalities showed high variance among replicates within each experiment (Table 3). On the basis of intrinsic r (i.e. in control modalities) of *D. gallinae*, two groups could be clearly distinguished (Kruskal-Wallis test, Chi-squared = 19, $P < 10^{-4}$, fig. 1): r close to 0 in experiment C (failed population growth), r higher and similar to each other in experiments A and B (successful population growth). Based on the model predictions, experiments A and B generated values much higher than predicted (9.5 times on average (max. 14.7 times) and 7.5 times on average (max. 9.8 times) respectively). In experiment C, observations were consistent with the prediction.

3.2. Population increase of other native arthropods

Androlaelaps casalis and *Cheyletus* spp. showed high rates of population increase in all experiments (Fig. 2). Most other native arthropods (experiment B) failed to develop (r close to or below 0).

3.3. Spatial co-occurrence of *D. gallinae* and predators

Artificial shelters were colonized by *D. gallinae* in all mesocosms. In Experiment C, where there was no development of *D. gallinae*, the mean percentage of individuals counted in these shelters relative to the whole mesocosm was $76.55 \% \pm 31.65$. *Cheyletus* spp. co-occurred with *D. gallinae* in shelters of 18 and 10 mesocosms out of 20 and 10 in experiments A and B respectively. *Androlaelaps casalis* co-occurred with *D. gallinae* in shelters in 2, 10 and 9 mesocosms out of 10, 10 and 10 in experiments A, B and C respectively. No other arthropod taxon was found in shelters.

3.4. Impact of native arthropod assemblage on *D. gallinae* population

Although *D. gallinae* and predators co-occurred spatially and populations of most native arthropods (including predators of *D. gallinae*) showed high increase, in none of the experiments did the estimated final numbers of *D. gallinae* vary significantly between control and test modalities (Fig. 3). In addition, r of *D. gallinae* and final estimated numbers of native predators were not correlated (Supplementary data 4).

3.5. Chick death

The protocol involved the systematic and immediate replacement of any dead chick. At the beginning of each experiment, a small number of chicks died, a mortality which was considered normal ($< 3\%$ of the flock). In experiment A, recurrent chick death was recorded from 35 days of contact with *D. gallinae* when mortality was almost nil before and for no apparent reason other than mite infestation. Because most replaced chicks died at that time within one or two days, we considered, for ethical reasons, this peak mortality as a cut-off point and made the decision to remove chicks from the experiment early (at T+39 days, instead of the 60 days of presence of chicks initially foreseen) and mesocosms were kept running without chick for an additional month (see Table 2). In experiment B, recurrent chick death was also recorded before the planned end of the experiment, after we replaced old chicks (7 weeks old) by younger ones (two weeks old) despite the substantial reduction in the size of the inoculum. We again removed the chicks at the time of peak mortality, and we then terminated the experiment. In these two experiments considered together, the relative number of mesocosms with chick death did not differ significantly between control (6 out of 19) and test (13 out of 30) modalities (Chi-squared = 0.27, $p = 0.60$). Estimated final number of *D. gallinae* was significantly higher in mesocosms with chick death (median [min-max] = 98,919 [33,709-153,091]) than in mesocosms without chick death (median [min-max] = 52,598 [1,196-142,931]) (Mann-Whitney U-test, $U = 461$, $p = 0.00018$).

Table 3. Predicted and effective number of mites at the end of each experiment. *Predicted lower limit*, the number of adult females (group 3) predicted by the model; *predicted upper limit*, total sum of predicted individuals (all stages); *estimated final numbers of*

	Experiment A	Experiment B	Experiment C
Predicted lower limit	5,669	3,992	0
Predicted upper limit	9,733	9,331	32
Estimated final numbers of mites	93,046 ± 36,248 [15,649 – 142,931]	30,159 ± 27,665 [1,196 – 91,639]	35 ± 21 [3 – 68]

mites, mean effective number of adult-like mites counted per whole mesocosm ± standard deviation [min - max].

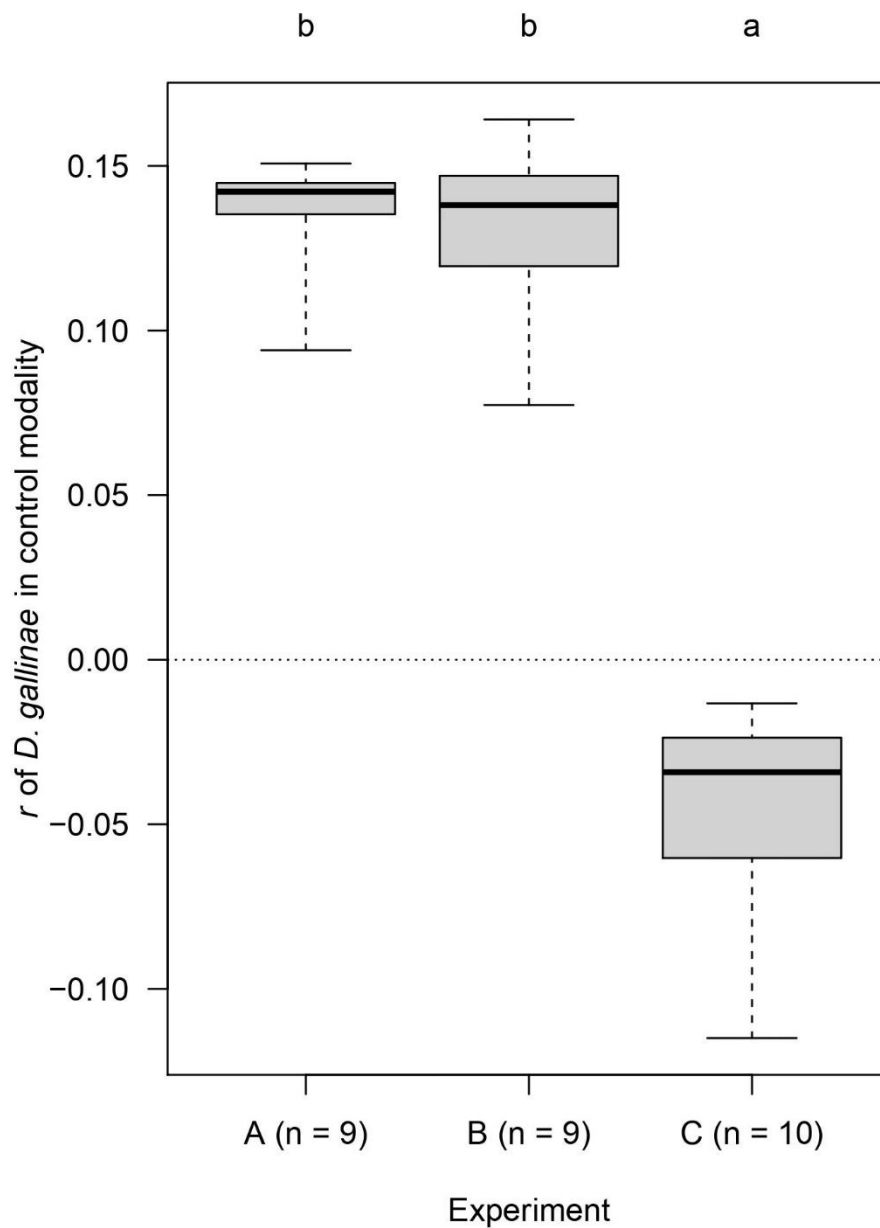


Figure 1. Rate of *D. gallinae* population increase (r , in number of individuals per day) in control mesocosms of three experiments. Sample size is given in brackets. Horizontal lines represent median, boxes represent interquartile range, and whiskers extend to the data extremes. Different letters on top of boxes indicate significant differences ($p < 0.05$, Mann-Whitney U-tests adjusted for multiple comparisons).

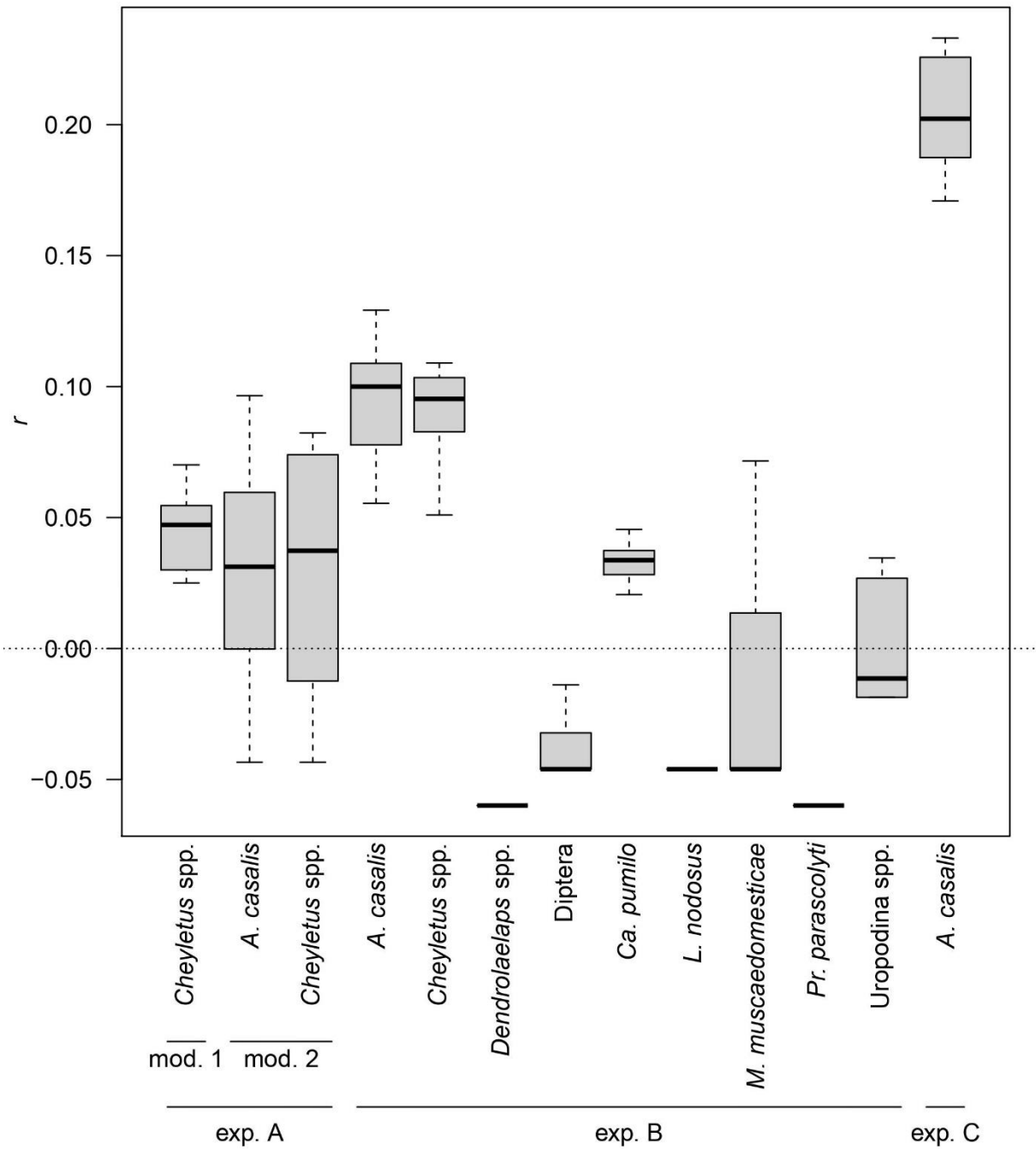


Figure 2. Rate of population increase (r) of native arthropods in three experiments in mesocosms.

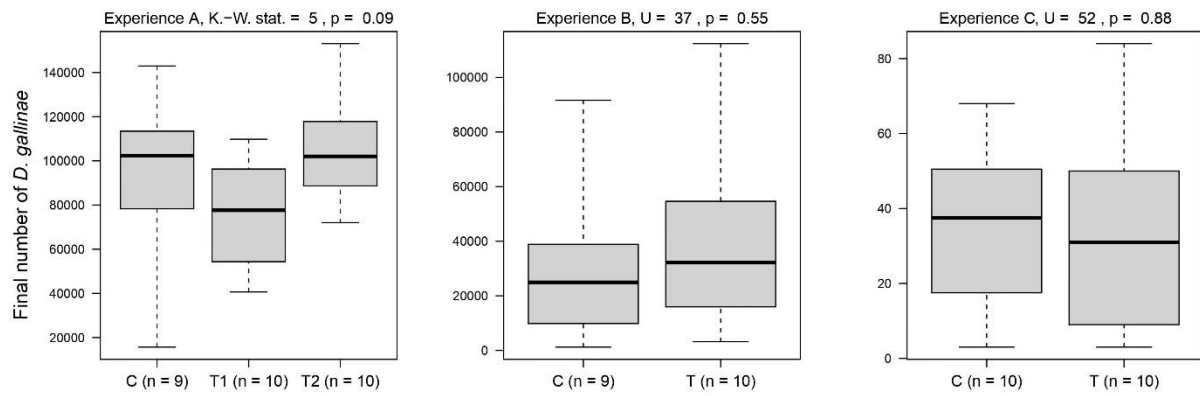


Figure 3. Final counts of *D. gallinae* in three experiments in mesocosms where predators were inoculated (test modalities "T") or not (control modality: "C"). U: Mann-Whitney U-test statistic; K.-W.: Kruskal-Wallis.

4. Discussion

Our innovative experimental system makes it possible for the first time to test at a population level the effects of the predation process between mites growing on coarse substrates, as has been done on mites growing on plant substrates (e.g. Huffaker, 1958). The mite-proof system allows control of inoculum size and freedom from unwanted introductions during experiments in cages reported by Lesna et al. (2012). Dozens of replicates can be carried out in parallel in the same room thanks to the moderate size of each unit. The development of the target prey *D. gallinae* from inocula consisting of adult females and the development of the alternative prey (Astigmata) was very satisfactory. The development of predators was globally satisfactory, despite disparities between taxa. The two most promising predator taxa, *Androlaelaps casalis* and *Cheyletus* spp. have developed well in all the experiments. Among the arthropods that failed to develop, this was expectable for some because the duration of the experiment was less than or very close to the life cycle time (e.g. *C. pumilio*, Uropodina). For others, growth failure may be explained by a resource defect. For example, mites of the genus *Dendrolaelaps* typically feed on nematodes, a group we have not introduced into the system. Finally, the artificial shelters were largely occupied by *D. gallinae* and the recurrent presence of *A. casalis* and *Cheyletus* spp. in these prey-occupied shelters is consistent with the observations of Maurer et al. (1993) for the same taxa in traps placed in henhouses. These artificial shelters thus perform well as microhabitats for the various interactors.

Regarding the growth of focal prey, in the two experiments with inoculation of adult females, the growth of the focal prey population evolved consistently with the duration of the experiment and the size of inocula since the final numbers varied substantially between experiments A and B but maintained similar r values (Fig. 1). In experiments A and B, the intrinsic r (mean 0.14 and 0.13 resp.) was slightly lower than the r estimated by Lesna et al. (2012) (mean 0.15 females/female/day) under temperature conditions very close (26°C) to ours (26°/23°C) and close to that estimated by Maurer and Baumgärtner (1992) (0.12 females/female/day) at 25°C. However, our r was underestimated compared to these two studies, as it does not consider eggs, larvae and protonymphs (we only count adult-like individuals). The heterogeneity of development success among replicates within modalities in each experiment was consistent with studies that have carried out experiments involving hens in isolated cages, artificially infested with *D. gallinae*: Lesna et al. (2012) and Mul et al. (2017) reported developmental failures in >15% of replicates.

Despite the massive growth of predators prone to feed on *D. gallinae*, no negative effect was detected on the growth of the pest population after several generations, whether with single or multiple predators. Moreover, the mortality of the chicks was not diminished by the presence of predators. Would confinement alter prey-predator interactions in the mesocosms, an exaggerated negative predator effect would be expected due to the forcing of the prey-predator encounter, rather than a decrease in the effect (Luck et al., 1988). Given that both pest-feeder predators were actually encountered in the presence of prey in artificial microhabitats, it is unlikely that the lack of effect is due to a lack of prey-predator encounter.

Prey switching to the very abundant Astigmata may well explain this lack of effect. Interestingly, *A. casalis* and *Cheyletus* spp. had been shown *in vitro* to prefer *D. gallinae* to the alternative prey Astigmata (Roy et al., 2020; Zriki et al., 2020). This apparently contradictory result may be due to behavioural differences between the two preys: astigmatic mites are very slow-moving mites, whereas *D. gallinae* is swift and often active. Predators may have

preferred *D. gallinae* *in vitro* because of the increased likelihood of encountering them in small *in-vitro* arenas. The reverse situation may occur in mesocosms where confinement is much lesser. Prey switching from *D. gallinae* to Astigmata may even be more common in mesocosms than in henhouses because the distances between feed and manure, where Astigmatic mites tend to grow more, and the microhabitats in the upper stratum, where *D. gallinae* preferentially accumulates, are substantially reduced compared to henhouses (dozens centimeters vs. several meters). This may lead predators in henhouses to encounter *D. gallinae* more frequently away from areas where astigmatic mites are found in high densities (e.g. on perches instead of in manure).

No emerging effects (positive or negative) from multiple predators were detected either. Of course, we could not consider the effect of multiple predators in their entirety (some native mite species could not be integrated into the multitaxa modalities), nor the various possible interactions with many uncontrolled organisms (nematodes, fungi, protozoa, bacteria...). We have achieved the development of communities involving a variety of native predators, including the two most promising ubiquitous taxa from previous studies. Nevertheless, we cannot guarantee that the absence of effect really reflects what happens in a real farm.

The lack of effect of predators of *D. gallinae* does not even seem to be affected by the initial biotic conditions. Considering the two focus predators *A. casalis* and *Cheyletus* spp., the initial predator to prey ratios (1:10, 1:0.6 and 1:5 respectively in experiments A, B and C) were in the range or higher than ratios that induces significant reduction in the mite prey population in a greenhouse prey-predator system (e.g. 1:20, and in some cases up to 1:60; Opit et al., 2004). Certainly, the 1-week time lag between the introduction of *D. gallinae* and that of the predators in experiments A and B decreased these ratios. But in experiment C, prey and predators were introduced at the same time as the predator, so that the initial ratio was strictly 5 prey individuals per predator. With such a high predator to prey ratio, a strong reduction of the *D. gallinae* population was expected in the test modalities, all the more that the prey was the preferred stage (protonymphs) of the predator tested (*A. casalis*, Zriki et al., 2020). The lack of a difference between control and test modalities could simply have been the result of a sudden death of the protonymphs at the beginning of the experiment, since we count dead mites along with living ones. But most of the mites remained alive since the majority of the individuals were recovered from artificial shelters (the only part where both protonymphs and adult-like were counted; protonymphs actively sought and found suitable microhabitats after inoculation) and very few had the appearance of individuals dead before final treatment (the bodies were for the most part intact and flexible, instead of dry and broken by sieving). Since these preys did not complete a full cycle in spite of remaining alive and the predators developed properly, the lack of difference between control and test modality suggests that the predator to prey ratio even increased throughout the experiment.

Prey switching aside, the population dynamics of the prey, relative to that of the predators likely partly explains the general lack of effect of predation on populations of *D. gallinae*. The final numbers of *D. gallinae* in experiments that produced satisfactory growth were well above the upper limits of the model predictions (Table 3). This suggests that some parameters of the model (stage duration, survival rate, severity...) are far from reality. The fundamental knowledge of many biological parameters is based on a few life tables from *in-vitro* studies (especially Maurer & Baumgärtner, 1994; Nordenfors et al., 1999; Tucci et al., 2008) which provide valuable but patchy information. Recent *in-vivo* studies add valuable

information such as feeding rate and life cycle duration with the permanent presence of hens (Wang et al., 2018, 2019), however, information is still lacking. The stage that makes up the starting inoculum strongly affects the subsequent population growth since no development could be observed with inocula composed of protonymphs (experiment C, Fig. 3D). The model predicted almost perfectly the number of individuals in the different stage groups in experiment C, although we cannot clearly explain this result. Either the match between the model and the result of the experiment is fortuitous, involving some computation artefact that mimic a biological fact, or model parameters involving nymphs are more reliable than those involving adult females (as experiments A and B showed a weak match between model predictions and experiment results when starting with adult females). In the first case, the biological fact might be the inability of protonymph to get suitable blood meals in the absence of adults. Indeed, only part of the mites had obviously fed during the 4-week experiment (molted into adult-like). The protonymphs constituting the inoculum thus appear to have performed little feeding activity, although alive.

In conclusion, no effect of predation on the population growth of *D. gallinae* could be demonstrated in the present study, despite an innovative and successful experimental system, working at a population level, in native communities of mites associated with poultry. The presence of alternative native prey and the peculiar population dynamics of *D. gallinae* may explain this result. A huge gap in knowledge of *D. gallinae* population dynamics was uncovered by chance in the course of our study. It may not only explain the lack of effect of predators on the development of the target prey, but may also explain many other failures to control this pest in field. Indeed, our results suggest that killing individuals does not significantly affect *D. gallinae* population and/or the rate of removal by predators is too small to affect the population in farm-type contexts. In order to refine the comparison between model predictions and experimental results, it would be wise to consider dead mites in the Huber et al. (2011)'s model. This will require not only the rewriting of parts of the model, but also the evaluation of the degradation kinetics of mite corpses.

The present study based on non-limiting quantities of astigmatic mites is a key step in the implementation of biological control of *D. gallinae* since it mimics a typical farm environment. However, prey-switching is density-dependent par excellence, it could vary substantially according to local densities of astigmatic alternative prey, thus among henhouses, but also among microhabitats within henhouses. Therefore, a thorough measure of the effect of astigmatic mite density on predation on *D. gallinae* would be needed to fully assess its local effect. Mapping prey-predator meeting points in henhouses and comparing this map with astigmatic mites' densities would help to determine the extent to which local top-down regulation could be reinforced by targeted practices. Lastly, we have been able to observe the result of population growth of *D. gallinae* in our farm-like units, but the kinetics are unknown. It would be useful to dissect the temporal dynamics as the experiment progresses, which will require consequent adjustments to the system (e.g. insertion of an electronic mite tracking system in the mesocosms).

Acknowledgements

This work was supported by the FEADER (Fonds Européen Agricole pour le Développement Rural) European funds, the French Rhone-Alpes-Auvergne Region [grant number RRHA 160116CR0820011] and the CNPO (Comité National pour la Promotion de l'OEuf, France) (EIP project 'Bioptipou') as well as the European Regional Development Fund provided by the Interreg North-West Europe Programme (project 'MiteControl') supported

this work. Ghais Zriki was supported via a PhD fellowship from the CeMEB LabEx and the French Occitanie Region.

We would like to warmly thank Jordan Dijoux and Sandra Enaud for expert lab technical assistance, Thibault Andrieux (Bioline In vivo) for kindly providing mass-reared astigmatic mites (exp. C) and all the poultry farmers. All the experiments were performed at the “Terrain d’expériences” (TE), a technical facility of the LabEx CeMEB (Montpellier). The authors would also like to warmly thank the IRD research center, and especially Pascal Boutinaud and Nathalie Barougier (“Animalerie IRD Occitanie”) for having welcomed and cared for the birds before their integration in the experiments.

Declarations of interest: none.

