



HAL
open science

ANISOPTEROMALUS CALANDRAE:UN MODÈLE POUR L'ÉTUDE DU SUCCÈS REPRODUCTEUR DES MÂLES

Hong Do Ti Khanh

► **To cite this version:**

Hong Do Ti Khanh. ANISOPTEROMALUS CALANDRAE:UN MODÈLE POUR L'ÉTUDE DU SUCCÈS REPRODUCTEUR DES MÂLES. Ecologie, Environnement. Université François Rabelais - Tours, 2005. Français. NNT: . tel-00105131

HAL Id: tel-00105131

<https://theses.hal.science/tel-00105131>

Submitted on 10 Oct 2006

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITÉ FRANÇOIS RABELAIS
TOURS

École Doctorale : Santé, Sciences
et Technologies

Année universitaire : 2004-2005

**THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR
DE L'UNIVERSITÉ DE TOURS**

Discipline : Sciences de la Vie
présentée et soutenue publiquement

par :

Hong DO THI KHANH

Le 18 octobre 2005

ANISOPTEROMALUS CALANDRAE :
UN MODÈLE POUR L'ÉTUDE DU SUCCÈS REPRODUCTEUR DES MÂLES

Directeur de thèse : Pr Claude CHEVRIER

JURY :

M. BRESSAC Christophe	Maître de Conférences, HDR	Université de Tours
M. BRILLARD Jean-Pierre	Directeur de Recherche	INRA – Tours Nouzilly
M. CHEVRIER Claude	Professeur	Université de Tours
Mme JOLY Dominique	Chargée de Recherche, HDR	CNRS – Gif sur Yvette
Mme KAISER-ARNAULD Laure	Chargée de Recherche, HDR	CNRS – Gif sur Yvette
M. MONGE Jean-Paul	Professeur	Université de Tours

Remerciements

Ce travail a été réalisé à l'Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, **IRBI UMR CNRS 6035, UFR Sciences et Techniques de l'Université de Tours**, grâce à un financement partiel de l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) et de l'Association privée Descartes de la Touraine. J'adresse ma gratitude à tous ceux qui m'ont aidée durant toutes ces années. J'espère que je n'oublierai personne. Si c'est le cas, ne m'en tenez aucune rigueur.

Je voudrais remercier un grand nombre de personnes sans qui rien n'aurait été possible :

Monsieur le Professeur **Jérôme Casas**, Directeur de l'IRBI, pour m'avoir acceptée en DEA. Je vous remercie pour votre confiance qui m'a permis de découvrir le monde de la Recherche.

Mon Directeur de thèse, Monsieur le Professeur **Claude Chevrier**, Directeur du Département de Productions Animales à l'Université de Tours et Responsable de l'équipe de Recherche « Mécanismes de la Reproduction » à l'IRBI, pour m'avoir accueillie et guidée au sein de son équipe, d'abord en DEA puis en thèse. Merci pour votre confiance, votre implication durant ces années et pour toutes les démarches que vous avez faites afin d'obtenir des financements.

Mesdames **Dominique Joly** et **Laure Kaiser-Arnauld**, Chargées de Recherche au CNRS de Gif sur Yvette, qui m'ont fait l'honneur d'être **rapporteurs de ma thèse** et de plus dans un délai aussi bref. Merci pour vos précieux conseils scientifiques et pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail.

Les autres membres du jury : Messieurs **Jean-Pierre Brillard**, Directeur de Recherche à l'INRA de Nouzilly, **Jean-Paul Monge**, Professeur à l'Université de Tours et **Christophe Bressac**, Maître de Conférences à l'Université de Tours, pour avoir accepté de juger ce travail et pour l'intérêt qu'ils lui ont porté.

Les membres du comité de thèse : Madame **Dominique Joly**, Monsieur **Jean-Pierre Brillard** et Madame **Anne-Marie Cortesero**, Professeur à l'Université de Rennes 1, pour leurs conseils scientifiques qui m'ont été très bénéfiques.

Je voudrais ici rendre hommage à tous les **membres de l'équipe « Mécanismes de la Reproduction »** à l'IRBI :

Christophe Bressac pour ses conseils et sa disponibilité durant ces années de thèse. Votre aide en informatique, votre bonne humeur et votre sens du positif m'ont beaucoup apporté.

Christian Thibeau qui nous a quittés aujourd'hui, auteur de la découverte du morphe rouge chez *Anisopteromalus calandrae* (sans lequel mon travail ne serait pas le même). Je me souviendrai longtemps de son amitié, de son soutien et de son aide durant toutes ces années. Merci à toi aussi, **Tatianna Chartier** pour ta collaboration ; ta gentillesse et ta bonne humeur m'ont laissé un agréable souvenir de ton séjour à l'IRBI. A vous **Éric Imbert** pour votre gentillesse et votre aide indispensable en cas de pépin.

Un grand merci à toi, **Alexandra Lafitte** pour toute l'aide que tu m'as apportée. Dans les moments de doute, j'avais vraiment besoin de ton amitié, de ta générosité, de ta gentillesse et de ta bonne humeur. Je n'oublierai pas les agréables moments qu'on a passés ensemble.

A toi de même, **Karine Poitrineau** pour ton amitié, tes conseils pertinents en particulier en statistique et les discussions enrichissantes que tu m'as apportées. A toi, **David Damiens** pour m'avoir soutenue et supportée pendant les années de cohabitation. Merci pour ton écoute, ta compréhension et tes conseils. Merci et bonne continuation à **Sandrine Lacoume** qui a commencé sa thèse dans notre équipe. Ton amitié et ta gentillesse vont me manquer.

*Merci à vous **Éric Darrouzet**, **Danielle Rouse** et **Robert Kalmes** pour vos encouragements.*

*Durant cette thèse, j'ai effectué des stages de biologie moléculaire dans le Laboratoire de Biotechnologie de Monsieur le Professeur **Bui Cach Tuyen**, Recteur de l'Université d'Agronomie et de Foresterie de Ho Chi Minh Ville (Vietnam). Je le remercie pour m'avoir initiée à la biologie moléculaire ainsi que tous les membres de son laboratoire pour leur accueil et leur aide.*

*J'ai eu également l'occasion de faire quelques enseignements accordés par le Professeur **Jean-Paul Monge**, UFR Sciences et Techniques de Tours. Je vous remercie pour votre confiance. Merci à vous aussi, **Catherine Boisneau** et **Nathalie Mondy** pour votre aide lors de cette expérience enrichissante.*

*Au cours du DEA et de la thèse au sein de l'IRBI, vous avez dû me croiser plus d'une fois. Je pense à tous ceux qui de près ou de loin et à différentes périodes m'ont