References

- Abrams, P.A., 2004. Trait-initiated indirect effects due to changes in consumption rates in simple food webs. *Ecology* 85, 1029–1038.
- Abrams, P.A., 1992. Why don’t predators have positive effects on prey populations? *Evol. Ecol.* 6, 449–457. <https://doi.org/10.1007/BF02270691>
- Axtell, R.C., 1986. Fly management in poultry production: cultural, biological, and chemical. *Poult. Sci.* 65, 657–667.
- Axtell, R.C., Arends, J.J., 1990. Ecology and management of arthropod pests of poultry. *Ann. Rev. Entomol.* 35, 101–126.
- Bale, J.S., van Lenteren, J.C., Bigler, F., 2008. Biological control and sustainable food production. *Phil. Trans. R. Soc. B* 363, 761–776. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2182>
- Begg, G.S., Cook, S.M., Dye, R., Ferrante, M., Franck, P., Lavigne, C., Lövei, G.L., Mansion-Vaquie, A., Pell, J.K., Petit, S., Quesada, N., Ricci, B., Wratten, S.D., Birch, A.N.E., 2017. A functional overview of conservation biological control. *Crop Prot.* 97, 145–158. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.008>
- Brady, J., 1970. The mites of poultry litter: Observations on the bionomics of common species, with a species list for England and Wales. *J. Appl. Ecol.* 7, 331–348. <https://doi.org/10.2307/2401384>
- Caballero-López, B., Bommarco, R., Blanco-Moreno, J.M., Sans, F.X., Pujade-Villar, J., Rundlöf, M., Smith, H.G., 2012. Aphids and their natural enemies are differently affected by habitat features at local and landscape scales. *Biol. Control* 63, 222–229.
- Cardinale, B.J., Harvey, C.T., Gross, K., Ives, A.R., 2003. Biodiversity and biocontrol: emergent impacts of a multi-enemy assemblage on pest suppression and crop yield in an agroecosystem. *Ecol. Lett.* 6, 857–865. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00508.x>
- Chailleux, A., Mohl, E.K., Teixeira Alves, M., Messelink, G.J., Desneux, N., 2014. Natural enemy-mediated indirect interactions among prey species: potential for enhancing biocontrol services in agroecosystems: NE-mediated indirect interactions among prey species for

- biocontrol in agroecosystems. *Pest. Manag. Sci.* 70, 1769–1779. <https://doi.org/10.1002/ps.3916>
- Colfer, R.G., Rosenheim, J.A., 2001. Predation on immature parasitoids and its impact on aphid suppression. *Oecologia* 126, 292–304.
- Dainese, M., Martin, E.A., Aizen, M.A., Albrecht, M., Bartomeus, I., Bommarco, R., Carvalheiro, L.G., Chaplin-Kramer, R., Gagic, V., Garibaldi, L.A., 2019. A global synthesis reveals biodiversity-mediated benefits for crop production. *Sci. Adv.* 5, eaax0121.
- Destoumieux-Garzón, D., Mavingui, P., Boëtsch, G., Boissier, J., Darriet, F., Duboz, P., Fritsch, C., Giraudoux, P., Le Roux, F., Morand, S., 2018. The one health concept: 10 years old and a long road ahead. *Front. Vet. Sci.* 5, 14.
- Dotson, E.M., 1982. The question of parahaploidy or haplo-diploidy in the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (Degeer) (Mesostigmata: Dermanyssidae). MSc thesis, Georgia Southern University.
- Edwards, C.A., 1991. The assessment of populations of soil-inhabiting invertebrates. *Agric. Ecosyst. Environ.* 34, 145–176. doi: 10.1016/0167-8809(91)90102-4.
- Faleiro, D.C.C., Toldi, M., Silva, G.L. da, Ferla, N.J., 2015. The ectoparasites *Dermanyssus gallinae* and *Megninia ginglymura*: bioecology and natural enemies in commercial egg-laying hens. *Syst. Appl. Acarol.* 20, 861. <https://doi.org/10.11158/saa.20.8.3>
- Finke, D.L., Denno, R.F., 2005. Predator diversity and the functioning of ecosystems: the role of intraguild predation in dampening trophic cascades. *Ecol. Lett.* 8, 1299–1306. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00832.x>
- Finke, D.L., Denno, R.F., 2004. Predator diversity dampens trophic cascades. *Nature* 429, 407–410.
- Furlong, M.J., Zalucki, M.P., 2010. Exploiting predators for pest management: the need for sound ecological assessment. *Entomol. Exp. Appl.* 135, 225–236.
- Hinton, J.L., Moon, R.D., 2003. Arthropod populations in high-rise, caged-layer houses after three manure cleanout treatments. *J. Econ. Entomol.* 96, 10.
- Hokkanen, H.M., 2017. Ecostacking: maximising the benefits of ecosystem services. *Arthropod Plant Interact.* 11, 741–742.
- Horn, T.B., Körbes, J.H., Granich, J., Senter, M., Ferla, N.J., 2016. Influence of laying hen systems on the mite fauna (Acari) community of commercial poultry farms in southern Brazil. *Parasitol. Res.* 115, 355–366. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4756-9>
- Huber, K., Zenner, L., Bicout, D.J., 2011. Modelling population dynamics and response to management options in the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Vet. Parasitol.* 176, 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.10.043>
- Huffaker, C., 1958. Experimental studies on predation: dispersion factors and predator-prey oscillations. *Hilgardia* 27, 343–383.
- Janssen, A., Montserrat, M., HilleRisLambers, R., de Roos, A.M., Pallini, A., Sabelis, M.W., 2006. Intraguild predation usually does not disrupt biological control, in: *Trophic and Guild in Biological Interactions Control*. Springer, Dordrecht, pp. 21–44.

- Karp, D.S., Chaplin-Kramer, R., Meehan, T.D., Martin, E.A., DeClerck, F., Grab, H., Gratton, C., Hunt, L., Larsen, A.E., Martínez-Salinas, A., 2018. Crop pests and predators exhibit inconsistent responses to surrounding landscape composition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 115, E7863–E7870.
- Karp, D.S., Daily, G.C., 2014. Cascading effects of insectivorous birds and bats in tropical coffee plantations. *Ecology* 95, 1065–1074.
- Kilpinen, O., Roepstorff, A., Permin, A., Nørgaard-Nielsen, G., Lawson, L.G., Simonsen, H.B., 2005. Influence of *Dermanyssus gallinae* and *Ascaridia galli* infections on behaviour and health of laying hens (*Gallus gallus domesticus*). *Br. Poult. Sci.* 46, 26–34. <https://doi.org/10.1080/00071660400023839>
- Knapp, M., van Houten, Y., van Baal, E., Groot, T., 2018. Use of predatory mites in commercial biocontrol: current status and future prospects. *Acarologia* 58, 7282. <https://doi.org/10.24349/acarologia/20184275>
- Koehler, H.H., 1999. Predatory mites (Gamasina, Mesostigmata), in: *Invertebrate Biodiversity as Bioindicators of Sustainable Landscapes*. Elsevier, pp. 395–410. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-50019-9.50022-4>
- Lesna, I., Sabelis, M.W., van Niekerk, T.G.C.M., Komdeur, J., 2012. Laboratory tests for controlling poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*) with predatory mites in small ‘laying hen’ cages. *Exp. Appl. Acarol.* 58, 371–383. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9596-z>
- Lesna, I., Wolfs, P., Faraji, F., Roy, L., Komdeur, J., Sabelis, M.W., 2009. Candidate predators for biological control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Exp. Appl. Acarol.* 48, 63–80. <https://doi.org/10.1007/s10493-009-9239-1>
- Lindquist, E.E., 1975. *Digamasellus* Berlese, 1905, and *Dendrolaelaps* Halbert, 1915, with descriptions of new taxa of Digamasellidae (Acarina: Mesostigmata). *Can. Entomol.* 107, 1–43. <https://doi.org/10.4039/Ent1071-1>
- Luck, R.F., Shepard, B.M., Kenmore, P.E., 1988. Experimental methods for evaluating arthropod natural enemies. *Ann. Rev. Entomol.* 33, 367–389.
- Macfadyen, S., Davies, A.P., Zalucki, M.P., 2015. Assessing the impact of arthropod natural enemies on crop pests at the field scale. *Insect Sci.* 22, 20–34.
- Maurer, V., Baumgärtner, J., 1992. Temperature influence on life table statistics of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Exp. Appl. Acarol.* 15, 27–40. <https://doi.org/10.1007/BF01193965>
- Maurer, V., Baumgärtner, J., Bieri, M., Fölsch, D.W., 1993. The occurrence of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) in Swiss poultry houses. *Mitt. Schweiz Entomol. Ges.* 66, 87–97. <https://doi.org/10.5169/seals-402510>
- Maurer, V., Baumgärtner, J., 1994. A population model for *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Exp. Appl. Acarol.* 18, 409–22, doi: 10.1007/BF00051523
- Mul, M.F., 2017. Advancing integrated pest management for *Dermanyssus gallinae* in laying hen facilities. PhD thesis, Wageningen University.
- Mul, M.F., van Riel, J.W., Roy, L., Zoons, J., André, G., George, D.R., Meerburg, B.G., Dicke, M., van Mourik, S., Groot Koerkamp, P.W.G., 2017. Development of a model forecasting

- Dermanyssus gallinae*'s population dynamics for advancing Integrated Pest Management in laying hen facilities. *Vet. Parasitol.* 245, 128–140. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.07.027>
- Nordenfors, H., Höglund, J., Uggla, A., 1999. Effects of temperature and humidity on oviposition, molting, and longevity of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *J. Med. Entomol.* 36, 68–72. <https://doi.org/10.1093/jmedent/36.1.68>
- Oliver Jr, J.H., 1966. Notes on reproductive behavior in the Dermanyssidae (Acarina: Mesostigmata). *J. Med. Entomol.* 3, 29–35.
- Ong, T.W.Y., Vandermeer, J.H., 2015. Coupling unstable agents in biological control. *Nat. Commun.* 6, 1–9.
- Opit, G.P., Nechols, J.R., Margolies, D.C., 2004. Biological control of twospotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), using *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) on ivy geranium: assessment of predator release ratios. *Biol. Control* 29, 445–452.
- Pugliese, N., Circella, E., Marino, M., De Virgilio, C., Cocciolo, G., Lozito, P., Cafiero, M.A., Camarda, A., 2019. Circulation dynamics of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Gallinarum biovar Gallinarum in a poultry farm infested by *Dermanyssus gallinae*. *Med. Vet. Entomol.* 33, 162–170.
- R CoreTeam, 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Roy, L., El Adouzi, M., Moraza, M.L., Chiron, G., Villeneuve de Janti, E., Le Peutrec, G., Bonato, O., 2017. Arthropod communities of laying hen houses: An integrative pilot study toward conservation biocontrol of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Biol. Control* 114, 176–194. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.08.006>
- Roy, L., Taudière, A., Papaix, J., Blatrix, R., Chiron, G., Zriki, G., Bonato, O., Barnagaud, J.-Y., 2020. Evaluating the link between predation and pest control services in the mite world. *Ecol. Evol.* 10, 9968–9980 <https://doi.org/10.1002/ece3.6655>
- Sih, A., Englund, G., Wooster, D., 1998. Emergent impacts of multiple predators on prey. *Trends Ecol. Evol.* 13, 350–355. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(98\)01437-2](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01437-2)
- Silva, G.L. da, Ferla, N.J., Toldi, M., Faleiro, D.C.C., 2013. Mite fauna (Acari) associated to commercial laying hens and bird nests in Vale do Taquari, Rio Grande do Sul, Brazil. *Biotemas* 26, 253–262. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2013v26n4p253>
- Skovgård, H., Nachman, G., 2004. Biological control of house flies *Musca domestica* and stable flies *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae) by means of inundative releases of *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Bull. Entomol. Res.* 94, 555.
- Soetaert, K.E., Petzoldt, T., Setzer, R.W., 2010. Solving differential equations in R: package deSolve. *J. Stat. Softw.* 33.
- Sparagano, O.A.E., George, D.R., Harrington, D.W.J., Giangaspero, A., 2014. Significance and control of the Poultry Red Mite, *Dermanyssus gallinae*. *Annu. Rev. Entomol.* 59, 447–466. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162101>
- Stockton, C.M., 2004. Novel approaches to the control of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. PhD thesis, Keele University.

- Symondson, W.O.C., Sunderland, K.D., Greenstone, M.H., 2002. Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Annu. Rev. Entomol.* 47, 561–594. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145240>
- Toldi, M., Faleiro, D.C.C., Da Silva, G.L., Ferla, N.J., 2017. Life cycle of the predatory mite *Cheyletus malaccensis* (Acari: Cheyletidae) fed on Poultry Red Mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Syst. Appl. Acarol.* 22, 1422. <https://doi.org/10.11158/saa.22.9.9>
- Tracy, E.F., 2015. The promise of biological control for sustainable agriculture: a stakeholder-based analysis. *Journal of Science Policy & Governance* 5.
- Tucci, E.C., Prado, A.P., Araújo, R.P., 2008. Development of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) at different temperatures. *Vet. Parasitol.* 155, 127–132. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.04.005>
- Valiente Moro, C., De Luna, C.J., Tod, A., Guy, J.H., Sparagano, O.A., Zenner, L., 2009. The poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*): a potential vector of pathogenic agents, in: *Control of Poultry Mites (Dermanyssus)*. Springer, pp. 93–104.
- Van Baalen, M., Křivan, V., van Rijn, P.C., Sabelis, M.W., 2001. Alternative food, switching predators, and the persistence of predator-prey systems. *Am. Nat.* 157, 512–524.
- Van Emous, R., 2017. Verwachtte schade bloedluis 21 miljoen euro. *Pluimveeweb*. NL. 2017.
- Wang, C., Ma, Y., Huang, Y., Xu, J., Cai, J., Pan, B., 2018. An efficient rearing system rapidly producing large quantities of poultry red mites, *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae), under laboratory conditions. *Vet. Parasitol.* 258, 38–45.
- Wang, C., Ma, Y., Huang, Y., Su, S., Wang, L., Sun, Y., Wan, Q., Li, H., Zhang, S., Øines, Ø., Pan, B., 2019. Darkness increases the population growth rate of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Parasit. Vectors* 12, 213 <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3456-1>
- Wojcik, A.R., Grygon-Franckiewicz, B., Zbikowska, E., Wasielewski, L., 2000. Invasion of *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) in poultry farms in the Toruń region. *Wiad. Parazytol.* 46, 511–515.
- Young, M.R., Moraza, M.L., Ueckermann, E., Heylen, D., Baardsen, L.F., Lima-Barbero, J.F., Gal, S., Gavish-Regev, E., Gottlieb, Y., Roy, L., 2019. Linking morphological and molecular taxonomy for the identification of poultry house, soil, and nest dwelling mites in the Western Palearctic. *Sci. Rep.* 9, 1–8.
- Zriki, G., Blatrix, R., Roy, L., 2020. Predation interactions among henhouse-dwelling arthropods, with a focus on the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Pest. Manag. Sci.* 76, 3711–3719. <https://doi.org/10.1002/ps.5920>

Supplementary data

Supplementary data 1. Description of mesocosm design.

Supplementary data 2. Script used for the simulation of population dynamics of *Dermanyssus gallinae* using the model of Huber et al. (2011) in R. This script allows to set the parameters used by the model (Table 1 of Huber et al. 2011), to calculate the basic reproductive number and the carrying capacity of the adult population and to perform model simulations using the dede function (to solve the delayed differential equations numerically).

Supplementary data 3. Script used for the simulation of population dynamics of *Dermanyssus gallinae* using the model of Huber et al. (2011) in R. This script contains the model equations (a system of delayed differential equations).

Supplementary data 4. Rate of *D. gallinae* population increase (r) as a function of the estimated total number of predators at the end of three experiments in mesocosms. Control modality (initial inoculum with *D. gallinae* alone): circles, test modalities (initial inoculum including an assemblage of native arthropods): crosses and triangles. ρ : Spearman's correlation coefficient

Supplementary data 1:

Mesocosm design

Mesocosms are mite-proof experimental units designed and elaborated by our team in CEFE. They provide continuous housing for a small chick, fed and watered *ad libitum* and offer shelters comparable to the various interstices where mites commonly accumulate (see below). Each mesocosm was provided with a chick. At the beginning of each experiment, we introduced the same known number of mites of a given species, stage and sex into several dozen mesocosms. The mite populations were allowed to develop in this farm-like context over several generations. The increase of the population after a given time in each unit was estimated by a destructive protocol (complete washing of the contents of each unit and filtration of the liquid obtained; see article) to recover all the mites present in the mesocosm at the time of the final treatment and to count them in order to compare the final population size with the size of the initial inoculum.

Each mesocosm (Fig. 1) was composed of a PVC cylinder 40 cm in diameter (39 cm high). A nylon membrane (mesh size 80 μm , 42g/m², Diatex, Saint-Genis Laval, France) sealed with silicone gasket closed the device, allowing gas exchange while being mite proof. A Stilla pipette drinker (UFS, Guichainville, France) and a PVC feed trough were installed in the inner wall and fed from the outside respectively by a water tank and a feed tank made of PVC tubing (10 cm diam.). The feed tank was closed with a screw cap and sealed with a silicone gasket. To continuously house a young chick, a metal plate with holes fixed in a horizontal position 10 cm from the bottom (mimicking the farm slatted floor) allowed the bird to stand above the manure accumulation area and a round plastic tube (1.5 cm diam., 10 cm long) fixed to the metal plate served as a perch.

Three artificial shelters (microhabitats) for the mites were attached to the inner wall of each mesocosm (Fig. 2). Each artificial shelter was made of specially-shaped plastic cups (Smart Espresso, JMG, Basiglio, Italy) containing alternating layers of absorbent paper (Fisherbrand™ grade 600 cellulose general purpose filter paper, Fisher Scientific, Loughborough, England) and Absopress cohesive containment tape (Laboratoire Marque Verte, Villers-lès-Nancy, France).

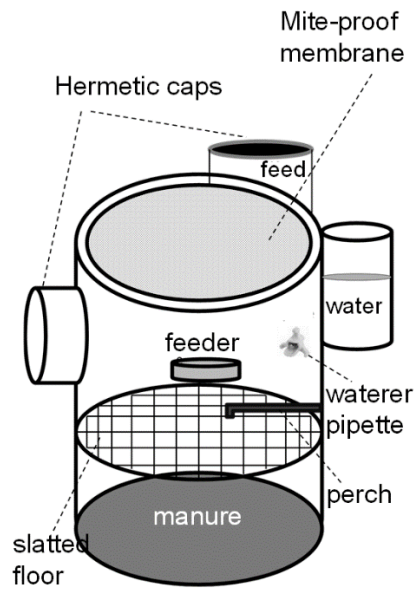


Fig. 1. Overview of the mesocosm arrangement.



Fig. 2. Photograph of an artificial shelter colonized by *D. gallinae* several weeks after the beginning of the experiment. The black and white dots on the surface of the smart espresso cup are the droppings left by dust mites. Photo credit: G. Zriki©.

Supplementary data 2

```
#####
# MAIN PROGRAM
#####
#Script used for the simulation of population dynamics of Dermanyssus gallinae using the model
of Huber et al. (2011) in R.
#This script allows to set the parameters used by the model (Table 1 of Huber et al. 2011), to
calculate the basic reproductive number and the carrying capacity of the adult population and to
perform model simulations using the dede function (to solve the delayed differential equations
numerically).
### LOAD LIBRARIES
#load R library for ordinary differential equation solvers
Library(deSolve)
### INITIALIZE PARAMETER SETTINGS -----
dt <- seq(0,28,1) # set the time points for evaluation (in days)
T1 = 3.8 # duration of egg stage (in days)
sE = 0.763 # survival of eggs
T2 = 4.0 # duration of nymph stage (in days)
sN = 0.850 # survival of nymphs
#Alft=1/0.067 # Adult lifetime (in days)
T3 = 3.0 # interlaying time (in days)
sA = 0.819 # survival of adults over interlaying
nlay <- round(max(dt)/T3) # number of layings
lambda = 5 # Mean intrinsic fecundity (Eggs/female/laying)
s0 = 0.5 # Basic sex ratio
gama = 0.001 # severity
#-----
# Parameters
parms <- c(T1=T1, sE=sE, T2=T2, sN=sN, T3=T3, sA=sA, lambda=lambda, s0=s0, gama=gama,
nlay=nlay) # set the parameters of the model
# Calculate and print Q_0 and K on the screen
Q_0 <- with(as.list(parms),{s0*lambda*sE*sN*sA/(1-sA)})
#Q_0n <- with(as.list(parms),{s0*lambda*sE*sN*sA/((1-sA^(1/(-log(sA))))/(1-sA))})
K <- with(as.list(parms),{log(Q_0)/gama})
#erreur in precedent K du à alpha mal identifié/calculé
#K <- with(as.list(parms),{1+(log((1/(-log(sA))))*Q_0n)/gama})
print(paste("Reproduction number, Q_0 =",Q_0),quote=FALSE)
print(paste("Carrying capacity, K =",K),quote=FALSE)
### SIMULATE THE MODEL -----
# set the initial values for the population
inits <- c(E = 0, N = 100, A = 0)
## Use dede to solve the delayed differential equations numerically. The syntax should be
## dede(initial values, time points, function, parameters, tolerance)
source('red_mite.R')
```

```

simulation <- as.data.frame(dede(y=init, times=dt, func=RMites, parms=parms, atol = 1e-7)) #
this way our set 'parms' will be used as default
#-----
#### see results
summary(simulation)
fix(simulation)
#### PLOT THE OUTPUT
pdf("Experiment D.pdf")
attach(simulation) # this command allows you to refer to the columns of the data frame directly.
plot(dt, E, type="l", col="black", lty="dotdash", ylim=c(0,max(E,N,A)), xlab="day",
ylab="populations")
lines(dt, N, type="l", col="blue", lty="longdash")
lines(dt, A, type="l", col="red")
legend("bottomright", legend=c("Egg","Nym","Adu"), col=c("black","blue","red"),
lty=c("dotdash","longdash","solid"))
detach (simulation) # clean up the search path
dev.off ()
```

```

### Supplementary data 3

```
#=====
FUNCTION DEFINITIONS
##=====
Script used for the simulation of population dynamics of Dermanyssus gallinae using the model of
Huber et al. (2011) in R.
This script contains the model equations (a system of delayed differential equations).

RMites <- function(t, x, parms)
Use: calculates the derivatives for the population dynamics
Input:
t: time
x: vector of the current values of all variables (E, N, A)
parms: vector of all parameter values (mu, ...)
Output:
derivatives: vector of derivatives
Alag1, Alag2 Alag3: values of A at lags 1 and 2
RMites <- function(t, x, parms){
 with(as.list(c(parms,x)),{
 muE <- -log(sE)/T1
 muN <- -log(sN)/T2
 muA <- -log(sA)/T3
 surv1 <- rep(1,nlag)
 surv2 <- rep(1,nlag)
 surv3 <- rep(1,nlag)
 fec1 <- rep(0,nlag)
 fec2 <- rep(0,nlag)
 fec3 <- rep(0,nlag)
 Alag1 <- rep(0,nlag)
 Alag2 <- rep(0,nlag)
 Alag3 <- rep(0,nlag)
 for (i in 1:nlag){
 tlag <- t - i*T3 - T2 - T1
 if(tlag >= 0){
 Alag3[i] <- lagvalue(tlag,3)
 fec3[i] <- lambda*s0*exp(-gama*(Alag3[i] - 1))
 if(i==1){
 surv3[i] <- sA
 }else{
 surv3[i] <- surv3[i-1]*sA
 }
 }else{
 Alag3[i] <- 0
 }
 tlag <- t - i*T3 - T1
 if(tlag >= 0){
```

```

Alag2[i] <- lagvalue(tlag,3)
fec2[i] <- lambda*s0*exp(-gama*(Alag2[i] - 1))
if(i==1){
surv2[i] <- sA
}else{
surv2[i] <- surv2[i-1]*sA
}
}else{
Alag2[i] <- 0
}
tlag <- t - i*T3
if(tlag >= 0){
Alag1[i] <- lagvalue(tlag,3)
fec1[i] <- lambda*s0*exp(-gama*(Alag1[i] - 1))
if(i==1){
surv1[i] <- sA
}else{
surv1[i] <- surv1[i-1]*sA
}
}else{
Alag1[i] <- 0
}
}
dE <- - muE*E + (1/T3)*(sum(fec1*surv1*Alag1) - sE*sum(fec2*surv2*Alag2))
dN <- - muN*N + (1/T3)*sE*(sum(fec2*surv2*Alag2) - sN*sum(fec3*surv3*Alag3))
dA <- - muA*A + (1/T3)*sE*sN*sum(fec3*surv3*Alag3)
derivatives <- c(dE, dN, dA)
list(dy = derivatives, Alag1, Alag2, Alag3)
})
}
#-----

```

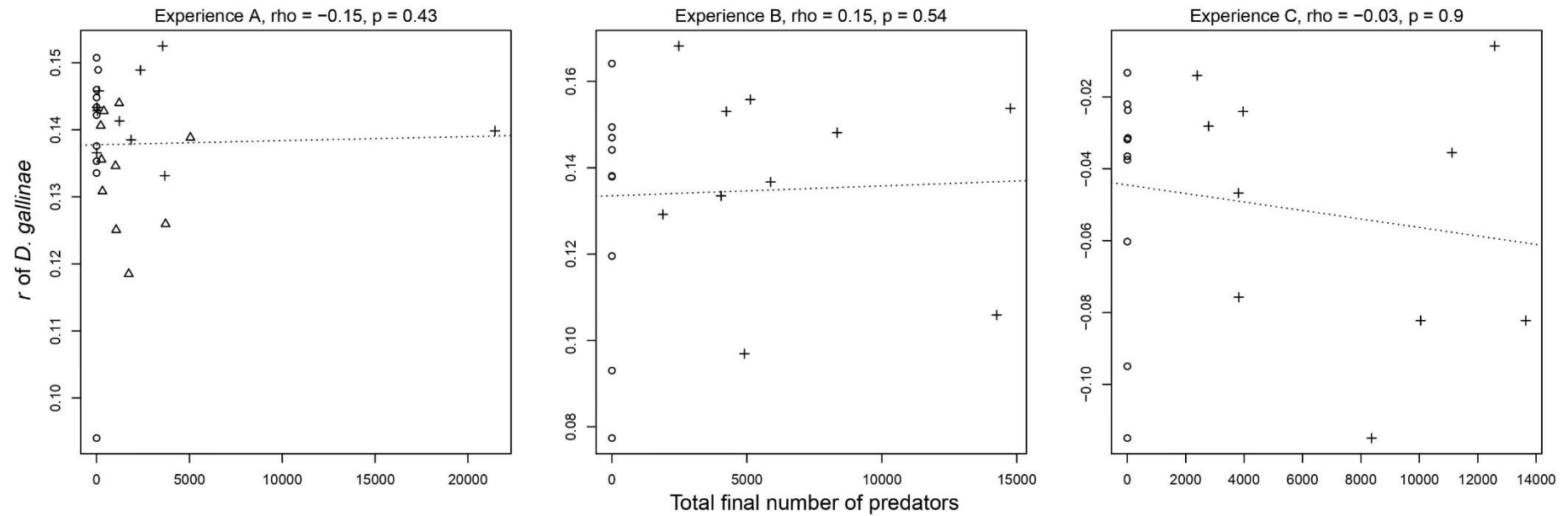
## Supplementary data 4

Rate of *D. gallinae* population increase ( $r$ ) as a function of the estimated total number of predators at the end of three experiments in mesocosms.

Control modality (initial inoculum with *D. gallinae* alone): circles;

test modalities (initial inoculum including an assemblage of native arthropods): crosses and triangles.

rho: Spearman's correlation coefficient.





### **Chapitre 3**

**L'effet potentiel de la lutte biologique par augmentation contre *D. gallinae* sur les espèces natives non-cibles dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses**

### Chapitre 3

Dans les chapitres précédents, nous avons exploré les interactions trophiques au sein de la communauté native d'arthropodes et le rôle de ces arthropodes dans la régulation naturelle de *D. gallinae*. Bien que nos résultats obtenus à travers les différentes approches ne suggèrent pas un rôle régulateur des arthropodes natifs sur les populations de *D. gallinae*, nous ne pouvons pas exclure l'existence d'un tel service écosystémique (même très limité) dans l'agroécosystème « bâtiments d'élevage ». En tous cas, il est important de préserver la biodiversité des arthropodes natifs dans cet agroécosystème et les services potentiels rendus par cette biodiversité comme la régulation naturelle des arthropodes natifs (bioagresseurs ou pas). Bien que la lutte biologique contre les bioagresseurs soit considérée comme la méthode de lutte la moins nocive pour l'environnement, l'introduction des ennemis naturels dans un agroécosystème peut avoir des effets négatifs indirects sur les espèces natives non cibles. Cela peut avoir des conséquences importantes sur la biodiversité de l'agroécosystème et son fonctionnement, comme la perturbation de la régulation naturelle des arthropodes par leurs prédateurs natifs.

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés à l'effet secondaire potentiel de la lutte biologique contre *D. gallinae* sur les arthropodes natifs non cibles. Les deux acariens prédateurs *C. eruditus* et *A. casalis* sont élevés en masse et introduits en grand nombre dans les bâtiments d'élevages pour contrôler les infestations de *D. gallinae*. L'introduction massive de ces prédateurs a pour objectif de contrôler la population de *D. gallinae* par l'action des grands nombres de prédateurs introduits surtout au début de la bande quand les populations de l'acarien hématophage sont petites. L'introduction massive des populations commercialisées à ce moment peut avoir un impact important sur le développement des populations d'arthropodes natifs. Elle peut aussi modifier localement la composition de la communauté native d'arthropodes. Par conséquent, cela peut avoir aussi un effet négatif sur la régulation naturelle de *D. gallinae* par les prédateurs natifs. Différentes interactions potentielles peuvent avoir lieu entre les acariens introduits et les prédateurs natifs (compétition interspécifique, compétition intraspécifique et le croisement avec les populations natives de mêmes espèces). Afin de tester l'effet de l'introduction massive de *C. eruditus* et *A. casalis* sur la communauté naturelle d'arthropodes, nous avons comparé le développement de cette communauté en cas d'introduction massive des acariens prédateurs commercialisés (séparément ou en combinaison) et sans introduction. Nous avons réalisé cette expérience dans le système expérimental de mésocosme qui a permis de simuler les conditions environnementales dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses. Notre étude a permis de tester l'effet potentiel de prédateurs commercialisés sur deux espèces natives d'acariens prédateurs ainsi que de tester la capacité des prédateurs commercialisés de se développer dans un environnement proche de celui des bâtiments d'élevage.

Nos résultats ont permis de démontrer que l'introduction massive des populations de deux acariens prédateurs commercialisés n'a pas d'impact sur le développement des acariens prédateurs natifs appartenant aux mêmes taxons. En outre, les populations commercialisées de ces acariens prédateurs ne semblent pas capables de coloniser un environnement similaire

à celui du bâtiment d'élevage et où leur proie cible (*D. gallinae*) et les acariens prédateurs natifs se développent.

## Article 4

### **Evaluation des effets des agents de lutte biologique sur la communauté native d'arthropodes dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses (Soumis à Biological control)**

**Zriki G., Blatrix R., Dadu L., Soulié A.S., Dijoux J. Degueldre D. Sleenckx & Roy L.**

**Résumé :** L'introduction d'ennemis naturels tels que des arthropodes parasites ou prédateurs dans les agroécosystèmes peut avoir des impacts négatifs sur les espèces natives. Les deux acariens prédateurs *Androlaelaps casalis* et *Cheyletus eruditus* sont actuellement élevés en masse et commercialisés pour la lutte biologique contre le pou rouge *Dermanyssus gallinae* à travers des inoculations massives dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses. Pour évaluer l'impact de l'introduction massive de ces deux prédateurs sur le développement de leurs homologues natifs (*A. casalis* et *Cheyletus* spp.), nous avons réalisé une expérience dans des mésocosmes qui simulent l'environnement d'un bâtiment d'élevage et qui permettent à *D. gallinae* de se développer en présence de son hôte. Nous n'avons détecté aucun effet négatif de l'introduction massive des populations commercialisées sur le développement et l'abondance des populations natives de *A. casalis* et *Cheyletus* spp. Cette pratique de lutte biologique contre *D. gallinae* semble être compatible avec la conservation de la communauté native des acariens. En présence de populations de *D. gallinae* et de prédateurs natifs homologues développées de manière satisfaisante, nous n'avons pas détecté d'effet significatif des acariens prédateurs commercialisés sur la croissance des populations de prédateurs natifs. Les populations commercialisées d'*A. casalis* et *C. eruditus* ne se sont pas développées sous les conditions de mésocosmes proches de celles des bâtiments d'élevage. Cela suggère l'importance d'étudier la capacité des populations commercialisées à survivre sous les conditions environnementales des bâtiments d'élevage.

# No deleterious effect of inundative releases of biological agents on native arthropod assemblages in poultry farms: a mesocosm experiment

Authors and affiliations: Ghais Zriki<sup>a\*</sup>, Rumsais Blatrix<sup>a</sup>, Liza Dadu<sup>a</sup>, Anne-Sophie Soulié<sup>a</sup>, Jordan Dijoux<sup>a</sup>, David Degueldre<sup>a</sup>, Nathalie Sleenckx<sup>b</sup>, Lise Roy<sup>a</sup>

<sup>a</sup> CEFE, Univ Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Univ Paul Valéry Montpellier 3, Montpellier, France

<sup>b</sup> Experimental Poultry Centre, Geel, Belgium

Author e-mails: GZ [ghais.zriki@cefe.cnrs.fr](mailto:ghais.zriki@cefe.cnrs.fr); RB [rumsais.blatrix@cefe.cnrs.fr](mailto:rumsais.blatrix@cefe.cnrs.fr); LD [liza.dadu@gmail.com](mailto:liza.dadu@gmail.com); ASS [anne-sophie.soulie@cefe.cnrs.fr](mailto:anne-sophie.soulie@cefe.cnrs.fr); JD [Jordan.dijoux@gmail.com](mailto:Jordan.dijoux@gmail.com); DD [david.degueldre@cefe.cnrs.fr](mailto:david.degueldre@cefe.cnrs.fr); NS [nathalie.sleenckx@provincieantwerpen.be](mailto:nathalie.sleenckx@provincieantwerpen.be); LR [lise.roy@univ-montp3.fr](mailto:lise.roy@univ-montp3.fr)

\*Corresponding author: Ghais Zriki. E-mail: [ghais.zriki@cefe.cnrs.fr](mailto:ghais.zriki@cefe.cnrs.fr)

Address: CEFE, 1919 route de Mende, 34000 Montpellier, France.

## Abstract

Augmentative biological control relies on the inundative release of natural enemies of pests that are usually mass-reared in the laboratory. This practice substantially reduces the environmental impact of pest control in agriculture by reducing the use of insecticides. However, there are many reasons to expect more or less deleterious effects on biodiversity: if the enemy is not specific to the pest, the release of large populations of predators can directly affect native assemblages through the predation process itself and or through competition with their native counterparts. In addition, mass-reared populations of enemies generally come from gene pools that are different from native populations and may, through the effects of hybridization, alter their population dynamics. On the other hand, during mass rearing, populations of natural enemies to be released are subject to different selection pressures from those in the field and may be less adapted than native populations to farm ecosystems. These effects are generally very difficult to assess in agro-ecosystems themselves due to the multiplicity of factors. In order to assess the effects of inundative releases of generalist predatory mites on native assemblages that colonize poultry houses from the surrounding environment, we conducted an experiment over several generations of mites using mesocosms mimicking a piece of a henhouse (mite-proof units, each housing one hen). No deleterious effects on native populations of *Androlaelaps casalis* and *Cheyletus* spp. have been detected from the mass introduction of marketed populations of *A. casalis* and *C. eruditus*. The mass introduction of marketed predatory mites against *D. gallinae* appears to be compatible with the conservation of native arthropod assemblages. The mass-reared populations of *A. casalis* and *C. eruditus* did not establish their populations under conditions which otherwise allowed their native counterparts (same taxa) to do so.

Keywords: augmentative biological control, Poultry Red Mite, predatory mite, inundative releases

## 1. Introduction

Biological control in general limits the environmental impact of agricultural activity by reducing pesticide inputs while maintaining control of pests on crops and livestock (Tracy et al 2015). The conservation or introduction of natural enemies of pests or their augmentation by inundative releases are the main biological control practices (Bales et al. 2008). However, with the exception of conservation biological control, these practices can generate drastic changes in receiving ecosystems through the introduction of non-native species or populations (Louda et al. 2003, Jennings et al. 2017). The native assemblages that develop in the target agro-ecosystems or even in the landscapes that contain them (natural or semi-natural areas surrounding or nested within agro-ecosystems) may be affected by invasion phenomena by non-native species or other phenomena associated with massive releases of exogenous populations. This may not only affect the regulating (often ignored) ecosystem service provided by natural enemies of pests that naturally occur in agroecosystems, but also the integrity of surrounding natural ecosystems and associated biodiversity. Anticipating the side effects of biological control makes it possible to preserve both the instrumental value of biodiversity and its intrinsic value, two different but complementary points of view (Reyers et al. 2012). Ensuring the integrity of biodiversity per se (intrinsic value) within the framework of biological control should even be the first priority, before that of the instrumental parts according to Simberloff and Stiling (1996).

The risk of deleterious effects on biodiversity is significantly lower when adding populations of natural enemies already present (biological control by inundative augmentation) than when introducing non-native natural enemies (classical biological control) (Lynch et al. 2001, van Lenteren 2012). However, the study of these risks remains rather limited in general (Messing et al. 2006). In the framework of inundative biological control, one can expect secondary effects due to intraspecific competition induced by inundative releases of populations of natural enemies generally coming from gene pools different from the native ones, to hybridization during secondary contact allowed by the releases, and to indirect interactions, notably density-dependent interactions (Pearson and Callaway 2005). Since mass-released biocontrol agents are usually not meant to become established in the environment, they can be expected to cause only a transient effect in the environment (Lynch et al. 2001, Van Lenteren et al., 2006, 2003). Nevertheless, it is not excluded that the transient activity drastically affects non-target populations and produces longer-term effects, for instance in case of massive hybridization. In addition, inundative releases of predators or parasitoids in the field may in some cases lead to species establishment (Boivin et al., 2006; Fernando et al., 2010; Newton and Odendaal, 1990). Biocontrol agents have been assessed as posing a high risk to non-target species when they are generalist with a high potential for establishment and interaction with non-target organisms (Van Lenteren et al., 2003). Without going so far as to sound an excessive alarm, as biological control is always more virtuous than 'chemical' control according to van Lenteren (2012), the responsible implementation of new means of pest control implies the upstream assessment of the risks of unwanted side effects, even for biological control by inundative augmentation.

Inundative biological control of the ectoparasite *Dermanyssus gallinae* has been applied for just over a decade in layer hen farming using mass-reared generalist predatory mites (Knapp et al. 2018). *D. gallinae* is the most damaging parasite to egg production in Europe (Chauve, 1998, Sparagano et al. 2014). It is a haematophagous mite that feeds on the blood of resting birds, causing irritation, restlessness and weight loss (Kilpinen et al., 2005), and sometimes anaemia and death of the birds. The annual economic loss associated with *D. gallinae* infestations has been estimated at 130 million Euros in the European Union (van Emous et al 2005). European legislation on public health and the environment increasingly restricts the application of synthetic acaricides, in particular since Regulation (EC) No 396/2005 regulating maximum residue limits in food products of animal origin in 2005. This considerably increases the interest in alternative methods such as biological control (Marangi et al., 2012; Sparagano et al., 2014), which is lagging far behind in livestock production compared to crops (Mul 2017). As far as we know, the compatibility of an inundative release of predatory mites with the conservation of native arthropod assemblages in poultry farms and their potential effect on the natural regulation of pests has not been studied to date. However, arthropod assemblages in poultry houses are relatively diverse and abundant (Brady, 1970; Lesna et al., 2009; Roy et al., 2017), and include predators of the target pest (Zriki et al. 2020, Roy et al. 2020). In addition, flows of arthropods exist between poultry houses and the surrounding environment via flying insects and phoretic arachnids (Roy et al. 2017). Local and surrounding biodiversity could therefore be substantially affected by inundative biological control of *D. gallinae*.

Androlis® and Taurrus® are commercially available populations of predatory mites inoculated by inundative releases in poultry farms against *D. gallinae* (Knapp et al., 2018). These two populations belong to *Androlaelaps casalis* (Berlese) (Mesostigmata: Laelapidae) and *Cheyletus eruditus* (Schränk) (Trombidiformes: Cheyletidae) respectively. These mites are both known to be generalist predators of other mites. In particular those belonging to the families Acaridae and Glycyphagidae (Astigmata) are thought to be their main prey (Barker, 1991, 1968; Solomon, 1969). *Androlaelaps casalis* can also feed on other predatory mites, beetle larvae, nematodes and even inert elements such as brewer's yeast (Barker 1968; Mustafa et al. 2016; Zriki et al. 2020). Unintended effects could therefore be produced by predation on other members of native assemblages. *Androlaelaps casalis* and *Cheyletus* spp. are also among the most frequent and abundant predatory taxa in poultry manure and litter (Brady 1970; Roy et al. 2017) and are capable of reciprocal predation in vitro (Zriki et al. 2020). While the ecosystem service of regulation by native predators in laying hen farms has not been unambiguously demonstrated, the existence of interactions between predators and *D. gallinae* in the field suggests that it may exist (Roy et al., 2020). A diversity of interactions between massively inoculated predatory mites and native predators could occur and affect the regulating service.

Intraguild predation was shown to have negligible (Brown, 2003; Obrycki et al., 1998) or deleterious (Croft and MacRae, 1993; Eubanks et al., 2002; Schausberger and Walzer, 2001) effects on biocontrol agents or on native predators, and consequently may affect the functioning of the receiving ecosystem. If the predator-to-predator predation observed in

vitro by Zriki et al. (2020) is expressed in the field, the inundative release of populations of these species could paradoxically generate undesired defects of natural regulation. Furthermore, given that the populations of the two species commercialized come from environments other than poultry houses, hybridization between these populations and native populations could alter the demographic dynamics of these natural enemies by producing individuals maladapted to the poultry environment. In particular, the marketed *A. casalis* population is derived from a population collected from wild birds and belongs to a different mitochondrial haplotype group (16S rRNA) than populations found in the field (Roy et al. 2017). Finally, certain direct or indirect interactions could be detrimental to the ecosystem in general, beyond the farm buildings. Indeed, the massive introduction of predatory mites in laying hen farms is notably applied from the beginning of the hen flock, just once the empty period is over and when the density of *D. gallinae* is the lowest (Knapp et al., 2018). Since other native arthropods seem to colonize the poultry houses from this moment (Roy et al. 2017), this practice is likely to substantially affect them, and thus the possible ecosystem service provided by predators. This could in turn alter the surrounding biodiversity, through exchanges between the poultry house and the surrounding environment.

The objective of our study is to examine the effect of the inundative release of predatory mites *A. casalis* and *C. eruditus* on the native assemblage of arthropods, whether introduced separately or in combination. For this we conducted a population-level, multi-generation experiment in small experimental units, hereafter called mesocosms, that mimic the biotic and abiotic conditions of henhouses. We examined the development of commercially available populations of two predatory mites (Androlis® and Taurrus®) after inundative releases and determined how the inundative release of predatory mites affected the development of native arthropod species, with a focus on the most closely related mites (*A. casalis* and *Cheyletus* spp.).

## **2. Materials and methods**

### **2.1. Study system**

#### **2.1.1. Design of poultry mesocosms**

Mesocosms were designed to mimic part of a laying hen house. They consisted of polyvinyl chloride cylinders, 40 cm in diameter and 39 cm in height, with a plastic bottom and a lid vented by a nylon membrane that was impermeable to mites and insects (80 µm mesh size) (Fig. 1). Each mesocosm was equipped with a circular metal plate (38 cm diameter) with holes, fixed 12 cm from the bottom and fitted with a plastic perch 20 cm long. Each mesocosm housed a chick between one- and seven-week old (specific-pathogen-free chicks; PA12 White Leghorn lineage; Plateforme d'Infectiologie Expérimentale; INRAE, Nouzilly, France). All chicks came from a single clutch. The chick was introduced into the mesocosm through a side door (20 cm in diameter) hermetically closed by a plastic lid sealed with a silicone gasket. Water and feed were supplied *ad libitum* to the chick by tanks that could be filled from the outside. The chicks were fed with organic feed (Evalis poussin B Farine and Evalis pondeuse B Basse cour Farine, Chabeuil, France). Water was provided to the chick through a horizontal Stilla Nipple drinker screwed through the mesocosm wall. Three plastic smartcup (Smart Espresso,

SE6006 CLEAR, JMG, Milan, Italy) were fixed against the mesocosm wall, in the upper part, 5 cm below the nylon membrane and filled with successive layers of folded pieces of filter paper and cohesive tape (3.5 cm X 11 cm) (Absopress, Laboratoire Marque Verte, Villers-lès-Nancy, France) to imitate the shelters where *D. gallinae* accumulates in farms. These will later be referred to as 'standardized shelters'.

### **2.1.2. Native arthropod assemblage**

To constitute the native arthropod assemblage in our experiment, we included the most common taxa in manure and litter from poultry houses, based on the inventory previously carried out in France (Roy et al., 2017). The composition of the native assemblage of arthropods is presented in Table 1. The selected arthropod taxa were collected from three laying hen farms located in the Drôme department (Rhône-Alpes-Auvergne region, France) and included in the study by Roy et al. (2017). Arthropods were extracted from manure immediately before being introduced into mesocosms. The manure samples were dry sieved using a series of stacked sieves with decreasing mesh size (from 1000 µm to 180 µm) and then the arthropods were collected in Eppendorf tubes containing a piece of moist filter paper. The distinction between mite taxa was based on the binocular stereomicroscope morphospecies defined in Roy et al. (2017) for sorting live mites. Astigmatic mites are ubiquitous microbivorous mites and are one of the most abundant taxa in poultry manure (Brady, 1970; Horn et al., 2018; Roy et al., 2017). In order to have a sufficient number of astigmatic mites for the experiment, a population of mites was extracted from the manure one month before the start of the experiment, kept pure and multiplied in the laboratory on yeast flakes. A single population of *D. gallinae* was sampled in one of the three selected layer farms for mesocosm inoculation.

### **2.1.3. The commercialized predators**

Buckets of Androlis® (*A. casalis*) and Taurrus® (*C. eruditus*) were provided by Koppert Biological Systems (The Netherlands). The predators were extracted from the substrate and separated from the mite prey with which they are packaged following the same protocol as the manure mites (see above).

## **2.2 Mesocosm experiment**

The experiment consisted in introducing predefined arthropod assemblages with known initial numbers of individuals belonging to several taxa into mesocosms, according to five modalities (10 mesocosms per modality): 1. *D. gallinae* + astigmatic mites (control), 2. *D. gallinae* + astigmatic mites + other native arthropods (control), 3. *D. gallinae* + astigmatic mites + other native arthropods + Taurrus®, 4. *D. gallinae* + astigmatic mites + other native arthropods + Androlis®, 5. *D. gallinae* + astigmatic mites + other native arthropods + Taurrus® + Androlis®. A 1- to 2-week old chick, *D. gallinae* and astigmatic mites were introduced at t0. Other native arthropods and commercialized predators were introduced at t + 7 days. Females of *D. gallinae* were thus given a head start over predators. The chicks were removed from the mesocosms at t + 50 days. The experiment ended at t + 57 days by placing each mesocosm at - 20°C to inactivate the arthropods prior to extraction. The week without chick allowed *D. gallinae* to digest blood and was meant to reduce the potentially destructive effect of sieving

on freshly blood-fed mites. The experiment was conducted at controlled temperature ( $26 \pm 1$  °C during the day and  $23 \pm 1$  °C at night, 10:14 light:dark) and humidity ( $75 \pm 10\%$  RH).

The inoculum size for *D. gallinae* (25 adult females) was fixed so as to obtain a final estimated number of *D. gallinae* per mesocosm smaller than the range of values that had induced chick mortality in preliminary tests. For the other native arthropods, inoculum size (~2000 individuals for astigmatic mites, 10 to 50 for the other species, Table 1) was fixed to be consistent with the corresponding relative proportions reported from field inventories by Roy et al. (2017). Inoculum size for commercialized predators (300 individuals) was determined by adjusting the recommendations on Androlis® and Taurus® applications for backyard poultry houses with the surface area available for the chick in the mesocosms ( $0.126 \text{ m}^2$ ).

## **2.3. Evaluation of arthropod population sizes at the end of mesocosm experiments**

### **2.3.1. Extraction and isolation of arthropods from mesocosms**

To isolate arthropods from the coarse substrate (manure + dust + feed + feathers) accumulated in the mesocosms, we applied a flotation method used to extract arthropods from soil samples (Edwards, 1991) combined with wet washing and sieving. We adapted the extraction procedure to our specific substrates and to the volume of the mesocosm contents as follows. The nylon membrane, of which the outer surface was thoroughly cleaned, was cut. Standardized shelters were removed from the mesocosm and treated separately (see below) to distinguish aggregated arthropods in this specific small area from those found in other parts of the experimental unit. All internal surfaces of the mesocosm and internal accessories were thoroughly rinsed. The rinsing liquid and the coarse substrate were mixed in water and homogenized by hand. A 20-minute pause allowed complete wetting of the substrate, after which the mixture was subjected to sieving using an electric sieve shaker (AS 200 basic, Retsch GmbH, Haan, Germany) with continuous water rinsing and controlled vibrations (80% amplitude) to maximize the separation of arthropods from organic particles (sieve mesh sizes decreasing from top to bottom: 2000, 1000, 800, 600, 400 and 300  $\mu\text{m}$ ). All residues on the six sieves were floated in water saturated with NaCl to isolate arthropods. Flotation was applied separately for filtrates from 2000-600  $\mu\text{m}$  sieves and 400-300  $\mu\text{m}$  sieves. The supernatant was filtered through an 80 $\mu\text{m}$  nylon mesh membrane and the arthropods isolated from each sieve category were collected in vials containing 96% ethanol.

To extract arthropods from the standardized shelters, the cups and their contents were rinsed with water. The rinsing liquid was subjected to the same sieving treatment as described above, except that arthropods were recovered directly from the 400-300  $\mu\text{m}$  sieve (no large arthropods in the standardized shelters) into a 96% ethanol flask without passing through a flotation step. As the cups contained only arthropods (no feed or manure), there was no need to separate the mites from other elements.

### **2.3.2. Counting Arthropods and Assessing Final Population Size**

Arthropods other than mites were directly identified and counted on the large-mesh sieves. For mites, abundance was estimated by extrapolating the number of individuals from counts in four aliquots of  $1/33^{\text{rd}}$  and four of  $1/75^{\text{th}}$  volume for artificial shelters and coarse substrate

respectively. The mites were counted in each aliquot according to the method of Roy et al (2017): they were filtered through a nylon membrane, spread out on the membrane, identified and counted with a stereomicroscope. As the eggs, larvae and protonymphs cannot be unambiguously attributed to the mite morphospecies, we counted only adult-like individuals (deutonymphs and adult males and females). Astigmatic mites were introduced as a ubiquitous component of the poultry environment (role in manure degradation and potential prey of introduced predators). Thus, their development was assessed by a qualitative control, but abundance was not estimated. They reached a high level of development in all mesocosms.

### **2.3.3. Discrimination between species of *Cheyletus***

Morphological discrimination between species of Cheyletid mites is impossible on living individuals because it requires microscopic preparation. To distinguish *C. eruditus* (the commercialized species) from other Cheyletid mite species, we sampled up to 54 individuals of *Cheyletus* sp. per mesocosm (half from standardized shelters and half from the rest of the mesocosm). Each of these mites was mounted with Hoyer medium on microscopic slides (Jeppson et al. 1975). They were identified using a phase contrast and interference microscope (Leica DMLB, Leica Microsystems SAS, Nanterre, France) and dichotomous keys (Fain and Bochkov, 2001; Gerson et al., 1999; Volgin, 1989). The total number of individuals was estimated for each cheyletid species based on the proportion of each species in the analyzed sample and the total number of cheyletid mites in the mesocosm.

### **2.4. Data Analysis**

In order to determine whether or not establishment had occurred, a relative increase index (RII) was calculated for each taxon and within each mesocosm as follows:  $RII = N_f / N_i$  with  $N_f$  = the final number of individuals and  $N_i$  = the initial number of individuals introduced into the mesocosm (inoculum size). A taxon was considered to have successfully established its population if  $RII > 1$ . For the following statistical analysis, we included only those mite taxa that developed in almost all mesocosms of all modalities. Taxa that did not develop ( $RII \leq 1$ ) or for which development was very sporadic were excluded from the analysis.

To determine the effect of inundative release of mass-reared predatory mites on the development of native arthropod predators, the final abundances of each taxon were compared among modalities using Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney U test with false discovery rate correction for multiple testing. All statistical analyses were performed in R software (Team, 2019).

**Table 1.** Id Identity, trophic position and inoculum size of arthropod species used in mesocosms. BSM, Binocular stereoscopic microscope morpho-species, codes as in Roy et al. 2017

| Species identity                                                                                            | BSM morpho-species | Family                                | Order             | Guild #                                                  | Inoculum size (individual per mesocosm) |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------|-------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Arthropod native community                                                                                  |                    |                                       |                   |                                                          |                                         |
| <i>Dermanyssus gallinae</i>                                                                                 | -                  | Dermanyssidae                         | Mesostigmata      | hematophagous                                            | 25 adult females                        |
| <i>Dendrolaelaps presepum</i> (dominant species), <i>Dendrolaelaps</i> spp. and unidentified Digamasellidae | ME1                | Digamasellidae                        |                   | predator (nematode and early stages of small arthropods) | 20                                      |
| <i>Androlaelaps casalis</i>                                                                                 | ME2                | Laelapidae                            |                   | Predator                                                 | 20 adult females                        |
| <i>Proctolaelaps parascolyti</i>                                                                            | ME4                | Melicharidae                          |                   | fungivorous                                              | 20                                      |
| <i>Macrocheles muscaedomesticae</i>                                                                         | ME7                | Macrochelidae                         |                   | predator (fly eggs and first-instar larvae)              | 10 adult females                        |
| Uropodina spp.                                                                                              | UR2                | Uropodidae, Trematuridae, Nenteriidae |                   | predator and detritivorous                               | 50                                      |
| <i>Cheyletus</i> spp.                                                                                       | -                  | Cheyletidae                           | Trombidiformes    | predator                                                 | 20 adult females                        |
| Astigmata                                                                                                   | -                  | Acaridae                              | Sarcoptiformes    | microbivore and detritivorous                            | 2000 Ca                                 |
| <i>Lamprochernes nodosus</i>                                                                                | -                  | Chernetidae                           | Pseudoscorpionida | predator                                                 | 10                                      |
| <i>Carcinops pumilio</i>                                                                                    | -                  | Histeridae                            | coleoptera        | predator                                                 | 10                                      |
| Flies                                                                                                       | -                  | sphaeroceridae                        | Diptera           | coprophagous                                             | 10                                      |
| Mass-reared mites                                                                                           |                    |                                       |                   |                                                          |                                         |
| <i>Androlaelaps casalis</i> (Androlis®)                                                                     | ME2                | Laelapidae                            | Mesostigmata      | predator                                                 | 300 adult females                       |
| <i>Cheyletus eruditus</i> (Taurus®)                                                                         | -                  |                                       |                   | predator                                                 | 300 adult females                       |
| # : Predators able to feed on <i>D. gallinae</i> in vitro (Zriki et al. 2020)                               |                    |                                       |                   |                                                          |                                         |

**Table 2.** Distribution of successful population establishment in mesocosm according to modality and arthropod species. Establishment is considered successful when the relative increasing rate is >1. Values are numbers of mesocosms with successful establishment

| Treatment                                                                                         | Arthropod species  |                          |                   |                       |                           |                       |                  |                 |                   |                     |       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------------------|-------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|------------------|-----------------|-------------------|---------------------|-------|
|                                                                                                   | <i>D. gallinae</i> | <i>Dendrolaelaps spp</i> | <i>A. casalis</i> | <i>P. parascolyti</i> | <i>M. Muscadomesticae</i> | <i>Uropodina spp.</i> | <i>Cheyletus</i> | <i>Acaridae</i> | <i>L. nodosus</i> | <i>Car. pumilio</i> | Flies |
| 1) PRM control                                                                                    | 9/9                | -                        | -                 | -                     | -                         | -                     | -                | 9/9             | -                 | -                   | -     |
| 2) Native-community control                                                                       | 10/10              | 0/10                     | 10/10             | 0/10                  | 3/10                      | 4/10                  | 10/10            | 10/10           | 0/10              | 10/10               | 0/10  |
| 3) One mass-reared predator (Taurrus®)                                                            | 10/10              | 0/10                     | 10/10             | 0/10                  | 2/10                      | 4/10                  | 10/10            | 10/10           | 0/10              | 10/10               | 0/10  |
| 4) One mass-reared predator (Androlis®)                                                           | 10/10              | 0/10                     | 9/10              | 0/10                  | 1/10                      | 7/10                  | 9/10             | 10/10           | 0/10              | 8/10                | 0/10  |
| 5) Two mass-reared predators                                                                      | 10/10              | 0/10                     | 9/10              | 0/10                  | 0/10                      | 8/10                  | 9/10             | 10/10           | 0/10              | 10/10               | 0/10  |
| N/n= number of replicate with successful development /number of valid replicates in the treatment |                    |                          |                   |                       |                           |                       |                  |                 |                   |                     |       |

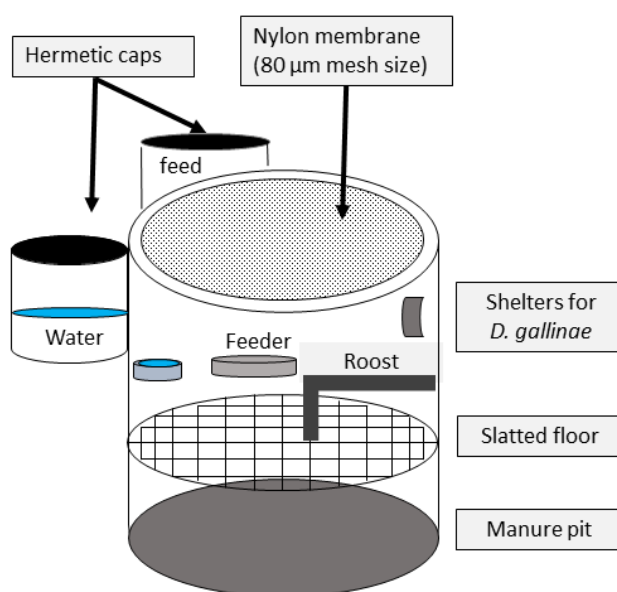
### 3. Results

Of the 50 replicates, only one (in the control modality 1) was excluded from analyses due to a leak in the water reservoir that resulted in the immersion of the substrate in the bottom of the mesocosm. Populations of *D. gallinae*, astigmatic mites, *A. casalis*, *Cheyletus* spp. and *Car. pumilio* successfully established ( $R_{II} > 1$ ) in 100, 100, 95, 95, 95% of the replicates respectively (Table 2). It should be noted that only larvae and nymphs of *Car. pumilio* were recorded in addition to the adults initially introduced into the mesocosms. The duration of the experiment (50 days) slightly exceeded the duration of egg to adult development in this beetle at 25.5°C (ca. 40 days; Morgan et al. 1983). This suggests that the population started to develop but was not quite successful in establishing itself under our conditions. Establishment of populations of *M. muscaedomesticae* and *Uropodina* spp. was irregular and occurred in 12.5% and 57.4% of the replicates respectively. Populations of flies, *Dendrolaelaps* spp., *Proctolaelaps parascolyti* and *Lamprochernes nodosus* did not establish in any of the mesocosms (Table 2).

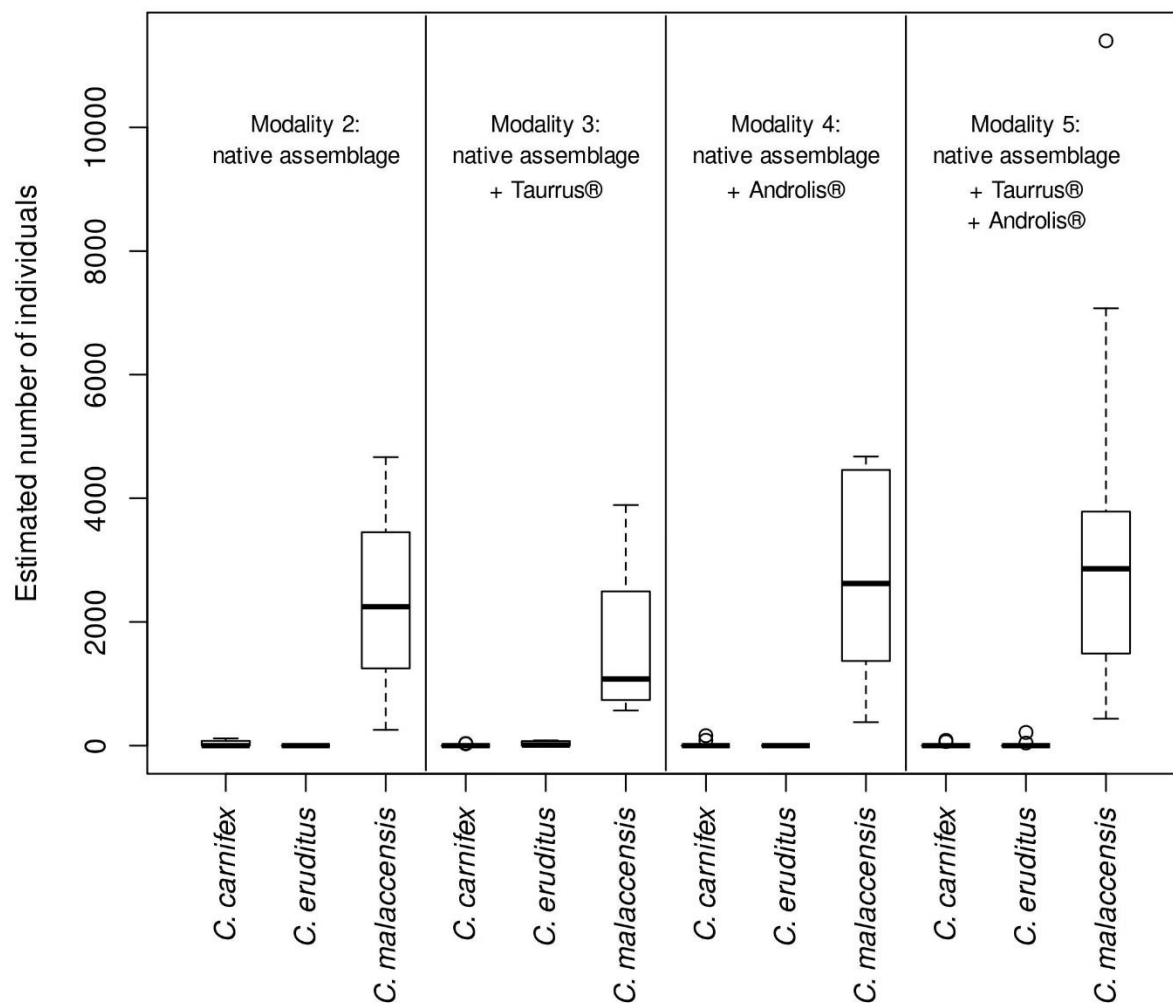
Morphological identification of cheyletid individuals from developed populations in mesocosms showed the presence of three species in our experiment, namely *C. eruditus*, *C. carnifex* and *C. malaccensis*. *Cheyletus malaccensis* was largely dominant in mesocosms in all modalities with predators (98.3% of *Cheyletus* mites identified). *Cheyletus carnifex* (1.0%) and *C. eruditus* (0.7%) represented a very small portion of the cheyletid mite community (Fig. 2). Since *Cheyletus eruditus* was only detected in mesocosms where Taurrus® had been introduced, the native cheyletid mite community used in this study appears to be composed of *C. malaccensis* and *C. carnifex* only.

The abundance of *Cheyletus* spp. did not differ significantly among modalities with predators (2 to 5), whether provided with inundative releases of Taurrus® or not (Kruskal-Wallis chi-square = 1.4,  $p = 0.72$ ; Fig. 3A). The  $R_{II}$ s of *Cheyletus* spp. were significantly higher in modalities 2 and 4 (native population of *Cheyletus*) than in modalities 3 and 5 (native population of

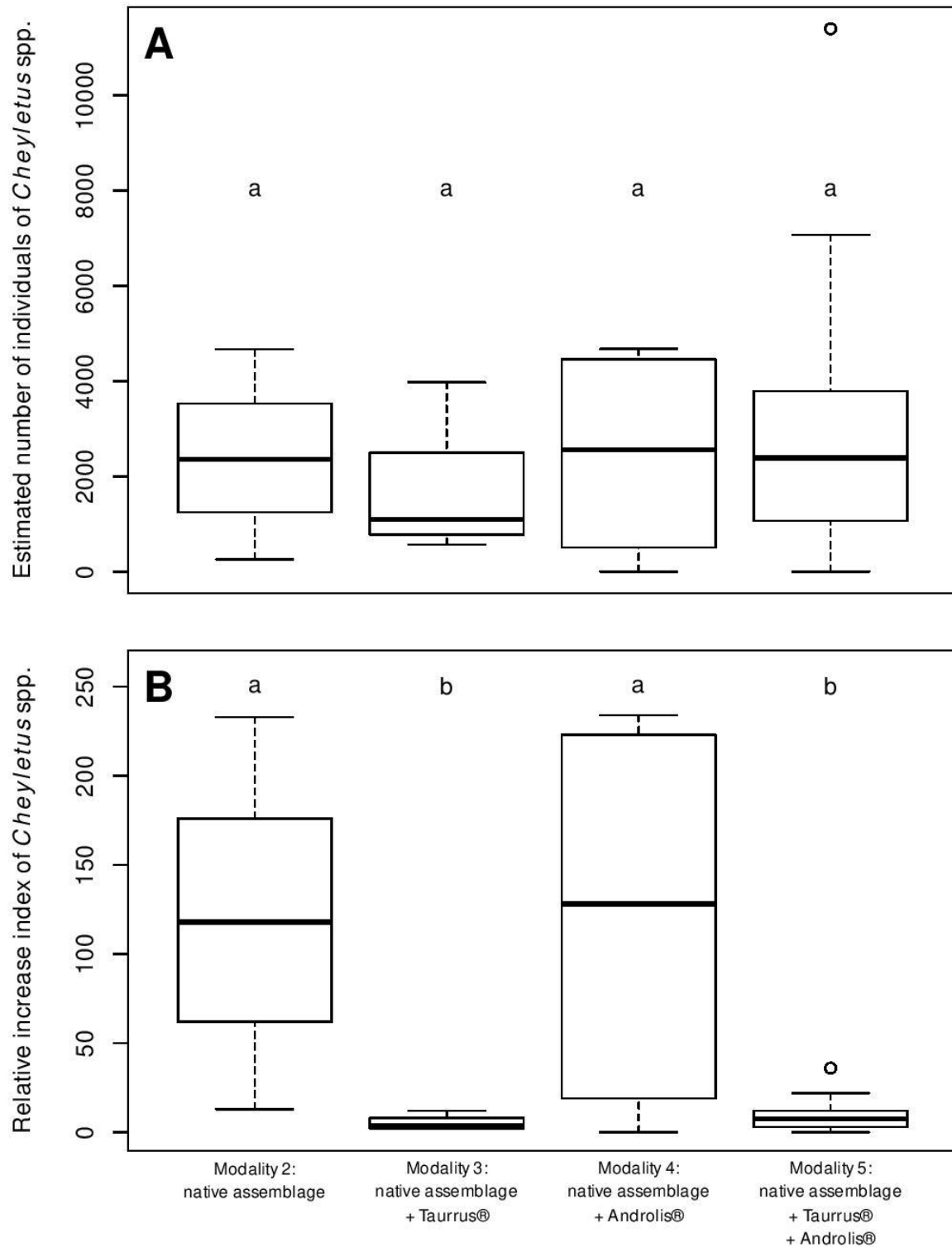
*Cheyletus* spp. + mass-reared population of *C. eruditus*) (Kruskal-Wallis chi-square = 19.2,  $p = 0.00024$ ; adjusted  $p$ -values of Mann-Whitney U tests  $> 0.05$  for modality pairs 2-4 and 3-5, and  $< 0.05$  for all other pairs, Fig. 3B). Morphological discrimination between mass-reared and native populations of *A. casalis* is not possible and hybridization between mass-reared and native populations is very likely since the L1 lineage to which Androlis® belongs (Roy et al. 2017) is by far the most frequent in poultry farms (unpublished data). Therefore it did not seem relevant to measure the haplotypic frequency and we were unable to distinguish between mass-reared and native populations of *A. casalis*. However the abundance of *A. casalis* in mesocosms did not differ significantly among the four modalities with predators (Kruskal-Wallis chi-square = 0.6,  $p = 0.89$ , Fig. 4A). In contrast, RIs were significantly higher in modalities 2 and 3 (native population of *A. casalis*) than in modalities 4 and 5 (native + mass-reared population of *A. casalis*) (Kruskal-Wallis chi-square = 28.1,  $p = 3.5 \times 10^{-6}$ ; adjusted  $p$ -values of Mann-Whitney U tests  $> 0.05$  for modality pairs 2-3 and 4-5, and  $< 0.001$  for all other pairs, Fig. 4B). Finally, the abundance of *Car. pumilio* did not differ significantly between modalities with predators (Kruskal-Wallis chi-square = 5.1,  $p = 0.17$ ).



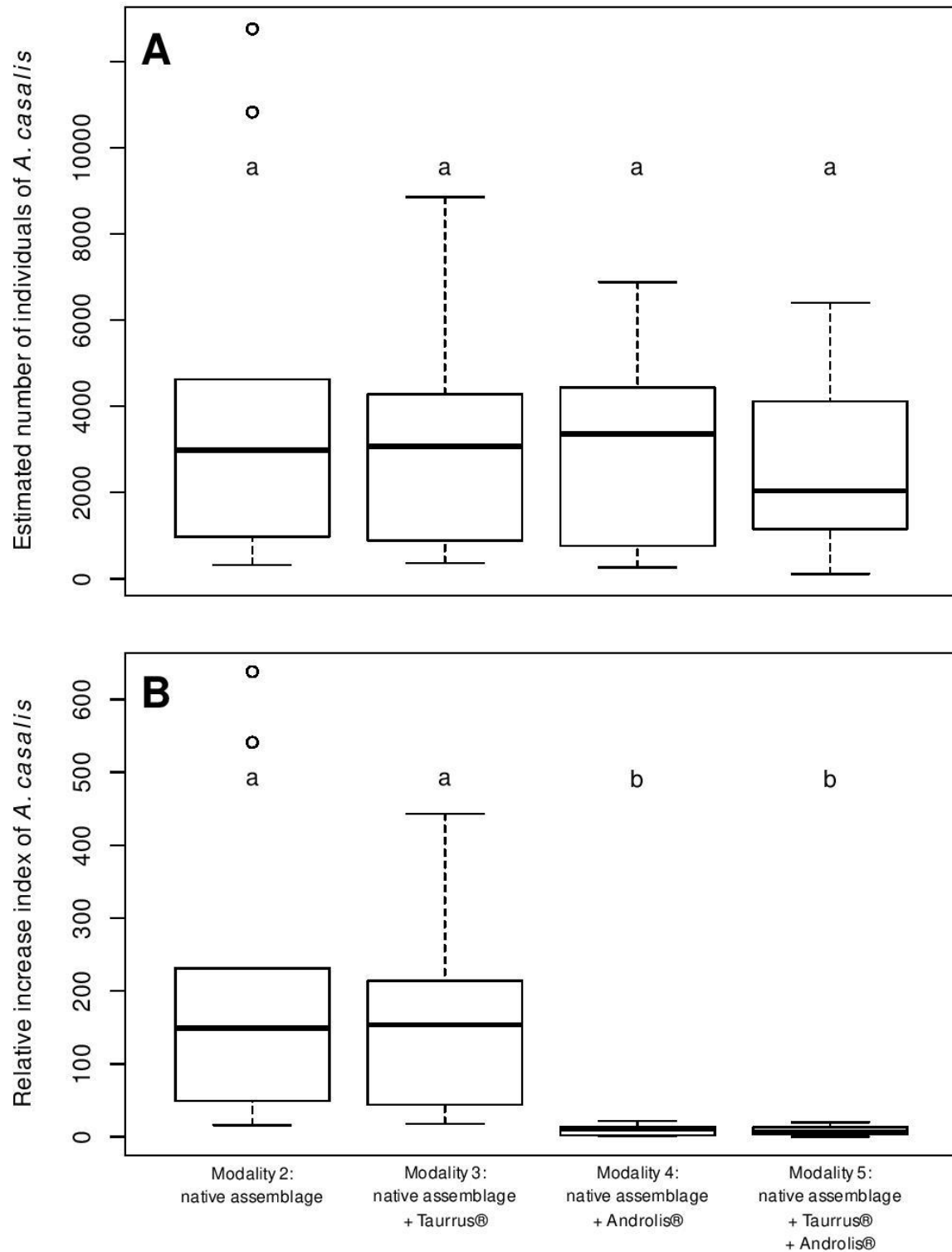
**Figure 1.** Poultry mesocosm design



**Figure 2.** Estimated abundance of each *Cheyletus* species after 50 days of development time in mesocosms according to four modalities. Boxes represent interquartile range with the median as a thick line, whiskers represent data range and empty circles represent outliers.



**Figure 3.** Population development of *Cheyletus* spp. in the four modalities with predators after 50 days of development time in mesocosms. (A) Total abundance estimated based on final counts. (B) Relative increase index (final abundance / size of initial inoculum). Different lowercase letters indicate significant differences.



**Figure 4.** Population development of *A. casalis* in the four modalities with predators after a 50 days of development time in mesocosms. (A) Total abundance estimated based on final counts. (B) Relative increase index (final abundance / size of initial inoculum). Different lowercase letters indicate significant differences.

## 4. Discussion

This study tested for the first time the effect of inundative releases on native arthropod fauna in a poultry context. The three focal taxa, the prey *D. gallinae* and the predators *A. casalis* and *Cheyletus* spp., have developed substantially in the mesocosms, with an increase in adult-like individuals of more than a hundredfold within a 50-day interval for both predators. Considering the mean egg-to-adult development times according to Barker (1968) and Mustafa et al (2016) between 25.0° and 26.5°C in *A. casalis* and according to Toldi et al. (2017) in *C. malaccensis*, the first native predator may have produced about 7 consecutive generations while the second probably produced less than 3 during our experiment. However, the fecundity of the former is much lower than that of the latter (ten times less eggs laid per female in *A. casalis* than in *C. malaccensis* according to Mustafa et al. 2016 and Toldi et al. 2017), which probably explains the RIs within comparable ranges.

### 4.1. Mass-reared populations of predators did not establish in the mesocosms.

At the end of the experiment, *C. eruditus* (the mass-reared species) was rare and represented only 0.7 % of the cheyletid mite community in the mesocosms. In contrast, *C. malaccensis* was the most abundant, even in modalities inoculated with Taurrus®. As Taurrus® is composed exclusively of *C. eruditus*, we are confident that the population of mass-reared *Cheyletus* did not establish in the mesocosms. As discrimination was not possible between mass-reared and native populations of *A. casalis*, we cannot state the origin of the individuals that occurred in the mesocosms at the end of the experiments for this species. If the mass-reared populations had established, we would expect an abundance of *A. casalis* much higher in modalities inoculated with Androlis® than in modalities without inundation because the mesocosms in the former received 300 and 20 individuals from mass-reared and native populations respectively, compared to only 20 native individuals in the later. In addition, RI should have been similar between the two modalities as the preys were unlikely to be limiting (astigmatic mites were highly abundant). Our results showed that the abundance of *A. casalis* did not differ between modalities with and without inundation, and that the RIs were much higher in modalities without inundation than with inundation. Thus, it seems unlikely that the mass-reared population of *A. casalis* established in the mesocosms, although we cannot exclude that it has replaced or hybridized with the native population to some extent.

The successful development of native *A. casalis* and cheyletid mites (*C. malaccensis* and *C. carnifex*) in the mesocosms confirms the suitability of biotic and abiotic conditions for the development of these taxa. The developmental failure of the mass-reared populations of *C. eruditus* and *A. casalis* may be due to their maladaptation to the biotic and/or abiotic conditions of a poultry environment in which their native counterparts develop very well. This can be explained not only by the non-poultry origin of the initial populations (Androlis® stems from a population taken from nests of wild starlings; Koppert, pers. comm.), but also by the involuntary selection exerted by mass rearing: artificial rearing conditions may lead to the alteration of traits important for their ability to survive, mate, feed and reproduce efficiently under field conditions (Bertin et al., 2017; Cerutti and Bigler, 1995; Hopper et al., 1993) as a result from inbreeding and random genetic drift with loss of genetic diversity (Paspati et al., 2019; Poe and Enns, 1970; Rasmussen et al., 2018). Marketed populations of *A. casalis* and *C.*

*eruditus* may have suffered some loss of genetic diversity as demonstrated for the predatory mite *Amblyseius swirski* (Paspatis et al. 2019). This may be accompanied by the loss of traits important for their development under field conditions.

#### **4.2. Inundative releases of mass-reared predators are unlikely to affect native populations of the same taxa and biodiversity.**

The failure of commercial populations to establish within the 50 days of the mesocosm experiment is consistent with the transient presence of the massively released biocontrol agents previously noted in culture systems (Lynch et al. 2001). In addition, the mass introduction of populations of *A. casalis* and *C. eruditus*, alone or in combination, had no detectable effect on the development and establishment of native populations of the corresponding taxa. This too is consistent with the few published studies on the unintended effects of inundative biological control identified by Lynch et al. (2001) on crops. Since *A. casalis*, *C. eruditus* and *C. malaccensis* are generalist predators (Barker, 1991; Cebolla et al., 2009; McKinley, 1963; Sinha, 1988), we may have expected competition and/or intraguild predation to occur between mass-reared and native populations, although it was unlikely given the non-limiting density of shared astigmatic mite prey. At least for cheyletid mites we can tell that such processes did not impact native populations as mostly individuals of the native species remained at the end of the experiment. Conversely, the elimination of mass-reared populations by native predators is not excluded for either taxa.

In a previous experiment, native *Cheyletus* spp. and *A. casalis* showed high predation rates on *D. gallinae* in *in-vitro* tests, and both preferred *D. gallinae* over astigmatic mites (Zriki et al. 2020). In addition, abundances of *Cheyletus* spp. and *A. casalis* covaried with that of *D. gallinae* in farm buildings, suggesting trophic relationships between populations of these two predators with *D. gallinae* in the field (Roy et al. 2020). These two studies used *Cheyletus* samples from the same source buildings as in the present experiment, and thus dealt most likely with the species *C. malaccensis*. As *C. malaccensis* and *A. casalis* are among the most frequent and abundant predatory mites of *D. gallinae* in poultry farms and in bird nests (Faleiro et al., 2015; Silva et al., 2013; Lesna et al. 2009, Brady 1970, Roy et al. 2017), we may expect a regulating service of their native populations on *D. gallinae* on farms, although such an effect has still not been demonstrated. As no effect of inoculation with Androlis® and Taurus® was detected on these native predatory species, we assume that their potential regulating service on *D. gallinae* should not be affected by the massive release of their mass-reared counterparts.

Given the wild origin of Androlis® and its development over dozens of generations in the laboratory, an important genetic differentiation could be expected between *A. casalis* from Androlis® and *A. casalis* native to poultry buildings. Indeed, the mass-reared population exhibits a mitochondrial haplogroup (16S rRNA) different from the two present in poultry farms (*A. casalis* L1 and L2; Roy et al. 2017). As for *Cheyletus* spp., the differentiation between mass-reared and native populations seems considerable (different Linnaean species). In the present experiments, reciprocal introgression by cross-breeding between them (secondary contact) may have occurred in modalities with inundation with the mass-reared population. Hybridization may be expected to either boost (heterosis) or reduce (outbreeding depression)

population growth. Although the initial propagule was 16 times larger in inundation mesocosms than in no-inundation mesocosms, the final population sizes were similar in the different modalities. Therefore, it is rather unlikely that heterosis occurred. On the other hand, the effect of depression is not entirely excluded for *A. casalis*. It can be excluded for *Cheyletus*, because if hybrids of the Linnaean species had been present in large numbers, it is likely that we would have been confronted with morphological ambiguities. This suggests a very reduced risk of pollution of the native populations of *A. casalis* and *Cheyletus* and of the surrounding biodiversity by exogenous gene pools.

#### **4.3. System Incompleteness and Limitations of our Study**

Despite the remarkable potential of our experimental system to mimic a portion of a poultry farm, taxa other than our focus predators failed to develop. Although mesocosms did not exactly mimic abiotic conditions of poultry houses, we believe biotic incompleteness of the ecosystem is likely to have strongly impeded development of the failing taxa. As we did not inoculate nematodes or fungi and birds were specific-pathogen-free, typical preys of *Dendrolaelaps* spp. and *Macrocheles muscadomesticae* and some fungi potentially fed upon by *Proctolaelaps parascolyti* and Uropodina were probably absent. Furthermore, the manure layer is produced by the chick as it grows, so it is very thin and relatively dry at the beginning. This can substantially hinder the development of fly eggs and larvae at the beginning of the experiment, and consequently hinder the development of their predators, namely *M. muscadomesticae*, *Car. Pumilio* and maybe pseudoscorpions. Even though we have shown that *L. nodosus* was able to feed on *D. gallinae* *in vitro* (Zriki et al. 2020), typical conditions in poultry houses, available prey types in particular, may not suit this species since it seems quite infrequent in poultry farms (Roy et al. 2017) and has been classified as a nidixenous species only occurring accidentally in bird nests (Christophoryová et al. 2011).

In short, we are aware that the biocenosis of the mimed ecosystem was incomplete in our experimental system and we remind that our objective was not to mimic the entire system. We cannot be entirely certain that inundative releases of mites into poultry houses do not have a deleterious effect on all non-target wildlife since we have tested only part of the possible interactions in a poultry ecosystem.

#### **5. Conclusion and Perspectives**

Our study undeniably provides crucial answers to the questions raised. Although *A. casalis* and *Cheyletus* spp. are generalist predators capable of mutual predation, inundative releases of their mass-reared populations did not show any detectable effect on their native populations. This result is even more important that a recent study suggests the native populations could be involved in the ecosystem service of parasite regulation (Roy et al 2020). Short-term persistence of mass-reared populations in the environment is likely to explain their lack of effect on native populations, as with other mass-released biocontrol agents in agriculture. The mass introduction of mass-reared predators of *D. gallinae* appears to be compatible with the conservation of native mite communities, whether they are likely to provide ecosystem services (instrumental value of natural enemies) or not (intrinsic value of biodiversity). However, we tested only a small subset of possible interactions in a poultry ecosystem.

Inundative releases of the two tested control agents may still have deleterious effects on other non-target wildlife.

These results are one more example of the low risk associated with biological control by inundative augmentation already observed in cropping systems (Lynch et al. 2001). In addition, the study provides valuable information as it is the first of its kind on a livestock production system. Commercial poultry houses are a major interface between agricultural production and the environment since they are largely colonized by arthropods from the surrounding environment, but also since poultry manure is widely spread in agricultural landscapes as an organic fertilizer. Further investigation should focus on the consequences of inundative releases on more complete reconstructions of avicultural ecosystems and of putative introgression of native populations by inoculated populations. Taking advantage of the results of our mesocosm experiment, hen house scale investigation could now be conducted to address these issues.

### **CRedit authorship contribution statement**

**Ghais Zriki:** Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation, Writing - original draft. **Rumsais Blatrix:** Conceptualization, Methodology, Supervision, validation, Writing - review & editing, Formal analysis. **Liza Dadu:** Investigation. **Anne-Sophie Soulié:** Investigation. **Jordan Dijoux:** Investigation. **David Degueldre:** Investigation, Resources. **Nathalie Sleenckx:** Writing - review & editing, Funding acquisition. **Lise Roy:** Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Supervision, Validation, Writing - review & editing, Resources, Funding acquisition.

### **Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest.

### **Ethical Requirement**

All experiments involving hens were conducted in compliance with the regulations on animal experimentation (reference number of the Languedoc Roussillon ethics committee n°36; project number: APAFIS#1549-201805251343835v3).

### **Acknowledgements**

Financial support for this work was provided by the European Regional Development Fund provided by the Interreg North-West Europe Programme (project 'MiteControl', grant number NWE 756) supported this work. Ghais Zriki was supported via a PhD fellowship from the CeMEB LabEx (an ANR "Investissements d'avenir" program: ANR-10-LABX-04-01) and the French Occitanie Region.

The authors would like to thank A.H. Vargas Navarro and colleagues from Koppert B.V. (The Netherlands) for providing mass-reared predatory mites and advices. All the experiments were performed at the "Terrain d'expériences" (TE), a technical facility of the LabEx CeMEB. The authors would also like to warmly thank Pascal Boutinaud and Nathalie Barougier ("Animalerie IRD Occitanie") for having welcomed and cared for the birds before their integration in the experiments. The authors would also like to warmly thank Prof. S. Kreiter,

Prof. M.S. Tixier and Dr. Ph. Auger (CBGP, Montpellier), for allowing us to use their equipment and for hosting GZ for the realization of the microscopic identifications.

## References

- Bale, J.S., van Lenteren, J.C., Bigler, F., 2008. Biological control and sustainable food production. *Phil. Trans. R. Soc. B* 363, 761–776. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2182>
- Barker, P.S., 1991. Bionomics of *Cheyletus eruditus* (Schrank) (Acarina: Cheyletidae), a predator of *Lepidoglyphus destructor* (Schrank) (Acarina: Glycyphagidae), at three constant temperatures. *Can. J. Zool.* 69, 2321–2325. <https://doi.org/10.1139/z91-326>
- Barker, P.S., 1968. Bionomics of *Androlaelaps casalis* (Berlese) (Acarina: Laelapidae) a predator of mite pests of stored cereals. *Can. J. Zool.* 46, 1099–1102. <https://doi.org/10.1139/z68-157>
- Bertin, A., Pavinato, V.A.C., Parra, J.R.P., 2017. Fitness-related changes in laboratory populations of the egg parasitoid *Trichogramma galloi* and the implications of rearing on factitious hosts. *BioControl* 62, 435–444. <https://doi.org/10.1007/s10526-017-9795-y>
- Boivin, G., Kölliker-Ott, U.M., Bale, J.S., Bigler, F., 2006. Assessing the establishment potential of inundative biological control agents, in: *Environmental Impact of Invertebrates for Biological Control of Arthropods: Methods and Risk Assessment*. Wallingford, UK, pp. 98–113. <https://doi.org/10.1079/9780851990583.0098>
- Brady, J., 1970. Litter mites and their effects on poultry. *Worlds Poult. Sci. J.* 26, 658–668. <https://doi.org/10.1079/WPS19700022>
- Brown, M.W., 2003. Intraguild responses of aphid predators on apple to the invasion of an exotic species, *Harmonia axyridis*. *BioControl* 48, 141–153. <https://doi.org/10.1023/A:1022660005948>
- Cebolla, R., Pekár, S., Hubert, J., 2009. Prey range of the predatory mite *Cheyletus malaccensis* (Acari: Cheyletidae) and its efficacy in the control of seven stored-product pests. *Biol Control* 50, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.03.008>
- Cerutti, F., Bigler, F., 1995. Quality assessment of *Trichogramma brassicae* in the laboratory. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 75, 19–26. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1995.tb01905.x>
- Chauve, C., 1998. The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778): current situation and future prospects for control. *Vet. Parasitol.* 79, 239–245. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00167-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00167-8)
- Christophoryová, J., Krumpálová, Z., Krištofík, J., Országhová, Z., 2011. Association of pseudoscorpions with different types of bird nests. *Biologia* 66. <https://doi.org/10.2478/s11756-011-0072-8>
- Croft, B.A., MacRae, I.V., 1993. Biological control of apple mites: impact of *Zetzellia mali* (Acari: Stigmaeidae) on *Typhlodromus pyri* and *Metaseiulus occidentalis* (Acari: Phytoseiidae). *Environmental entomology* 22, 865–873. <https://doi.org/10.1093/ee/22.4.865>
- Edwards, C.A., 1991. The assessment of populations of soil-inhabiting invertebrates. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 34, 145–176. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(91\)90102-4](https://doi.org/10.1016/0167-8809(91)90102-4)
- Emous, R.A.V., Fiks-Van Niekerk, T., Mul, M.F., 2006. 11 million damage for the sector: enquiry into the cost of mites to the poultry industry. *De pluimveehouderij* 35, 8–9. <https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/340267>

- Eubanks, M.D., Blackwell, S.A., Parrish, C.J., Delamar, Z.D., Hull-Sanders, H., 2002. Intraguild predation of beneficial arthropods by red imported fire ants in cotton. *Environmental Entomology* 31, 1168–1174. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-31.6.1168>
- Fain, A., Bochkov, A.V., 2001. A review of some genera of Cheyletid mites (Acari: Prostigmata) with descriptions of new species. *Acarina* 9, 47–95.
- Faleiro, D.C.C., Toldi, M., Silva, G.L. da, Ferla, N.J., 2015. The ectoparasites *Dermanyssus gallinae* and *Megninia ginglymura*: bioecology and natural enemies in commercial egg-laying hens. *Systematic and Applied Acarology* 20, 861. <https://doi.org/10.11158/saa.20.8.3>
- Fernando, L.C.P., Waidyaratne, K.P., Perera, K.F.G., De Silva, P., 2010. Evidence for suppressing coconut mite, *Aceria guerreronis* by inundative release of the predatory mite, *Neoseiulus baraki*. *Biological control* 53, 108–111. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.11.003>
- Gerson, U., Fain, A., Smiley, R.L., 1999. Further observations on the Cheyletidae (Acari), with a key to the genera of the Cheyletinae and a list of all known species in the family. *Bulletin de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique (Entomology)* 69, 35–86.
- Hopper, K.R., Roush, R.T., Powell, W., 1993. Management of genetics of biological-control introductions. *Annual Review of Entomology* 38, 27–51. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.38.010193.000331>
- Horn, T.B., Granich, J., Horn Körbes, J., Liberato Da Silva, G., Ferla, N.J., 2018. Mite fauna (Acari) associated with the poultry industry in different laying hen management systems in Southern Brazil: a species key. <https://doi.org/10.24349/acarologia/20184233>
- Jennings, D.E., Duan, J.J., Follett, P.A., 2017. Environmental Impacts of Arthropod Biological Control: An Ecological Perspective, in: *Environmental Pest Management: Challenges for Agronomists, Ecologists, Economists and Policymakers*. John Wiley & Sons, UK, pp. 105–129. <https://doi.org/10.1002/9781119255574.ch5>
- Jeppson, L.R., Keifer, H.H., Baker, E.W., 1975. Mites injurious to economic plants. Univ of California Press. <https://doi.org/10.1525/9780520335431>
- Kilpinen, O., Roepstorff, A., Permin, A., Nørgaard-Nielsen, G., Lawson, L.G., Simonsen, H.B., 2005. Influence of *Dermanyssus gallinae* and *Ascaridia galli* infections on behaviour and health of laying hens (*Gallus gallus domesticus*). *Br Poult Sci* 46, 26–34. <https://doi.org/10.1080/00071660400023839>
- Knapp, M., van Houten, Y., van Baal, E., Groot, T., 2018. Use of predatory mites in commercial biocontrol: current status and future prospects. *Acarologia* 58, 7282. <https://doi.org/10.24349/acarologia/20184275>
- Lesna, I., Sabelis, M.W., van Niekerk, T.G.C.M., Komdeur, J., 2012. Laboratory tests for controlling poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*) with predatory mites in small 'laying hen' cages. *Exp Appl Acarol* 58, 371–383. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9596-z>
- Lesna, I., Wolfs, P., Faraji, F., Roy, L., Komdeur, J., Sabelis, M.W., 2009. Candidate predators for biological control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Exp Appl Acarol* 48, 63–80. <https://doi.org/10.1007/s10493-009-9239-1>
- Louda, S.M., Pemberton, R.W., Johnson, M.T., Follett, P., 2003. Nontarget effects—the Achilles' heel of biological control? Retrospective analyses to reduce risk associated with biocontrol

- introductions. Annual review of Entomology 48, 365–396.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.ento.48.060402.102800>
- Lynch, L.D., Hokkanen, H.M.T., Babendreier, D., Bigler, F., Burgio, G., Gao, Z.H., Kuske, S., Loomans, A., Menzler-Hokkanen, I., Thomas, M.B., 2001. Insect Biological Control and Non-target Effects: Perspective, in: Evaluating Indirect Ecological Effects of Biological Control. Wallingford: CABI. p. 99. <https://doi.org/10.1079/9780851994536.0099>
- Marangi, M., Morelli, V., Pati, S., Camarda, A., Cafiero, M.A., Giangaspero, A., 2012. Acaricide residues in laying hens naturally infested by red mite *Dermanyssus gallinae*. PLoS one 7, e31795. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031795>
- McKinley, D.J., 1963. The morphology and biology of *Haemolaelaps casalis* Berlese (Acarina; Mesostigmata). Annals and Magazine of Natural History 6, 65–76.  
<https://doi.org/10.1080/00222936308651326>
- Messing, R., Roitberg, B., Brodeur, J., 2006. Measuring and predicting indirect impacts of biological control: competition, displacement and secondary interactions, in: Environmental Impact of Invertebrates for Biological Control of Arthropods: Methods and Risk Assessment. pp. 64–77.  
<https://doi.org/10.1079/9780851990583.0064>
- Morgan, P.B., Patterson, R.S., Weidhaas, D.E., 1983. A life-history study of *Carcinops pumilio* Erichson (Coleoptera: Histeridae). Journal of the Georgia Entomological Society 18, 353–359.
- Mul, M.F., 2017. Advancing integrated pest management for *Dermanyssus gallinae* in laying hen facilities. Wageningen University. <https://doi.org/10.18174/394911>
- Mustafa, A.M., Shalaby, F.F., Yassin, E.M.A., Khalil, A.M., Eissa, Y.A.E., Faten, E.S., 2016. Biological studies of Laelapid predacious mites, *Androlaelaps casalis*, Berlese and *Laelaps astronomicus* Koch on two food types under three temperature degrees. Plant Prot 1, 111–119.
- Newton, P.J., Odendaal, W.J., 1990. Commercial inundative releases of *Trichogrammatoidea cryptophlebiae* [Hym.: Trichogrammatidae] against *Cryptophlebia leucotreta* [Lep.: Tortricidae] in citrus. Entomophaga 35, 545–556. <https://doi.org/10.1007/BF02375089>
- Obrycki, J.J., Giles, K.L., Ormord, A.M., 1998. Interactions between an introduced and indigenous coccinellid species at different prey densities. Oecologia 117, 279–285.  
<https://doi.org/10.1007/s004420050659>
- Paspati, A., Ferguson, K.B., Verhulst, E.C., Urbaneja, A., González-Cabrera, J., Pannebakker, B.A., 2019. Effect of mass rearing on the genetic diversity of the predatory mite *Amblyseius swirskii*. Entomol Exp Appl eea.12811. <https://doi.org/10.1111/eea.12811>
- Pearson, D.E., Callaway, R.M., 2005. Indirect nontarget effects of host-specific biological control agents: implications for biological control. Biological Control 35, 288–298.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.05.011>
- Poe, S.L., Enns, W.R., 1970. Effects of inbreeding on closed populations of predaceous mites (Acarina: Phytoseiidae). Can. Entomol. 102, 1222–1229. <https://doi.org/10.4039/Ent1021222-10>
- Rasmussen, L.B., Jensen, K., Sørensen, J.G., Sverrisdóttir, E., Nielsen, K.L., Overgaard, J., Holmstrup, M., Kristensen, T.N., 2018. Are commercial stocks of biological control agents genetically depauperate? – A case study on the pirate bug *Orius majusculus* Reuter. Biological Control 127, 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.08.016>

- Reyers, B., Polasky, S., Tallis, H., Mooney, H.A., Larigauderie, A., 2012. Finding common ground for biodiversity and ecosystem services. *BioScience* 62, 503–507.  
<https://doi.org/10.1525/bio.2012.62.5.12>
- Roy, L., El Adouzi, M., Moraza, M.L., Chiron, G., Villeneuve de Janti, E., Le Peutrec, G., Bonato, O., 2017. Arthropod communities of laying hen houses: An integrative pilot study toward conservation biocontrol of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Biol Control* 114, 176–194. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.08.006>
- Roy, L., Taudière, A., Papaïx, J., Blatrix, R., Chiron, G., Zriki, G., Bonato, O., Barnagaud, J.-Y., 2020. Evaluating the link between predation and pest control services in the mite world. *Ecology and Evolution*. <https://doi.org/10.1002/ece3.6655>
- Schausberger, P., Walzer, A., 2001. Combined versus Single Species Release of Predaceous Mites: Predator–Predator Interactions and Pest Suppression. *Biol Control* 20, 269–278.  
<https://doi.org/10.1006/bcon.2000.0908>
- Silva, G.L. da, Ferla, N.J., Toldi, M., Faleiro, D.C.C., 2013. Mite fauna (Acari) associated to commercial laying hens and bird nests in Vale do Taquari, Rio Grande do Sul, Brazil. *Biotemas* 26, 253–262. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2013v26n4p253>
- Simberloff, D., Stiling, P., 1996. How Risky is Biological Control? *Ecology* 77, 1965–1974.  
<https://doi.org/10.2307/2265693>
- Sinha, R.N., 1988. Population dynamics of Psocoptera in farm-stored grain and oilseed. *Can. J. Zool.* 66, 2618–2627. <https://doi.org/10.1139/z88-386>
- Solomon, M.E., 1969. Experiments on predator-prey interactions of storage mites. *Acarologia* 11, 484–503.
- Sparagano, O.A.E., George, D.R., Harrington, D.W.J., Giangaspero, A., 2014. Significance and Control of the Poultry Red Mite, *Dermanyssus gallinae*. *Annu. Rev. Entomol.* 59, 447–466.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162101>
- Team, R.C., 2020. R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Toldi, M., Faleiro, D.C.C., Da Silva, G.L., Ferla, N.J., 2017. Life cycle of the predatory mite *Cheyletus malaccensis* (Acari: Cheyletidae) fed on Poultry Red Mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *saa* 22, 1422. <https://doi.org/10.11158/saa.22.9.9>
- Tracy, E.F., 2015. The promise of biological control for sustainable agriculture: a stakeholder-based analysis. *Journal of Science Policy & Governance* 5.  
[http://www.sciencepolicyjournal.org/uploads/5/4/3/4/5434385/ef\\_tracy\\_2014\\_the\\_promise\\_of\\_biological\\_control\\_for\\_sustainable\\_agriculture\\_a\\_stakeholder-based\\_analysis..pdf](http://www.sciencepolicyjournal.org/uploads/5/4/3/4/5434385/ef_tracy_2014_the_promise_of_biological_control_for_sustainable_agriculture_a_stakeholder-based_analysis..pdf)
- Van Lenteren, J.C., 2012. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl* 57, 1–20.  
<https://doi.org/10.1007/s10526-011-9395-1>
- Van Lenteren, J.C., Babendreier, D., Bigler, F., Burgio, G., Hokkanen, H.M.T., Kuske, S., Loomans, A.J.M., Menzler-Hokkanen, I., Van Rijn, P.C.J., Thomas, M.B., 2003. Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control. *BioControl* 48, 3–38. <https://doi.org/10.1023/A:1021262931608>

- Van Lenteren, J.C., Cock, M.J., Hoffmeister, T.S., Sands, D.P., 2006. Host specificity in arthropod biological control, methods for testing and interpretation of the data, in: Environmental Impact of Invertebrates for Biological Control of Arthropods: Methods and Risk Assessment. CABI Publishing, Wallingford. pp. 38–63. <https://doi.org/10.1079/9780851990583.0038>
- Zriki, G., Blatrix, R., Roy, L., 2020. Predation interactions among henhouse-dwelling arthropods, with a focus on the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. Pest Manag Sci ps.5920. <https://doi.org/10.1002/ps.5920>



## 6 Discussion et Perspectives

### 6.1 Synthèse du travail et des résultats

Dans un agroécosystème, l'identification et l'analyse des interactions trophiques complexes permettent d'avoir des informations centrales pour comprendre les dynamiques des populations d'espèces en interaction, évaluer le rôle de la faune antagoniste dans la régulation des espèces nuisibles et améliorer la lutte biologique et la gestion des bioagresseurs. Les bâtiments d'élevages de poules pondeuses représentent un agroécosystème où l'acarien hématophage *D. gallinae* est un bioagresseur d'une grande importance sanitaire contre lequel les moyens de lutte actuels demeurent globalement insatisfaisants. Bien qu'il existe un certain nombre d'études qui ont suggéré l'importance d'un certain nombre d'arthropodes prédateurs natifs comme agents de lutte biologique prometteurs contre *D. gallinae*, le rôle des arthropodes natifs dans la régulation des populations de *D. gallinae* n'était toujours pas mis en évidence avant cette thèse. La méconnaissance des interactions trophiques au sein de la communauté d'arthropodes native et de l'impact de cette communauté sur *D. gallinae* représentait une grande difficulté pour le développement des pratiques opérationnelles de la lutte biologique comme méthode de lutte alternative respectueuse de l'environnement. Dans le cadre de ma thèse, nous avons contribué à la compréhension de la structure trophique de la communauté native d'arthropodes dans les bâtiments d'élevages de poules pondeuses et du rôle de cette communauté dans la régulation des populations de *D. gallinae*.

Dans le premier chapitre, nous avons utilisé une approche descriptive pour établir le réseau trophique potentiel impliquant *D. gallinae* et les arthropodes natifs des bâtiments d'élevage de poules pondeuses. Nous avons également utilisé une approche corrélative pour explorer le lien entre les interactions de prédation potentielles identifiées *in-vitro* et l'abondance des espèces interactives à l'échelle de l'agroécosystème (le bâtiment d'élevage). L'approche descriptive a permis de montrer que *D. gallinae* pouvait être imbriqué dans les réseaux trophiques potentiels des arthropodes natifs. Dix espèces (morphoespèces pour certains taxa) d'arthropodes prédateurs se sont avérées capables de consommer *D. gallinae* *in-vitro*. A travers les tests *in-vitro*, nous avons pu comparer la fréquence de prédation sur *D. gallinae* entre 12 espèces/morphoespèces de prédateurs natifs et inférer leurs préférences pour le stade (juvéniles ou adultes) et l'état physiologique (fraichement gorgé de sang ou à jeun) de *D. gallinae*. Nous avons également évalué la préférence de ces prédateurs pour la prédation sur *D. gallinae* en présence d'autres espèces de proies natives, notamment les acariens astigmates. Nous avons aussi démontré qu'en absence de leurs proies communes, plusieurs espèces de prédateurs ont été capables de s'engager dans une relation prédateur-proie mono- ou bidirectionnelle. L'ensemble de ces résultats a permis la construction d'un réseau trophique potentiel (quantitatif et qualitatif) des arthropodes natifs des bâtiment d'élevage de poules pondeuses en se focalisant sur *D. gallinae* comme proie. L'approche corrélative nous a permis d'objectiver l'existence sur le terrain (dans les bâtiments d'élevage) d'interactions entre *D. gallinae* et ses acariens prédateurs natifs.

La combinaison des résultats de l'approche descriptive et corrélative a permis de montrer que les interactions de prédateurs identifiées *in-vitro* se traduisent par des

covariations significatives de l'abondance relative entre *D. gallinae* d'une part et les acariens prédateurs *Cheyletus* spp., *Androlaelaps* spp. et *Macrocheles* spp., respectivement, d'autre part, à l'échelle de l'agroécosystème. Cependant, l'omniprésence des trois taxons de prédateurs n'a pas permis de tester l'effet régulateur de ces acariens prédateurs natifs sur les populations de *D. gallinae*. Cela a suggéré la nécessité d'une approche expérimentale pour mesurer l'impact des prédateurs natifs sur les populations de *D. gallinae*.

Dans le deuxième chapitre, nous avons appliqué une approche expérimentale qui a permis de mesurer l'impact des arthropodes natifs sur le développement des populations de *D. gallinae* sur plusieurs générations. Pour s'assurer d'avoir des réponses écologiques pertinentes, nous avons reproduit le système biologique poule-ectoparasite-prédateur dans des mésocosmes et sous des conditions environnementales contrôlées mimant celles des bâtiments d'élevage de poules pondeuses. Cela nous a permis de contrôler la composition et la structure de la communauté initiale d'arthropodes (nombre d'individus de chaque espèce dans l'inoculum). L'approche expérimentale en mésocosmes nous a permis de comparer le développement des populations de *D. gallinae* en présence et en absence de certains assemblages de ses prédateurs et d'autres proies natives sur des durées de plusieurs semaines, correspondant à plusieurs générations du bioagresseur et de la plupart de ses prédateurs. Nous nous sommes concentrés sur les acariens prédateurs (*A. casalis* et *Cheyletus* spp.) et les acariens détritivores (astigmates) comme proies alternatives. Nous avons montré que les acariens prédateurs natifs testés n'ont pas d'un effet détectable sur le développement de *D. gallinae* en présence d'acariens astigmates. L'absence d'un impact négatif de ces acariens prédateurs sur la croissance de la population de *D. gallinae* dans notre expérience n'exclut pas l'existence d'un rôle régulateur de ces prédateurs à l'échelle de l'agroécosystème, mais suggère que l'importance de ce rôle, s'il existe, est limité et dépendant de la présence de proies alternatives.

La perturbation de la colonisation spontanée des bâtiments d'élevage de poules pondeuses par les prédateurs natifs peut avoir des impacts négatifs sur le fonctionnement de l'agroécosystème à travers la modification des interactions trophiques directes ou indirectes liant ces prédateurs avec les autres espèces natives. Dans le troisième chapitre, nous avons cherché à identifier les effets potentiels indirects de l'introduction massive des acariens prédateurs de *D. gallinae* sur le développement des populations d'arthropodes natifs dans les bâtiments d'élevages de poules pondeuses. Nous avons montré que, dans notre système expérimental (mésocosmes), l'introduction massive des populations élevées en masse d'acariens prédateurs (*A. casalis* et *C. eruditus*) n'influençait pas le développement de populations d'acariens prédateurs natifs. Nous avons démontré que les populations commercialisées d'*A. casalis* et *C. eruditus* ne se développaient pas dans des conditions expérimentales proches de celles des bâtiments d'élevage et sous lesquelles les populations naturelles de leurs homologues *A. casalis* et de *Cheyletus* spp. ainsi que de *D. gallinae* se sont développées normalement.

## 6.2 Importance et interprétation des résultats obtenus

### 6.2.1 Progrès dans la connaissance de la structure trophique de la communauté d'arthropodes natifs et des ennemis naturels de *D. gallinae* dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses.

Au cours des vingt dernières décennies, l'importance des prédateurs généralistes dans la régulation des arthropodes nuisibles a été de plus en plus reconnue (Settle et al., 1996; Symondson et al., 2002). Les arthropodes prédateurs généralistes consomment plusieurs espèces de proies et dépendent de plusieurs ressources alimentaires. Comprendre l'effet de ces prédateurs sur leur ressource et sur la ressource de leur ressource (l'effet 'top-down') nécessite l'analyse de la structure des réseaux trophiques impliquant ces prédateurs avec leurs proies. (Polis and Strong, 1996). Les organismes décomposeurs constituent une partie importante du régime alimentaire des prédateurs généralistes qui consomment aussi les arthropodes herbivores et parasites (Scheu and Setälä, 2002). Par conséquent, les organismes décomposeurs peuvent influencer la force de la cascade trophique prédateur généraliste – bioagresseur –hôte dans le réseau trophique. La nature et le sens de cette influence dépendent des traits biologiques du système prédateur-proie et du contexte écologique.

Jusqu'au début de la thèse, la capacité de seulement cinq espèces d'arthropodes prédateurs natifs (*A. casalis*, *C. eruditus*, *C. malaccensis*, *A. diaperinus* et *Ca. Pumilio*) à consommer *D. gallinae* avait été confirmée expérimentalement (Lesna et al., 2009; Maurer, 1993; Stockton, 2004; Toldi et al., 2017). Dans le cadre de cette thèse, nous avons identifié et confirmé la capacité de huit autres taxa (espèces ou morphoespèces selon les cas) natifs à consommer *D. gallinae* : les acariens *Cheyletus* spp., *P. fimetorum*, *M. penicilliger*, *M. muscaedomesticae*, *U. fimicola* et *Dendrolaelaps* spp., le pseudoscorpion *Lam. nodosus*, une araignée de la famille des Linyphiidae sp. et une punaise, *L. campestris*. Ces prédateurs sont généralement connus comme des généralistes se nourrissant de plusieurs groupes taxinomiques et dont certains peuvent être communément présents dans les litières et le fumier des bâtiments telle que les acariens détritivores, les œufs et les larves des mouches, les larves de certains coléoptères et les nématodes...etc (Barker, 1991; de Azevedo et al., 2015; Geden et al., 1988; Koehler, 1997; Péricart, 1972; Yasui, 1997).

Nous avons évalué la préférence des prédateurs natifs pour *D. gallinae* en présence d'autres proies telles que les acariens détritivores astigmates, acariens omniprésents et connus comme des proies pour plusieurs des prédateurs natifs. Six prédateurs ont montré une préférence significative pour *D. gallinae* en présence d'acariens astigmates : *Cheyletus* spp., *A. casalis*, *M. muscaedomesticae*, *Lam. nodosus*, *U. fimicola*, *Dendrolaelaps* spp. Même si nous n'avons pas testé toutes les combinaisons prédateur-proie possibles, les informations obtenues représentent une base très importante pour améliorer notre compréhension des interactions de prédation entre les arthropodes natifs dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses. Certes, les expériences de prédation *in-vitro* dans de petites arènes sans refuge pour la proie peuvent surestimer la capacité de prédation par les prédateurs testés (Thind and Ford, 2006). Les interactions de prédation identifiées *in-vitro* entre une seule espèce prédatrice et une seule espèce de proie ne reflètent pas nécessairement les interactions dans l'agroécosystème (Cohen et al., 1994).

Cependant, grâce à l'analyse corrélative de l'abondance des arthropodes à l'échelle du bâtiment d'élevage, nous avons trouvé que les interactions de prédation identifiées *in-vitro* se traduisent par une covariation significative de l'abondance entre *D. gallinae* et trois acariens prédateurs : *Cheyletus* spp., *Androlaelaps* spp. et *Macrocheles* spp. Ces trois prédateurs ont des capacités de déplacement et des modes de recherche de leurs proies différentes. En général, ces facteurs influencent les interactions trophiques entre les arthropodes prédateurs et leurs proies (Memmott et al., 2000). Les deux acariens prédateurs *A. casalis* et *M. muscaedomesticae* sont très mobiles et ils chassent leurs proies activement (Barker, 1968; Willis and Axtell, 1968). Tandis que *Cheyletus* spp. est un prédateur en embuscade qui attend sa proie sur place et va rarement la traquer. Ce prédateur montre également un comportement de garde en groupe de son nid et ses œufs (Thind and Ford, 2006; Wharton and Arlian, 1972). Nos résultats obtenus *in vitro* ont montré que *Cheyletus* spp. et *A. casalis* préfèrent se nourrir de juvéniles de *D. gallinae* et qu'en absence d'une proie commune ils sont capables de se nourrir l'un de l'autre mutuellement. Les interactions indirectes entre ces prédateurs telles que la compétition et la prédation intragilde (Rosenheim et al., 1995; Rosenheim and Harmon, 2006) peuvent avoir un effet synergique ou antagoniste sur la régulation de *D. gallinae*. Le prédateur qui chasse en embuscade peut tuer le prédateur actif ou influencer sa recherche de proie ce qui peut réduire le risque de prédation sur la proie (Rosenheim et al., 1993). Le prédateur actif peut provoquer le mouvement des individus de la proie ce qui peut les exposer plus aux prédateurs en embuscade, ce qui peut augmenter le risque de prédation sur la proie (Losey and Denno, 1998). L'importance relative de ces deux interactions dépend du système prédateur(s)-proie et du contexte écologique (Wilby et al., 2013).

### **6.2.2 L'impact d'arthropodes prédateurs natifs dans la régulation des populations de *D. gallinae***

La détermination de la capacité des prédateurs natifs à consommer *D. gallinae* et l'investigation corrélative à l'échelle de l'agroécosystème représentent une étape essentielle pour considérer le potentiel de ces prédateurs dans la régulation de ses populations dans les bâtiment d'élevage (Furlong and Zalucki, 2010; Pearce et al., 2004). L'investigation du potentiel de régulation de type 'top-down' des populations de *D. gallinae* nécessitait de mesurer l'impact de prédateurs sur la croissance de ses populations (Abram et al., 2017; Macfadyen et al., 2015). A travers les différentes expériences réalisées en mésocosmes, nous avons mesuré l'impact de différents assemblages de ces arthropodes sur la croissance des populations de *D. gallinae* sur plusieurs génération (4-8 selon l'expérience). Nous nous sommes concentrés sur les acariens prédateurs *A. casalis* et *Cheyletus* spp. pour lesquels, la prédation sur *D. gallinae* *in-vitro* se traduisait par une covariation significative de l'abondance à l'échelle de l'agroécosystème. Bien que la prédation sur *D. gallinae* par l'acarien prédateur *M. muscaedomesticae* ait été confirmée à travers les tests *in-vitro* et que l'analyse corrélative ait aussi montré une interaction effective sur le terrain entre ces deux taxons, le niveau de développement de ce prédateur dans les mésocosmes n'a pas permis de mesurer son impact sur les populations de *D. gallinae*.

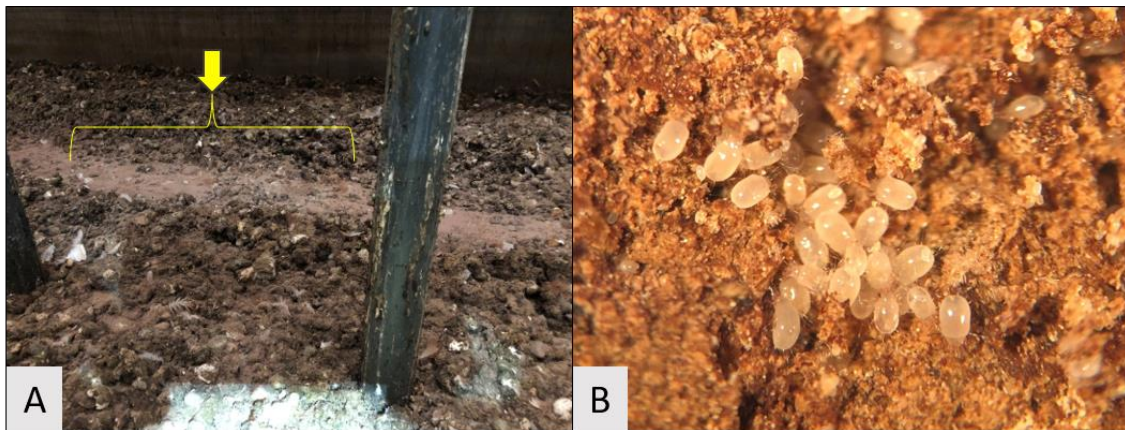
Les différents essais en mésocosmes ont permis d'examiner l'effet de *A. casalis* et *Cheyletus* spp. (ensemble ou séparément) sur les populations de *D. gallinae* en présence des acariens astigmatés comme proies alternatives pour ces acariens prédateurs. Malgré un ratio initial prédateur-*D. gallinae* globalement élevé et un développement satisfaisant des acariens prédateurs dans les mésocosmes, nous n'avons pas détecté d'impact de *A. casalis* ni de *Cheyletus* spp. sur le développement des populations des *D. gallinae*. Une information majeure issue de ces différentes expérimentations est le faible pouvoir régulateur de l'activité de ces deux acariens prédateurs sur les populations de *D. gallinae*.

*Androlaelaps casalis* et *Cheyletus* spp. sont connus pour être des prédateurs généralistes se nourrissant de différentes espèces de proies arthropodes comme les acariens astigmatés (Figure 12) qui représentent une de leurs proies principales (Barker, 1968, 1968). La présence des acariens astigmatés comme proie alternative potentielle pourrait avoir affaibli l'impact de *A. casalis* et *Cheyletus* spp sur *D. gallinae* dans les mésocosmes. Comme ces deux acariens prédateurs ont montré une préférence significative pour la prédation sur *D. gallinae* en présence des acariens astigmatés *in-vitro* (Zriki et al., 2020), la présence des acariens astigmatés ne devrait pas détourner la prédation sur *D. gallinae*. Cependant, la préférence de proie peut dépendre de son abondance relative : dans le phénomène de changement de proie (prey switching), les prédateurs montrent un taux de prédation disproportionnellement plus important sur la proie disponible en densité la plus élevée (Jaworski et al., 2013; Murdoch, 1969). Les acariens astigmatés étant disponibles en densité élevée dans le fumier accumulé dans les mésocosmes (Figure 13), la préférence de *A. casalis* et *Cheyletus* spp. pour *D. gallinae* *in vitro* aurait pu changer pour les astigmatés dans les mésocosmes, avec pour conséquence une dilution de la prédation sur *D. gallinae*.

La présence de proies alternatives peut dans certains cas améliorer le contrôle naturel de la proie cible par ces prédateurs généralistes (Liu et al., 2006; Madsen et al., 2004). Cela peut avoir lieu quand la proie alternative permet l'augmentation de l'abondance du prédateur commun (réponse numérique ou agrégation) et plus de prédation sur la proie cible par conséquent (Chailleux et al., 2014). Xu et al. (2015) ont démontré que les proies alternatives constituent environ 80% du régime alimentaire des arthropodes prédateurs généralistes tel que les araignées, et que ces prédateurs réduisent significativement la population de la proie cible en conditions de terrain. A l'inverse, certaines études ont démontré une réduction de prédation sur la proie cible par la présence des proies alternatives (Koss and Snyder, 2005). Geden and Axtell (1988) ont démontré que la prédation sur les larves de mouches dans le fumier par *C. pumilio* est réduite par la présence d'acariens astigmatés. Dans nos expériences, la présence des acariens astigmatés peut avoir réduit la prédation sur *D. gallinae* par *Cheyletus* spp. et *A. casalis*. Toutefois, la réponse numérique de ces prédateurs n'était probablement pas suffisante pour exercer un effet détectable sur la population de *D. gallinae* ultérieurement. Comme nos expériences n'ont pas inclus de modalité sans astigmatés, nous ne pouvons pas tester cette hypothèse.

Nos expériences en mésocosmes ont montré l'absence d'une différence significative en matière de la mortalité des poussins entre les modalités des prédateurs et les modalités sans prédateurs. La médiane de l'abondance de *D. gallinae* a été significativement plus élevée

dans les mésocosmes où le poussin est mort peu avant l'arrêt final des expérimentations (anticipé pour des raisons d'éthique) que celle dans les mésocosmes où le poussin est resté vivant jusqu'à la fin de l'essai. Cela est un indicateur fort que la cascade trophique ne s'est pas reproduite via la chaîne trophique prédateur- *D. gallinae*- poussin. L'impact des prédateurs sur *D. gallinae* ne s'est pas traduit ni par une diminution de son abondance finale ni par une survie plus élevée des poussins en présence de ces prédateurs. Probablement, les abondances de *D. gallinae* dans nos mésocosmes ont été limitées par la ressource (le poussin), un facteur régulateur de type bottom-up. Et clairement, cela n'a pas été accompagné par un facteur top-down représenté par l'impact des prédateurs sur leur ressource (*D. gallinae*). Dans l'expérience préliminaire en mésocosmes, l'accès limité de *D. gallinae* aux poussins a considérablement affecté le développement de ses populations. Et malgré ce développement faible des populations de *D. gallinae* accompagnée par un développement très élevé de *A. casalis* et *Cheyletus* spp, l'abondance de *D. gallinae* dans les mésocosmes n'a pas été affectée par le développement des prédateurs. Cela supporte l'idée que la population de *D. gallinae* a été limitée uniquement par les ressources.



**Figure 12.** Les acariens astigmatés: (A) une couche des astigmatés dans le fumier du bâtiment d'élevage de poules pondeuses, la flèche jaune indique une couche de ces acariens, (B) les acariens astigmatés, photo microscopique par G. Zriki



**Figure 13.** Les acariens astigmatés développés dans un mésocosme

Dans les expériences en mésocosmes qui ont permis un accès permanent de *D. gallinae* au poussin, la taille finale observée de ses populations a été supérieure aux prédictions du modèle de dynamique de population développé pour *D. gallinae* (Huber et al., 2011). Ces résultats suggèrent que le modèle actuel sous-estime la capacité de *D. gallinae* à croître, sans doute du fait d'une mauvaise connaissance générale de la biologie de l'acarien affectant les paramètres d'entrée du modèle. Malgré le contrôle strict de nombreux facteurs, notamment le nombre, le sexe et le stade des acariens de l'inoculum initial, une hétérogénéité considérable de la croissance des populations de *D. gallinae* a été observée dans toutes les expérimentations en mésocosmes. Il est possible que l'hétérogénéité de développement d'un mésocosme à l'autre et un développement globalement élevé des populations de *D. gallinae* aient pu masquer l'effet des acariens prédateurs sur les populations de *D. gallinae*. Toutefois, le fait que les acariens prédateurs n'aient pas montré un effet même dans les deux essais où le développement de *D. gallinae* était très faible, ne soutient pas cette hypothèse.

Malgré l'absence d'un effet détectable de *A. casalis* et *Cheyletus* spp. sur le développement de *D. gallinae* dans notre système expérimental, nous ne pouvons pas exclure l'existence d'un effet régulateur de la prédation sur les populations de *D. gallinae* à l'échelle de l'agroécosystème des bâtiments d'élevage. La complexité des interactions trophiques et leur fréquence au sein de l'agroécosystème peuvent différer de celles dans le système expérimental en conditions contrôlées, quelle que soit la similitude des conditions biotiques et abiotiques entre le système expérimental et l'agroécosystème (Messing et al., 2006). Dans les expériences en cages et en mésocosmes, confiner les prédateurs et les proies ensemble peut augmenter les taux de prédation sur les proies (Luck et al., 1988; Wilhelm et al., 2000). Comme les prédateurs et les proies ne peuvent pas migrer, la probabilité de rencontre est plus élevée dans la même zone de recherche. Ainsi, la probabilité de rencontre entre *D. gallinae* et les acariens prédateurs a été probablement augmentée dans les mésocosmes. En outre, la présence récurrente des acariens prédateurs (*A. casalis* et *Cheyletus* spp.) dans les refuges artificiels avec les agrégats de *D. gallinae* indique que la rencontre prédateur-proie a eu lieu dans nos mésocosmes. Comme aucun effet régulateur des prédateurs sur *D. gallinae* a été détecté sous ces conditions exagérément favorables à la rencontre prédateur-proie, cet effet est probablement d'autant plus faible à l'échelle du bâtiment d'élevage où la complexité des refuges disponibles pour *D. gallinae* est plus élevée, et où la séparation physique entre le fumier et les agrégats de *D. gallinae* est plus importante.

Bien que *D. gallinae* et plusieurs espèces d'arthropodes prédateurs aient montré dans nos conditions de mésocosme un niveau de développement proche de celui observé dans les bâtiments d'élevages, ces expériences se sont heurtées à certaines difficultés et limitations :

- 1) Certaines espèces d'arthropodes n'ont pas réussi à se développer ou ont montré une grande hétérogénéité dans le développement entre les différents essais en mésocosmes.

- 2) L'homogénéité des individus constituant les populations initiales des différentes espèces d'arthropodes prédateur et non prédateurs n'était pas assurée en matière d'âge, malgré un contrôle strict du sexe et du stade de développement. Cela a pu introduire une certaine source d'hétérogénéité dans l'abondance finale des populations de ces différentes espèces.

3) Le nombre de traitements et de répliquats était fortement contraint par les contingences matérielles et méthodologiques propres à ce genre d'expérience. Malgré tout, ce dispositif expérimental innovant nous a permis de tester l'impact d'un assemblage de multiples espèces d'arthropodes natifs sur le développement des populations de *D. gallinae*.

### **6.2.3 L'effet de l'introduction massive des acariens prédateurs de *D. gallinae* sur la communauté naturelle d'arthropodes**

En plus de tester l'impact des acariens prédateurs natifs sur *D. gallinae*, les mésocosmes nous ont permis d'évaluer l'impact de l'introduction massive des acariens prédateurs commercialisés (*A. casalis* et *C. eruditus*) sur ces acariens prédateurs natifs. Nos résultats montrent que l'inoculation massive de populations commercialisées d'*A. casalis* et *C. eruditus* (séparément ou en combinaison) n'a pas affecté ni la capacité des acariens prédateurs natifs (*A. casali* et *Cheyletus* spp.) à établir leur population ni leur développement dans les mésocosmes. En effet, l'utilisation d'espèces indigènes d'ennemis naturels dans la lutte par inondation des bioagresseurs peut limiter les risques associés sur les espèces non-cibles en comparaison avec l'utilisation des ennemis naturels exotiques (Boivin et al., 2006; Van Lenteren et al., 2003). Les deux taxons commercialisés sont connus pour être présents tous les deux sur le territoire français (et même au-delà en Europe). Notre expérience a montré aussi que les populations commercialisées de *A. casalis* et *C. eruditus* ne se sont pas développées sous nos conditions de mésocosmes. Cela suggère que les populations introduites de *A. casalis* et *C. eruditus* ne sont pas très bien adaptés aux conditions environnementales dans lesquelles se développe leur cible (*D. gallinae*). L'adaptation des ennemis naturels aux conditions d'élevage artificiel peut modifier des caractéristiques importantes influencent leur capacité à survivre, à s'accoupler, à se nourrir et à se reproduire efficacement dans des conditions de terrain (Bertin et al., 2017; Hopper et al., 1993). En effet, l'incapacité de l'ennemi naturel à coloniser l'agroécosystème et à s'y reproduire après l'introduction pourrait être cohérente avec une simple démarche de lutte biologique par inondation, car cela peut limiter les effets indésirables sur les espèces non-cibles (on compte sur l'effet immédiat d'un grand nombre de prédateurs pour abaisser substantiellement la taille de la population de la cible) (Bale et al., 2008). Ce type de pratique s'applique généralement assez bien aux bioagresseurs uni- ou bivoltins, contre lesquels une ou deux inondations aux moments clés de l'infestation peuvent être efficaces (Van Lenteren et al., 2003).

*Dermanyssus gallinae* est caractérisé par un développement tout au long de l'année dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses (Maurer, 1993; Nordenfors and Hoglund, 2000) (Maurer, 1993; Nordenfors and Hoglund, 2000). Dans ce cas, la capacité des prédateurs natifs introduits à coloniser l'environnement et à y persister après l'introduction est un facteur très important pour lutter contre un tel bioagresseur. Cela diminue le nombre d'introductions nécessaires des ennemis naturels pour contrôler la population du bioagresseur (Fernando et al., 2010). Fernando et al. (2010) ont montré que l'augmentation de la population naturelle de l'acarien prédateur *Neosiulus baraki* (Athias-Henriot) par une introduction par inondation d'une population élevée en laboratoire a permis de contrôler l'acarien ravageur *Aceria guerreronis* Kifer. L'auteur a indiqué que la capacité de *N. baraki* à coloniser l'environnement

a limité le nombre d'introductions de ce prédateur nécessaire pour contrôler *A. guerreronis* à une seule introduction. A l'inverse, les résultats obtenus ici montrent l'incapacité des populations commercialisées de *A. casalis* et *Cheyletus* spp. à persister dans les mésocosmes. Cela soulève des questions quant à la pertinence d'une telle approche de lutte par inondation avec ces deux acariens prédateurs contre *D. gallinae*.

### **6.3 Intégration des nouvelles connaissances dans la démarche de la lutte intégrative de *D. gallinae***

La lutte biologique au moyen d'ennemis naturels représente une composante principale des programmes de lutte intégrative contre les bioagresseurs. Les résultats obtenus dans cette thèse sur l'impact d'arthropodes prédateurs natifs sur *D. gallinae* représentent une base nécessaire pour faire progresser la lutte biologique contre ce bioagresseur, une approche dont la mise en œuvre est devenue requise et inévitable pour que la gestion intégrative de ce ravageur devienne une réalité. La construction d'un réseau trophique potentiel impliquant *D. gallinae* avec 13 espèces d'arthropodes natifs, représente une base d'informations importante pour sélectionner de nouveaux candidats pour la lutte biologique en plus des deux acariens prédateurs (*A. casalis* et *Cheyletus* spp.) actuellement utilisés. En outre, nos travaux ont mis en évidence des informations importantes concernant l'occurrence de la prédation sur *D. gallinae* à l'échelle du bâtiment d'élevage, les préférences alimentaires des prédateurs natifs vis-à-vis des autres proies natives et les interactions de prédateurs entre ces prédateurs. Cela représente également une base nécessaire pour prédire et comprendre les conséquences de ces interactions trophiques sur la régulation naturelle et la lutte biologique des populations de *D. gallinae*.

#### **6.3.1 Optimiser le choix de prédateurs pour la lutte biologique**

Les études précédentes ont démontré que chacun des deux prédateurs *C. eruditus* et *C. malaccensis* avaient une capacité importante *in vitro* à consommer *D. gallinae* et à réaliser leur cycle de vie quand ils sont élevés avec cette espèce comme proie unique (Maurer et al., 1993; Toldi et al., 2017). Comme dans nos conditions de mésocosme (semi-terrain), seulement *C. malaccensis* a réussi à se développer alors que la population commercialisée de *C. eruditus* ne s'est pas développé, il est possible que l'utilisation de *C. malaccensis* comme agent de lutte biologique par inondation permette d'améliorer l'efficacité de cette méthode de lutte et diminue le nombre d'inoculations nécessaires dans les bâtiments d'élevage. Cependant, cela demande d'évaluer les dynamiques relatives de *C. malaccensis* et *D. gallinae* en présence de densités variées de proies alternatives surtout d'acariens détritivores. Dans les bâtiments d'élevage que nous avons utilisés comme une source des prédateurs, *C. malaccensis* semble être l'espèce dominante dans le genre *Cheyletus*. Toutefois, comme nous n'avons pas inventorié la composition des espèces du genre *Cheyletus* et leur abondance saisonnière dans les élevages de poules pondeuses, cela reste à vérifier. L'évaluation de l'abondance relative de ces deux espèces dans les bâtiments d'élevage est importante dans la perspective de leur utilisation pour la lutte biologique contre *D. gallinae*.

La punaise prédatrice *L. campestris* semble être aussi un candidat prometteur pour la lutte biologique contre le pou rouge. Les adultes et les nymphes de *L. campestris* ont montré

une fréquence élevée de prédation sur le pou rouge dans les tests *in-vitro*. En outre, nous avons observé à plusieurs reprises des adultes se nourrissant de *D. gallinae* à même ses agrégats dans les élevages. La mobilité élevée des adultes ailés de *L. campestris* leur permet d'atteindre les agrégats de *D. gallinae* dans différents microhabitats dans la structure des bâtiments en plus de ceux proches du fumier. *L. campestris* peut se développer tout au long de l'année quand la température est stable (Péricart, 1972) comme dans les bâtiments d'élevages de poules pondeuses. En outre *L. campestris* a déjà été élevée en masse avec succès (Parajulee and Phillips, 1992). Cela rend possible la réalisation d'essais expérimentaux de lutte par inondation contre *D. gallinae* dans des systèmes expérimentaux comme les mésocosmes, puis, si les résultats sont encourageants, de tentatives d'application dans les bâtiments d'élevage.

### **6.3.2 La lutte biologique contre *D. gallinae* en favorisant l'activité des prédateurs natifs**

La lutte biologique par conservation consiste à encourager les populations d'ennemis naturels présents dans l'agroécosystème. La lutte biologique par conservation contre le pou rouge semble être une stratégie prometteuse dans l'agroécosystème des bâtiments d'élevages. Les bâtiments d'élevage de pondeuses représentent un agroécosystème régulièrement colonisé par la communauté d'arthropodes présente dans l'environnement extérieur. Les études précédentes sur la faune d'arthropodes spontanée des élevages de pondeuses ont montré une certaine diversité et une composition relativement constante de cette communauté (Roy et al., 2017). Nos résultats, ont suggéré que *D. gallinae* est une proie potentielle pour une diversité importante de prédateurs natifs. En plus, nous avons montré une association entre *D. gallinae* et certains acariens prédateurs à l'échelle du bâtiment d'élevage.

Tenant compte de ces éléments, l'intensification du potentiel supprimeur des prédateurs natifs sur le pou rouge dans un contexte de lutte biologique par conservation pourrait sembler être un objectif prometteur. Cependant, à travers nos investigations de l'effet des deux acariens prédateurs natifs prometteurs, nous n'avons détecté aucun effet de ces prédateurs sur le développement des populations de *D. gallinae*. Nos résultats ne sont donc pas très encourageant concernant l'efficacité de la lutte biologique par conservation contre *D. gallinae*. Toutefois, l'impact d'autres arthropodes natifs potentiels reste à tester. De plus, comme les interactions trophiques à l'échelle de l'agroécosystème peuvent différer des conditions contrôlées, l'efficacité de la lutte biologique par conservation pourrait s'envisager à l'échelle de l'agroécosystème.

## **7 Conclusion**

Notre étude a permis la construction de réseau trophique potentiel impliquant *D. gallinae* et les arthropodes natifs dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses. Ce réseau représente une base d'information très importante sur la nature et la complexité des liens trophiques au sein de la communauté native d'arthropodes dans l'agroécosystème des bâtiments d'élevages. Cependant, dans le bâtiment d'élevage, la complexité de ces interactions et leur intensité peuvent varier largement sous l'effet de différents facteurs,

comme la distribution spatiale et temporelle des populations de ces arthropodes, incluant des gradients probables de densité des acariens astigmatés. L'exploration des interactions trophiques sur le terrain et la localisation des événements de prédation dans le bâtiment d'élevage est un complément nécessaire pour affiner la construction de ces réseaux trophiques.

Nous avons montré que les interactions de prédation identifiées à l'échelle de l'individu *in-vitro* étaient associées à des dépendances en termes d'abondance entre *D. gallinae* et chacun de ses prédateurs acariens. L'évaluation du rôle des arthropodes prédateurs dans la régulation de populations de *D. gallinae* a été la suite logique de notre démarche exploratrice des interactions trophiques au sein de la communauté native d'arthropodes. Nos résultats expérimentaux en mésocosmes suggèrent l'absence d'un effet régulateur sur les populations de *D. gallinae* par deux de ses acariens prédateurs natifs les plus fréquents et abondants dans les bâtiments d'élevage de poules pondeuses. Cependant, nous ne pouvons pas exclure l'existence d'un tel effet dans les bâtiments d'élevage, étant donné que la complexité des interactions trophiques et leur intensité peuvent différer sous les conditions de l'agroécosystème. En outre, notre étude présente de nouvelles connaissances sur les interactions trophiques identifiées entre plusieurs espèces d'arthropodes natifs. Enfin, elle a permis de développer un système expérimental novateur qui permet de tester l'impact de ces interactions à l'échelle de la population.

Les nouvelles connaissances apportées par nos travaux sur les interactions entre la poule, *D. gallinae* et ses prédateurs natifs représentent une base importante pour planifier et analyser des expérimentations à l'échelle de l'agroécosystème des bâtiments d'élevage ainsi que pour développer la lutte biologique contre ce bioagresseur. La diversité taxonomique et écologique des prédateurs potentiels de *D. gallinae* dans les élevages doit être exploitée dans une perspective de stratégie intégrative de lutte prenant en compte le potentiel de ces prédateurs à l'échelle de l'espèce ainsi qu'à l'échelle de la communauté.

L'impact des prédateurs sur *D. gallinae* dans les bâtiments d'élevage dépend aussi sans doute d'autres facteurs que leur simple présence et leur densité. La capacité de ces prédateurs (qui se logent principalement dans le fumier) à rencontrer *D. gallinae* dans ces différents types d'habitat est un facteur principal qui détermine l'impact de ces prédateurs sur les populations de *D. gallinae*. Il est donc important de savoir si certains prédateurs cherchent leurs proies dans les agrégats de pou principalement centrés dans la zone de repos des poules. La structure particulière des bâtiments d'élevage de poules pondeuse suggère l'importance d'examiner la distribution spatio-temporelle de pou rouge et de ces prédateurs dans les élevages, autrement dit déterminer qui mange mange qui ? et où ?). Comme tous les organismes laissent des traces de leur ADN sur leur passage (perte de cellule, excréments, etc), l'analyse de l'ADN dans les agrégats de *D. gallinae* dans les bâtiments d'élevage peut permettre de détecter des traces de passage des arthropodes prédateurs et déterminer quels sont les prédateurs qui rencontrent effectivement *D. gallinae* dans ses agrégats.

Nos résultats soulignent l'importance de réaliser des études plus approfondies sur la biologie de *D. gallinae* et la dynamique temporelle de ses populations. La compréhension de la dynamique de population de *D. gallinae* devient un enjeu majeur pour estimer l'évolution et l'effet de ses infestations dans les élevages, ainsi que pour les recherches qui utilisent ces informations pour développer des systèmes de monitoring ou des pratiques de lutte alternative. De même, les acariens détritivores semblent jouer un rôle important dans le développement des acariens prédateurs natifs. La préférence des prédateurs natifs pour *D. gallinae* devrait être testée en fonction d'un gradient d'abondance de proies alternatives. Cela permettrait de comparer plus concrètement les prédateurs natifs en fonction des variations dans leur préférence alimentaire pour *D. gallinae* selon la densité des acariens détritivores.

La diversité élevée de faune antagoniste native dans les bâtiments d'élevages représente une matière de recherche importante pour tester l'impact de différents assemblages des arthropodes prédateurs sur *D. gallinae*. Notre système expérimental en mésocosmes représente un outil primordial pour tester l'impact de ces arthropodes prédateurs sur le développement de population de ce acariens hématophage. Bien que les travaux réalisés dans cette thèse aient contribué au progrès de notre compréhension des interactions entre *D. gallinae* et les arthropodes natifs dans les bâtiments d'élevages, cette thèse soulève plus de questions qu'elle n'en résout.

## 8 Références

- Abram, P.K., Hoelmer, K.A., Acebes-Doria, A., Andrews, H., Beers, E.H., Bergh, J.C., Bessin, R., Biddinger, D., Botch, P., Buffington, M.L., 2017. Indigenous arthropod natural enemies of the invasive brown marmorated stink bug in North America and Europe. *Journal of Pest Science* 90, 1009–1020.
- Abrol, D.P., Shankar, U. (Eds.), 2012. Integrated pest management: principles and practice. CABI, Wallingford, Oxfordshire Cambridge, MA.
- Ali, W., George, D.R., Shiel, R.S., Sparagano, O.A.E., Guy, J.H., 2012. Laboratory screening of potential predators of the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) and assessment of *Hypoaspis miles* performance under varying biotic and abiotic conditions. *Vet Parasitol* 187, 341–344. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.01.014>
- Alves, L.F.A., de Oliveira, D.G.P., Pares, R.B., Sparagano, O.A., Godinho, R.P., 2020. Association of mechanical cleaning and a liquid preparation of diatomaceous earth in the management of poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Mesostigmata: Dermanyssidae). *Experimental & applied acarology*.
- Anatis Bioprotection, A., n.d. *Stratiolaelaps scimitus*.
- Appleby, M.C., 2003. The European Union ban on conventional cages for laying hens: History and prospects. *Journal of applied animal welfare science* 6, 103–121.
- Arkle, S., 2007. Development of a vaccine against the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) (PhD Thesis). Newcastle University.
- Arkle, S., George, D.R., Guy, J.H., Sparagano, O.A.E., 2010. Comparison of in vivo and in vitro survival and fecundity rates of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Research in veterinary science* 88, 279–280.
- Arkle, S., Guy, J.H., Sparagano, O., 2006. Immunological effects and productivity variation of red mite (*Dermanyssus gallinae*) on laying hens-implications for egg production and quality. *World's Poultry Science Journal* 62, 249–257.
- Axtell, C., 1970. Integrated Fly Control Program for Caged-Poultry Houses 2 5.
- Axtell, R.C., 1999. Poultry integrated pest management: status and future. *Integr Pest Manag Rev* 4, 53–73.
- Axtell, R.C., 1986. Fly management in poultry production: cultural, biological, and chemical. *Poultry Science* 65, 657–667.
- Axtell, R.C., Arends, J.J., 1990. Ecology and management of arthropod pests of poultry. *Annual review of entomology* 35, 101–126.
- Bajerlein, D., Bloszyk, J., 2004. Phoresy of *Uropoda orbicularis* (Acari: Mesostigmata) by beetles (Coleoptera) associated with cattle dung in Poland. *European Journal of Entomology* 101, 185–188.
- Bale, J.S., van Lenteren, J.C., Bigler, F., 2008. Biological control and sustainable food production. *Phil. Trans. R. Soc. B* 363, 761–776. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2182>
- Barker, P.S., 1991. Bionomics of *Cheyletus eruditus* (Schrank) (Acarina: Cheyletidae), a predator of *Lepidoglyphus destructor* (Schrank) (Acarina: Glycyphagidae), at three constant temperatures. *Can. J. Zool.* 69, 2321–2325. <https://doi.org/10.1139/z91-326>
- Barker, P.S., 1968. Bionomics of *Androlaelaps casalis* (Berlese) (Acarina: Laelapidae) a predator of mite pests of stored cereals. *Can. J. Zool.* 46, 1099–1102. <https://doi.org/10.1139/z68-157>

- Bartley, K., Nisbet, A.J., Offer, J.E., Sparks, N.H., Wright, H.W., Huntley, J.F., 2009. Histamine release factor from *Dermanyssus gallinae* (De Geer): characterization and in vitro assessment as a protective antigen. *International journal for parasitology* 39, 447–456.
- Bartley, K., Turnbull, F., Wright, H.W., Huntley, J.F., Palarea-Albaladejo, J., Nath, M., Nisbet, A.J., 2017. Field evaluation of poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) native and recombinant prototype vaccines. *Veterinary parasitology* 244, 25–34.
- Begon, M., Townsend, C.R., Harper, J.L., 2006. The nature of predation, in: *Ecology: From Individuals to Ecosystems*. pp. 266–297.
- Benton, T.G., Solan, M., Travis, J.M., Sait, S.M., 2007. Microcosm experiments can inform global ecological problems. *Trends in Ecology & Evolution* 22, 516–521.
- Bertin, A., Pavinato, V.A.C., Parra, J.R.P., 2017. Fitness-related changes in laboratory populations of the egg parasitoid *Trichogramma galloi* and the implications of rearing on factitious hosts. *BioControl* 62, 435–444. <https://doi.org/10.1007/s10526-017-9795-y>
- Beugnet, F., Chauve, C., Gauthey, M., Beert, L., 1997. Resistance of the red poultry mite to pyrethroids in France. *Veterinary Record* 140, 577–579.
- Bianchi, F.J., Booij, C.J.H., Tscharntke, T., 2006. Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273, 1715–1727.
- Binns, E.S., 1982. Phoresy as migration-some functional aspects of phoresy in mites. *Biological Reviews* 57, 571–620.
- Boivin, G., Kölliker-Ott, U.M., Bale, J.S., Bigler, F., 2006. Assessing the establishment potential of inundative biological control agents. *Environmental impact of invertebrates for biological control of arthropods: methods and risk assessment* 98–113.
- Bon, G., Dernburg, A., Chauve, C., Lubac, S., Zenner, L., 2003. Méthodologie de suivi des populations de *Dermanyssus gallinae* en élevage de pondeuses avec parcours extérieur, in: 5. Journées de La Recherche Avicole. ITAVI-Institut Technique de l'Aviculture.
- Bonsall, M.B., Hassell, M.P., 2005. Understanding ecological concepts: the role of laboratory systems. *Advances in ecological research* 37, 1–36.
- Boyd, J., Banzhaf, S., 2007. What are ecosystem services? The need for standardized environmental accounting units. *Ecological economics* 63, 616–626.
- Brady, J., 1970a. The Mites of Poultry Litter: Observations on the Bionomics of Common Species, with a Species List for England and Wales. *J Appl Ecol* 7, 331–348. <https://doi.org/10.2307/2401384>
- Brady, J., 1970b. Litter Mites and their Effects on Poultry. *Worlds Poult. Sci. J.* 26, 658–668. <https://doi.org/10.1079/WPS19700022>
- Buffoni, G., Di Cola, G., Baumgartner, J., Maurer, V., 1997. The local dynamics of cacarine predator-prey (*Cheletus eruditus*-*Dermanyssus gallinae*) populations: identification of a lumped parameter model. *MITTEILUNGEN-SCHWEIZERISCHE ENTOMOLOGISCHE GESELLSCHAFT* 70, 345–359.
- Bush, A.O., Fernández, J.C., Esch, G.W., Seed, J.R., Ndez, J.C.F., 2001. *Parasitism: the diversity and ecology of animal parasites*. Cambridge university press.
- Cafiero, M.A., Barlaam, A., Camarda, A., Radeski, M., Mul, M., Sparagano, O., Giangaspero, A., 2019. *Dermanyssus gallinae* attacks humans. Mind the gap! *Avian Pathology* 48, S22–S34.
- Chailleux, A., Mohl, E.K., Teixeira Alves, M., Messelink, G.J., Desneux, N., 2014. Natural enemy-mediated indirect interactions among prey species: potential for enhancing biocontrol services in agroecosystems: NE-mediated indirect interactions among prey species for biocontrol in agroecosystems. *Pest. Manag. Sci.* 70, 1769–1779. <https://doi.org/10.1002/ps.3916>

- Chauve, C., 1998. The poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778): current situation and future prospects for control. *Vet. Parasitol.* 79, 239–245. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00167-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00167-8)
- Chirico, J., Tauson, R., 2002. Traps containing acaricides for the control of *Dermanyssus gallinae*. *Veterinary Parasitology* 110, 109–116. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00310-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00310-2)
- Christophoryová, J., Vidlička, L., Krajčovičová, K., 2018. New cases of phoresy of *Lamprochernes nodosus* (Pseudoscorpiones: Chernetidae) on Diptera observed in Slovakia. *Biharean Biologist* 12.
- Cohen, J.E., Schoenly, K., Heong, K.L., Justo, H., Arida, G., Barrion, A.T., Litsinger, J.A., 1994. A Food Web Approach to Evaluating the Effect of Insecticide Spraying on Insect Pest Population Dynamics in a Philippine Irrigated Rice Ecosystem. *The Journal of Applied Ecology* 31, 747. <https://doi.org/10.2307/2404165>
- Cosoroaba, I., 2001. Massive *Dermanyssus gallinae* (De Geer 1778) invasion in battery-husbandry raised fowls in Romania [egg-laying decrease, mortality]. *Revue de Medecine Veterinaire (France)*.
- Costanza, R., d'Arge, R., De Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R.V., Paruelo, J., 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *nature* 387, 253–260.
- de Azevedo, L.H., Emberson, R.M., Esteca, F. de C.N., de Moraes, G.J., 2015. Macrochelid Mites (Mesostigmata: Macrochelidae) as Biological Control Agents, in: Carrillo, D., de Moraes, G.J., Peña, J.E. (Eds.), *Prospects for Biological Control of Plant Feeding Mites and Other Harmful Organisms*. Springer International Publishing, Cham, pp. 103–132. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-15042-0\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-15042-0_4)
- De Oliveira, D.G.P., Kasburg, C.R., Alves, L.F.A., 2020. Efficacy of *Beauveria bassiana* against the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778)(Mesostigmata: Dermanyssidae), under laboratory and hen house conditions. *Systematic and Applied Acarology* 25, 895–905.
- Desneux, N., O'Neil, R.J., 2008. Potential of an alternative prey to disrupt predation of the generalist predator, *Orius insidiosus*, on the pest aphid, *Aphis glycines*, via short-term indirect interactions. *Bull. Entomol. Res.* 98, 631–639. <https://doi.org/10.1017/S0007485308006238>
- Di Palma, A., Leone, F., Albanese, F., Beccati, M., 2018. A case report of *Dermanyssus gallinae* infestation in three cats. *Veterinary dermatology* 29, 348–e124.
- Dolz, R., 2017. Introduction of Exzolt (Fluralaner 10 mg/mL solution)—A new product for treatment of poultry red mite infestation in chickens, in: *Abstract Book, 3rd COST Conference, Improving Current Understanding and Research for Sustainable Control of the Poultry Red Mite Dermanyssus Gallinae*. pp. 20–21.
- Dowling, A.P., O'Connor, B.M., 2010. Phylogenetic relationships within the suborder Dermanyssina (Acari: Parasitiformes) and a test of dermanyssoid monophyly. *International Journal of Acarology* 36, 299–312.
- Dunne, J.A., Williams, R.J., Martinez, N.D., 2002. Food-web structure and network theory: the role of connectance and size. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99, 12917–12922.
- Eilenberg, J., Hajek, A., Lomer, C., 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl* 46, 387–400.
- Entrekin, D.L., Oliver, J.H., 1982. Aggregation of the Chicken Mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *J Med Entomol* 19, 671–678. <https://doi.org/10.1093/jmedent/19.6.671>
- Faleiro, D.C.C., Toldi, M., Silva, G.L. da, Ferla, N.J., 2015. The ectoparasites *Dermanyssus gallinae* and *Megninia ginglymura*: bioecology and natural enemies in commercial egg-laying hens. *Systematic and Applied Acarology* 20, 861. <https://doi.org/10.11158/saa.20.8.3>

- Fernando, L.C.P., Waidyarathne, K.P., Perera, K.F.G., De Silva, P., 2010. Evidence for suppressing coconut mite, *Aceria guerreronis* by inundative release of the predatory mite, *Neoseiulus baraki*. *Biological control* 53, 108–111.
- Finke, D.L., Denno, R.F., 2005. Predator diversity and the functioning of ecosystems: the role of intraguild predation in dampening trophic cascades. *Ecol Letters* 8, 1299–1306. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00832.x>
- Freire, R.A.P., De Moraes, G.J., 2007. Mass production of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley)(Acari: Laelapidae). *Systematic and Applied Acarology* 12, 117–119.
- Furlong, M.J., Zalucki, M.P., 2010. Exploiting predators for pest management: the need for sound ecological assessment. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 135, 225–236.
- Geden, C.J., Axtell, R.C., 1988. Predation by *Carcinops pumilio* (Coleoptera: Histeridae) and *Macrocheles muscaedomesticae* (Acarina: Macrochelidae) on the house fly (Diptera: Muscidae): functional response, effects of temperature, and availability of alternative prey. *Environmental Entomology* 17, 739–744.
- Geden, C.J., Axtell, R.C., 1987. Factors affecting climbing and tunneling behavior of the lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of economic entomology* 80, 1197–1204.
- Geden, C.J., Stinner, R.E., Axtell, R.C., 1988. Predation by predators of the house fly in poultry manure: Effects of predator density, feeding history, interspecific interference, and field conditions. *Environ Entomol* 17, 320–329.
- George, D.R., Guy, J.H., Arkle, S., Harrington, D., De Luna, C., Okello, E.J., Shiel, R.S., Port, G., Sparagano, O.A., 2008. Use of plant-derived products to control arthropods of veterinary importance: a review. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1149, 23–26.
- George, D.R., Sparagano, O.A.E., Port, G., Okello, E., Shiel, R.S., Guy, J.H., 2010. Environmental interactions with the toxicity of plant essential oils to the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Medical and Veterinary Entomology* 24, 1–8.
- González-Chang, M., Wratten, S.D., Lefort, M.-C., Boyer, S., 2016. Food webs and biological control: A review of molecular tools used to reveal trophic interactions in agricultural systems. *Food Webs* 9, 4–11.
- Gorji, Shohreh Faghihzadeh, Gorji, Sina Faghihzadeh, Rajabloo, M., 2014. The field efficacy of garlic extract against *Dermanyssus gallinae* in layer farms of Babol, Iran. *Parasitology research* 113, 1209–1213.
- Hairston, N.G., Smith, F.E., Slobodkin, L.B., 1960. Community structure, population control, and competition. *The american naturalist* 94, 421–425.
- Harrington, D., Canales, M., de la Fuente, J., de Luna, C., Robinson, K., Guy, J., Sparagano, O., 2009. Immunisation with recombinant proteins subolesin and Bm86 for the control of *Dermanyssus gallinae* in poultry. *Vaccine* 27, 4056–4063.
- Harrington, D.W.J., George, D.R., Guy, J.H., Sparagano, O.A.E., 2011. Opportunities for integrated pest management to control the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Worlds Poult. Sci. J.* 67, 83–94. <https://doi.org/10.1017/S0043933911000079>
- Hawkins, B.A., Cornell, H.V. (Eds.), 1999. *Theoretical approaches to biological control*. Cambridge University Press, Cambridge, UK ; New York, NY, USA.
- Höglund, J., Nordenfors, H., Uggla, A., 1995a. Prevalence of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, in different types of production systems for egg layers in Sweden. *Poultry science* 74, 1793–1798.
- Höglund, J., Nordenfors, H., Uggla, A., 1995b. Prevalence of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, in different types of production systems for egg layers in Sweden. *Poultry science* 74, 1793–1798.

- Holland, J.M., Oaten, H., Moreby, S., Birkett, T., Simper, J., Southway, S., Smith, B.M., 2012. Agri-environment scheme enhancing ecosystem services: a demonstration of improved biological control in cereal crops. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 155, 147–152.
- Holt, R., Lawton, J.H., 1994. The ecological consequences of shared natural enemies. *Annu Rev Ecol Syst* 25, 495–520.
- Holt, R.D., 1977. Predation, apparent competition, and the structure of prey communities. *Theoretical population biology* 12, 197–229.
- Holt, R.D., Polis, G.A., 1997. A theoretical framework for intraguild predation. *The American Naturalist* 149, 745–764.
- Hooper, D.U., Chapin Iii, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Naeem, S., 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological monographs* 75, 3–35.
- Hopper, K.R., Roush, R.T., Powell, W., 1993. Management of genetics of biological-control introductions. *Annual Review of Entomology* 38, 27–51.
- Houck, M.A., OConnor, B.M., 1991. Ecological and evolutionary significance of phoresy in the Astigmata. *Annual review of entomology* 36, 611–636.
- Huber, K., Zenner, L., Bicout, D.J., 2011. Modelling population dynamics and response to management options in the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Veterinary Parasitology* 176, 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.10.043>
- Huffaker, C.B., Messenger, P.S., DeBach, P., 1971. The natural enemy component in natural control and the theory of biological control, in: *Biological Control*. Springer, pp. 16–67.
- Hulley, P.E., Pfleiderer, M., 1988. The Coleoptera in poultry manure—potential predators of house flies, *Musca domestica* Linnaeus (Diptera: Muscidae). *J. Entomol. Soc. South. Afr.* 51, 17–29.
- ITAVI, 2020. Situation du marché des œufs et ovoproduits. Édition novembre 2019.
- Janssen, A., Pallini, A., Venzon, M., Sabelis, Maurice W., 1999. Behaviour and indirect interactions in food webs of plant-inhabiting arthropods, in: Bruin, J., van der Geest, L.P.S., Sabelis, M. W. (Eds.), *Ecology and Evolution of the Acari*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 231–249. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-1343-6\\_16](https://doi.org/10.1007/978-94-017-1343-6_16)
- Jaworski, C.C., Bompard, A., Genies, L., Amiens-Desneux, E., Desneux, N., 2013. Preference and Prey Switching in a Generalist Predator Attacking Local and Invasive Alien Pests. *PLoS ONE* 8, e82231. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082231>
- Katsavou, E., Vlogiannitis, S., Karp-Tatham, E., Blake, D.P., Ilias, A., Strube, C., Kioulos, I., Dermauw, W., Van Leeuwen, T., Vontas, J., 2020. Identification and geographical distribution of pyrethroid resistance mutations in the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Pest Management Science* 76, 125–133.
- Kilpinen, O., 2005. How to obtain a bloodmeal without being eaten by a host: the case of poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Physiological Entomology* 30, 232–240.
- Kilpinen, O., Steenberg, T., 2009. Inert dusts and their effects on the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*), in: *Control of Poultry Mites (Dermanyssus gallinae)*. Springer, pp. 51–62.
- Kirkwood, A.C., 1971. In vitro feeding of *Dermanyssus gallinae*. *Experimental Parasitology* 29, 1–6. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(71\)90002-6](https://doi.org/10.1016/0014-4894(71)90002-6)
- Kirkwood, A.C., 1968. Some observations on the feeding habits of the poultry mites *Dermanyssus gallinae* and *Liponyssus sylviarum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 11, 315–320.
- Kirkwood, A.C., 1967. Anaemia in poultry infested with the red mite *Dermanyssus gallinae*. *Veterinary Record* 80, 514–516.

- Knapp, M., van Houten, Y., van Baal, E., Groot, T., 2018. Use of predatory mites in commercial biocontrol: current status and future prospects. *Acarologia* 58, 7282. <https://doi.org/10.24349/acarologia/20184275>
- Knee, W., 2008. Five new species of Rhinonyssidae (Mesostigmata) and one new species of *Dermanyssus* (Mesostigmata: Dermanyssidae) from birds of Alberta and Manitoba, Canada. *Journal of Parasitology* 94, 348–374.
- Knops, J.M., Tilman, D., Haddad, N.M., Naeem, S., Mitchell, C.E., Haarstad, J., Ritchie, M.E., Howe, K.M., Reich, P.B., Siemann, E., 1999. Effects of plant species richness on invasion dynamics, disease outbreaks, insect abundances and diversity. *Ecology Letters* 2, 286–293.
- Koehler, H.H., 1997. Mesostigmata (Gamasina, Uropodina), efficient predators in agroecosystems. *Agriculture, ecosystems & environment* 62, 105–117.
- Kogan, M., 1998. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. *Annual review of entomology* 43, 243–270.
- Koss, A.M., Snyder, W.E., 2005. Alternative prey disrupt biocontrol by a guild of generalist predators. *Biological Control* 32, 243–251.
- Kowal, J., Nosal, P., Niedziolka, R., Kornas, S., 2014. Presence of blood-sucking mesostigmatic mites in rodents and birds kept in pet stores in the Cracow area, Poland. *Annals of Parasitology* 60.
- Kozlov, V.I., 1970. The Tenebrionid *Alphitobius diaperinus* Panz. as a predator of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* Redi. *Parazitologiya* 4, 363–364.
- Lafferty, K.D., Allesina, S., Arim, M., Briggs, C.J., De Leo, G., Dobson, A.P., Dunne, J.A., Johnson, P.T., Kuris, A.M., Marcogliese, D.J., 2008. Parasites in food webs: the ultimate missing links. *Ecology letters* 11, 533–546.
- Lafferty, K.D., Kuris, A.M., 2002. Trophic strategies, animal diversity and body size. *Trends in Ecology & Evolution* 17, 507–513.
- Lammers, G.A., Bronneberg, R.G.G., Vernooij, J.C.M., Stegeman, J.A., 2017. Experimental validation of the AVIVET trap, a tool to quantitatively monitor the dynamics of *Dermanyssus gallinae* populations in laying hens. *Poultry science* 96, 1563–1572.
- Lancaster Jr, J.L., Meisch, M.V., 1986. *Arthropods in livestock and poultry production*. Ellis Horwood.
- Landner, L., Blanck, H., Heyman, U., Lundgren, A., Notini, M., Rosemarin, A., Sundelin, B., 1989. Community testing, microcosm and mesocosm experiments: ecotoxicological tools with high ecological realism, in: *Chemicals in the Aquatic Environment*. Springer, pp. 216–254.
- Leroux, S.J., Loreau, M., 2015. Theoretical perspectives on bottom-up and top-down interactions across ecosystems. *Trophic ecology* 3–28.
- Lesna, I., Sabelis, M.W., van Niekerk, T.G.C.M., Komdeur, J., 2012. Laboratory tests for controlling poultry red mites (*Dermanyssus gallinae*) with predatory mites in small ‘laying hen’ cages. *Exp Appl Acarol* 58, 371–383. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9596-z>
- Lesna, I., Wolfs, P., Faraji, F., Roy, L., Komdeur, J., Sabelis, M.W., 2009. Candidate predators for biological control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Exp Appl Acarol* 48, 63–80. <https://doi.org/10.1007/s10493-009-9239-1>
- Liu, C., Yan, L., Li, H., Wang, G., 2006. Effects of predator-mediated apparent competition on the population dynamics of *Tetranychus urticae* on apples. *Biocontrol* 51, 453–463. <https://doi.org/10.1007/s10526-005-4363-z>
- Losey, J.E., Denno, R.F., 1998. Positive predator–predator interactions: enhanced predation rates and synergistic suppression of aphid populations. *Ecology* 79, 2143–2152.
- Luck, R.F., 1990. Evaluation of natural enemies for biological control: A behavioral approach. *Trends in Ecology & Evolution* 5, 196–199. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(90\)90210-5](https://doi.org/10.1016/0169-5347(90)90210-5)

- Luck, R.F., Shepard, B.M., Kenmore, P.E., 1988. Experimental methods for evaluating arthropod natural enemies. *Annual Review of Entomology* 33, 367–389.
- Macfadyen, S., Davies, A.P., Zalucki, M.P., 2015. Assessing the impact of arthropod natural enemies on crop pests at the field scale. *Insect science* 22, 20–34.
- Madsen, M., Terkildsen, S., Toft, S., 2004. Microcosm studies on control of aphids by generalist arthropod predators: effects of alternative prey. *BioControl* 49, 483–504.
- Mann, J.A., Stinner, R.E., Axtell, R.C., 1990. Parasitism of house fly (*Musca domestica*) pupae by four species of Pteromalidae (Hymenoptera): effects of host–parasitoid densities and host distribution. *Medical and veterinary entomology* 4, 235–243.
- Mansfield, S., 2019. Intraguild predation and prey preferences influence biological control of *Paropsis charybdis* by the southern ladybird, *Cleobora mellyi*. *Biological Control* 129, 164–170. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.10.013>
- Marangi, M., Cafiero, M.A., Capelli, G., Camarda, A., Sparagano, O.A.E., Giangaspero, A., 2008. Evaluation of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) susceptibility to some acaricides in field populations from Italy, in: *Control of Poultry Mites (Dermanyssus)*. Springer, pp. 11–18.
- Maurer, V., 1993. The dynamics of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) populations interacting with laying hens and the predatory mite *Cheyletus eruditus* (Acari: Cheyletidae). ETH Zurich. <https://doi.org/10.3929/ethz-a-000916736>
- Maurer, V., Baumgärtner, J., 1992. Temperature influence on life table statistics of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Exp Appl Acarol* 15, 27–40. <https://doi.org/10.1007/BF01193965>
- Maurer, V., Baumgärtner, J., Bieri, M., Fölsch, D.W., 1993. The occurrence of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) in Swiss poultry houses. *Mitt Schweiz Entomol Ges* 66, 87–97.
- Maurer, V., Bieri, M., Foelsch, D.W., 1988. Host-finding of *Dermanyssus gallinae* in poultry-houses. *Archiv fuer Gefluegelkunde (Germany, FR)*.
- Maurer, V., Hertzberg, H., 2001. Ökologische legehennenhaltung. Was tun gegen die kleinen Vampire 49–52.
- Memmott, J., Martinez, N.D., Cohen, J.E., 2000. Predators, parasitoids and pathogens: species richness, trophic generality and body sizes in a natural food web. *J Anim Ecology* 69, 1–15. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2000.00367.x>
- Messing, R., Roitberg, B., Brodeur, J., 2006. Measuring and predicting indirect impacts of biological control: competition, displacement and secondary interactions. *Environmental impact of invertebrates for biological control of arthropods: Methods and risk assessment* 64–77.
- Millennium Ecosystem Assessment, M.E.A., 2005. *Ecosystems and human well-being*. Island press United States of America.
- Moore, J.C., de Ruiter, P.C., 2012. *Energetic food webs: an analysis of real and model ecosystems*. OUP Oxford.
- Moreira, G.F., de Moraes, G.J., 2015. The potential of free-living laelapid mites (Mesostigmata: Laelapidae) as biological control agents, in: *Prospects for Biological Control of Plant Feeding Mites and Other Harmful Organisms*. Springer, pp. 77–102.
- Moss, W.W., 1978. The mite genus *Dermanyssus*: a survey, with description of *Dermanyssus trochilinis*, n. sp., and a revised key to the species (Acari: Mesostigmata: Dermanyssidae). *Journal of Medical Entomology* 14, 627–640.
- Mul, M., 2016. Fact sheet: The Poultry Red Mite, *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) A small pest that packs a big punch 2013.

- Mul, M., Van Niekerk, T., Chirico, J., Maurer, V., Kilpinen, O., Sparagano, O., Thind, B., Zoons, J., Moore, D., Bell, B., 2009. Control methods for *Dermanyssus gallinae* in systems for laying hens: results of an international seminar. *World's Poultry Science Journal* 65, 589–600.
- Mul, M.F., 2017. Advancing integrated pest management for *Dermanyssus gallinae* in laying hen facilities. Wageningen University.
- Mul, M.F., van Riel, J.W., Meerburg, B.G., Dicke, M., George, D.R., Koerkamp, P.W.G., 2015. Validation of an automated mite counter for *Dermanyssus gallinae* in experimental laying hen cages. *Experimental and Applied Acarology* 66, 589–603.
- Mul, M.F., van Riel, J.W., Roy, L., Zoons, J., André, G., George, D.R., Meerburg, B.G., Dicke, M., van Mourik, S., Groot Koerkamp, P.W.G., 2017. Development of a model forecasting *Dermanyssus gallinae*'s population dynamics for advancing Integrated Pest Management in laying hen facilities. *Veterinary Parasitology* 245, 128–140. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.07.027>
- Mullen, G.R., Durden, L.A., 2009. Medical and veterinary entomology. Academic press.
- Mullens, B.A., Owen, J.P., Kuney, D.R., Szijj, C.E., Klingler, K.A., 2009. Temporal changes in distribution, prevalence and intensity of northern fowl mite (*Ornithonyssus sylviarum*) parasitism in commercial caged laying hens, with a comprehensive economic analysis of parasite impact. *Veterinary parasitology* 160, 116–133.
- Murdoch, W.W., 1969. Switching in General Predators: Experiments on Predator Specificity and Stability of Prey Populations. *Ecol Monogr* 39, 335–354. <https://doi.org/10.2307/1942352>
- Naylor, R., Ehrlich, P.R., 1997. Natural pest control services and agriculture, in: *Nature's Services: Societal Dependence on Natural Ecosystems*. pp. 151–174.
- Nordenfors, H., Hoglund, J., 2000. Long term dynamics of *Dermanyssus gallinae* in relation to mite control measures in aviary systems for layers. *British Poultry Science* 41, 533–540. <https://doi.org/10.1080/713654991>
- Nordenfors, H., Höglund, J., Ugglä, A., 1999. Effects of Temperature and Humidity on Oviposition, Molting, and Longevity of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *J Med Entomol* 36, 68–72. <https://doi.org/10.1093/jmedent/36.1.68>
- Nunn, F.G., Baganz, J., Bartley, K., Hall, S., Burgess, S., Nisbet, A.J., 2020. An Improved Method for in Vitro Feeding of *Dermanyssus gallinae* (Poultry Red Mite) Using Baudruche Membrane (Goldbeater's Skin).
- Øines, Ø., Brännström, S., 2011. Molecular investigations of cytochrome c oxidase subunit I (COI) and the internal transcribed spacer (ITS) in the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, in northern Europe and implications for its transmission between laying poultry farms. *Medical and Veterinary Entomology* 25, 402–412.
- Östman, Ö., Ekbom, B., Bengtsson, J., 2003. Yield increase attributable to aphid predation by ground-living polyphagous natural enemies in spring barley in Sweden. *Ecological economics* 45, 149–158.
- Paine, R.T., 1980. Food webs: linkage, interaction strength and community infrastructure. *Journal of animal ecology* 49, 667–685.
- Parajulee, M.N., Phillips, T.W., 1992. Laboratory Rearing and Field Observations of *Lyctocoris campestris* (Heteroptera: Anthracoridae), a Predator of Stored-Product Insects. *Annals of the Entomological Society of America* 85, 736–743. <https://doi.org/10.1093/aesa/85.6.736>
- Pascual, M., Dunne, J.A., 2006. From small to large ecological networks in a dynamic world. *Ecological Networks: Linking Structure to Dynamics in Food Webs* 3–24.
- Pearce, S., Hebron, W.M., Raven, R.J., Zalucki, M.P., Hassan, E., 2004. Spider fauna of soybean crops in south-east Queensland and their potential as predators of *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae). *Australian journal of entomology* 43, 57–65.

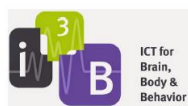
- Péricart, J., 1972. Hémiptères Anthocoridae, Cimicidae et Microphysidae de l'ouest-paléarctique. Fauna de l'Europe et du Bassin Méditerranéen 7, 1–404.
- Poinar Jr, G.O., Curcic, B.P., Cokendolpher, J.C., 1998. Arthropod phoresy involving pseudoscorpions in the past and present. *Acta arachnologica* 47, 79–96.
- Polis, G.A., 1991. Complex trophic interactions in deserts: an empirical critique of food-web theory. *The American Naturalist* 138, 123–155.
- Polis, G.A., Strong, D.R., 1996. Food web complexity and community dynamics. *The American Naturalist* 147, 813–846.
- Price, P.W., 1987. The role of natural enemies in insect populations. *Insect outbreaks* 287–312.
- Proctor, H., Owens, I., 2000. Mites and birds: diversity, parasitism and coevolution. *Trends in ecology & evolution* 15, 358–364.
- Pugliese, N., Circella, E., Marino, M., De Virgilio, C., Cocciolo, G., Lozito, P., Cafiero, M.A., Camarda, A., 2019. Circulation dynamics of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. *Gallinarum* biovar *Gallinarum* in a poultry farm infested by *Dermanyssus gallinae*. *Medical and veterinary entomology* 33, 162–170.
- Quilicot, A.M.M., Gottstein, Ž., Prukner-Radovčić, E., Horvatek Tomić, D., 2020. Plant-derived products for the control of poultry red mite (*Dermanyssus gallinae* De Geer, 1778)—a review. *World's Poultry Science Journal* 1–13.
- Raffel, T.R., Martin, L.B., Rohr, J.R., 2008. Parasites as predators: unifying natural enemy ecology. *Trends in ecology & evolution* 23, 610–618.
- Ripple, W.J., Estes, J.A., Schmitz, O.J., Constant, V., Kaylor, M.J., Lenz, A., Motley, J.L., Self, K.E., Taylor, D.S., Wolf, C., 2016. What is a trophic cascade? *Trends in ecology & evolution* 31, 842–849.
- Rooney, N., McCann, K.S., 2012. Integrating food web diversity, structure and stability. *Trends in ecology & evolution* 27, 40–46.
- Rosenheim, J.A., Harmon, J.P., 2006. The influence of intraguild predation on the suppression of a shared prey population: an empirical reassessment, in: *Trophic and Guild in Biological Interactions Control*. Springer, Dordrecht, pp. 1–20.
- Rosenheim, J.A., Kaya, H.K., Ehler, L.E., Marois, J.J., Jaffee, B.A., 1995. Intraguild predation among biological-control agents: theory and evidence. *Biological control* 5, 303–335.
- Rosenheim, J.A., Wilhoit, L.R., Armer, C.A., 1993. Influence of intraguild predation among generalist insect predators on the suppression of an herbivore population. *Oecologia* 96, 439–449.
- Roy, L., 2009. *Ecologie évolutive d'un genre d'acarien hématophage: approche phylogénétique des délimitations interspécifiques et caractérisation comparative des populations de cinq espèces du genre Dermanyssus (Acari: Mesostigmata)* (PhD Thesis).
- Roy, L., Buronfosse, T., 2011. Using mitochondrial and nuclear sequence data for disentangling population structure in complex pest species: a case study with *Dermanyssus gallinae*. *PLoS One* 6, e22305.
- Roy, L., Chauve, C.M., 2007. Historical review of the genus *Dermanyssus* Duges, 1834 (Acari: Mesostigmata: Dermanyssidae). *Parasite* 14, 87–100.
- Roy, L., Dowling, A.P.G., Chauve, C.M., Buronfosse, T., 2009. Delimiting species boundaries within *Dermanyssus* Dugès, 1834 (Acari: Dermanyssidae) using a total evidence approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 50, 446–470. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.11.012>
- Roy, L., El Adouzi, M., Moraza, M.L., Chiron, G., Villeneuve de Janti, E., Le Peutrec, G., Bonato, O., 2017. Arthropod communities of laying hen houses: An integrative pilot study toward conservation biocontrol of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Biol Control* 114, 176–194. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.08.006>

- Ruff, M.D., 1999. Important parasites in poultry production systems. *Veterinary parasitology* 84, 337–347.
- Scheu, S., Setälä, H., 2002. Multitrophic interactions in decomposer food. *Multitrophic level interactions* 223.
- Schmitz, O.J., 2007. Predator diversity and trophic interactions. *Ecology* 88, 2415–2426.
- Settle, W.H., Ariawan, H., Astuti, E.T., Cahyana, W., Hakim, A.L., Hindayana, D., Lestari, A.S., 1996. Managing Tropical Rice Pests Through Conservation of Generalist Natural Enemies and Alternative Prey. *Ecology* 77, 1975–1988. <https://doi.org/10.2307/2265694>
- Shennan, C., 2008. Biotic interactions, ecological knowledge and agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363, 717–739.
- Sigognault Flochlay, A., Thomas, E., Sparagano, O., 2017. Poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) infestation: a broad impact parasitological disease that still remains a significant challenge for the egg-laying industry in Europe. *Parasites Vectors* 10, 357. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2292-4>
- Sih, A., Englund, G., Wooster, D., 1998. Emergent impacts of multiple predators on prey. *Trends in Ecology & Evolution* 13, 350–355. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(98\)01437-2](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01437-2)
- Sikes, R.K., Chamberlain, R.W., 1954. Laboratory observations on three species of bird mites. *The Journal of Parasitology* 40, 691–697.
- Silva, G.L. da, Ferla, N.J., Toldi, M., Faleiro, D.C.C., 2013. Mite fauna (Acari) associated to commercial laying hens and bird nests in Vale do Taquari, Rio Grande do Sul, Brazil. *Biotemas* 26, 253–262. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2013v26n4p253>
- Sleeckx, N., Van Gorp, S., Koopman, R., Kempen, I., Van Hove, K., De Baere, K., Zoons, J., De Herdt, P., 2019. Production losses in laying hens during infestation with the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Avian Pathology* 48, S17–S21.
- Smith, M.G., Blattner, R.J., Heys, F.M., 1947. St. Louis encephalitis: Transmission of virus to chickens by infected mites *Dermanyssus gallinae* and resulting viremia as source of virus for infection of mites. *The Journal of experimental medicine* 86, 229–237.
- Smith, M.G., Blattner, R.J., Keys, F.M., 1944. The isolation of the St. Louis encephalitis virus from chicken mites (*Dermanyssus gallinae*) in nature. *Science (Washington)* 100.
- Sparagano, O., Pavličević, A., Murano, T., Camarda, A., Sahibi, H., Kilpinen, O., Mul, M., van Emous, R., le Bouquin, S., Hoel, K., Cafiero, M.A., 2009. Prevalence and key figures for the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* infections in poultry farm systems. *Exp Appl Acarol* 48, 3–10. <https://doi.org/10.1007/s10493-008-9233-z>
- Sparagano, O.A.E., George, D.R., Harrington, D.W.J., Giangaspero, A., 2014. Significance and Control of the Poultry Red Mite, *Dermanyssus gallinae*. *Annu. Rev. Entomol.* 59, 447–466. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162101>
- Stockton, C.M., 2004. Novel approaches to the control of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (PhD Thesis). Keele University.
- Stoffolano Jr, J.G., Geden, C.J., 1987. Succession of manure arthropods at a poultry farm in Massachusetts, USA, with observations on *Carcinops pumilio* (Coleoptera: Histeridae) sex ratios, ovarian condition, and body size. *Journal of Medical Entomology* 24, 212–220.
- Straub, C.S., Finke, D.L., Snyder, W.E., 2008. Are the conservation of natural enemy biodiversity and biological control compatible goals? *Biological Control* 45, 225–237. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.05.013>
- Symondson, W.O.C., 2002. Molecular identification of prey in predator diets. *Molecular ecology* 11, 627–641.

- Symondson, W.O.C., Sunderland, K.D., Greenstone, M.H., 2002. Can Generalist Predators be Effective Biocontrol Agents? *Annu. Rev. Entomol.* 47, 561–594. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145240>
- Tabari, M.A., Rostami, A., Khodashenas, A., Maggi, F., Petrelli, R., Giordani, C., Tapondjou, L.A., Papa, F., Zuo, Y., Cianfaglione, K., 2020. Acaricidal activity, mode of action, and persistent efficacy of selected essential oils on the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*). *Food and Chemical Toxicology* 138, 111207.
- Tavassoli, M., Allymehr, M., Pourseyed, S.H., Ownag, A., Bernousi, I., Mardani, K., Ghorbanzadegan, M., Shokrpour, S., 2011. Field bioassay of *Metarhizium anisopliae* strains to control the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Veterinary Parasitology* 178, 374–378.
- Thind, B.B., Ford, H.L., 2006. Laboratory Studies on the use of Two New Arenas to Evaluate the Impact of the Predatory Mites *Blattisocius tarsalis* and *Cheyletus eruditus* on Residual Populations of the Stored Product Mite *Acarus siro*. *Exp Appl Acarol* 38, 167–180. <https://doi.org/10.1007/s10493-005-5829-8>
- Toldi, M., Faleiro, D.C.C., Da Silva, G.L., Ferla, N.J., 2017. Life cycle of the predatory mite *Cheyletus malaccensis* (Acari: Cheyletidae) fed on Poultry Red Mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *saa* 22, 1422. <https://doi.org/10.11158/saa.22.9.9>
- Tomer, H., Blum, T., Arye, I., Faigenboim, A., Gottlieb, Y., Ment, D., 2018. Activity of native and commercial strains of *Metarhizium* spp. against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* under different environmental conditions. *Veterinary parasitology* 262, 20–25.
- Tucci, E.C., Prado, A.P., Araújo, R.P., 2008. Development of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae) at different temperatures. *Veterinary Parasitology* 155, 127–132. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.04.005>
- Tuovinen, T., 2013. Predatory mites against the poultry red mite, in: Conference. Presented at the Nordic Poultry Conference, Helsinki, Finland.
- Valiente Moro, C., De Luna, C.J., Tod, A., Guy, J.H., Sparagano, O.A., Zenner, L., 2009. The poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*): a potential vector of pathogenic agents, in: *Control of Poultry Mites (Dermanyssus)*. Springer, pp. 93–104.
- Van Driesche, R.G., Hoddle, M.S., 2000. Classical arthropod biological control: measuring success, step by step, in: *Biological Control: Measures of Success*. Springer, pp. 39–75.
- Van Emous, R., 2017. Verwachte schade bloedluis 21 miljoen euro. *Pluimveeweb. nl*. 2017.
- Van Emous, R.A., Fiks-Van Niekerk, T., Mul, M.F., 2006. 11 million damage for the sector: enquiry into the cost of mites to the poultry industry. *De pluimveehouderij* 35, 8–9.
- Van Lenteren, J.C., 2012. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl* 57, 1–20.
- Van Lenteren, J.C., 2000. Success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies, in: *Biological Control: Measures of Success*. Springer, pp. 77–103.
- Van Lenteren, J.C., Babendreier, D., Bigler, F., Burgio, G., Hokkanen, H.M.T., Kuske, S., Loomans, A.J.M., Menzler-Hokkanen, I., Van Rijn, P.C.J., Thomas, M.B., 2003. Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control. *BioControl* 48, 3–38.
- Vandermeer, J., Perfecto, I., 2013. Breakfast of biodiversity: The political ecology of rain forest destruction. *Food First Books*.
- Vandermeer, J., Perfecto, I., Philpott, S., 2010. Ecological complexity and pest control in organic coffee production: uncovering an autonomous ecosystem service. *BioScience* 60, 527–537.
- Wang, C., Ma, Y., Huang, Y., Xu, J., Cai, J., Pan, B., 2018. An efficient rearing system rapidly producing large quantities of poultry red mites, *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae), under laboratory conditions. *Veterinary parasitology* 258, 38–45.

- Wharton, G.W., Arlian, L.G., 1972. Predatory behaviour of the mite *Cheyletus aversor*. Anim Behav 20, 719–723. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(72\)80143-X](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(72)80143-X)
- Wilby, A., Anglin, L.A., Nesbit, C.M., 2013. Plant species composition alters the sign and strength of an emergent multi-predator effect by modifying predator foraging behaviour. PLoS one 8, e70258.
- Wilhelm, F.M., Schindler, D.W., McNaught, A.S., 2000. The influence of experimental scale on estimating the predation rate of *Gammarus lacustris* (Crustacea: Amphipoda) on *Daphnia* in an alpine lake. Journal of Plankton Research 22, 1719–1734.
- Willis, R.R., Axtell, R.C., 1968. Mite predators of the house fly: a comparison of *Fuscuropoda vegetans* and *Macrocheles muscaedomesticae*. Journal of economic entomology 61, 1669–1674.
- Wojcik, A.R., Grygon-Franckiewicz, B., Zbikowska, E., Wasielewski, L., 2000. Invasion of *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) in poultry farms in the Toruń region. Wiadomosci parazytologiczne 46, 511–515.
- Wolfs, P.H., Lesna, I.K., Sabelis, M.W., Komdeur, J., 2012. Trophic structure of arthropods in Starling nests matter to blood parasites and thereby to nestling development. Journal of Ornithology 153, 913–919.
- Wood, H.P., 1917. The chicken mite: its life history and habits. US Department of Agriculture.
- Xu, Q., Xu, H., Fujiyama, S., Amarasekara, P., 2015. Indigenous generalist predators and plant residues: conservation biological control of pests in an organically managed cabbage field. International Journal of Pest Management 61, 113–120.
- Yasui, Y., 1997. Sperm competition and the significance of female multiple mating in the predatory mite *Parasitus fimetorum*. Exp Appl Acarol 21, 651–664. <https://doi.org/10.1007/BF02803508>
- Zeman, P., Železný, J., 1985. The susceptibility of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778), to some acaricides under laboratory conditions. Experimental & applied acarology 1, 17–22.
- Zriki, G., Blatrix, R., Roy, L., 2020. Predation interactions among henhouse-dwelling arthropods, with a focus on the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. Pest Manag Sci ps.5920. <https://doi.org/10.1002/ps.5920>





Smart Digital Farming

Clusters for Innovation



NIEDERSÄCHSISCHE



GEFLÜGELWIRTSCHAFT

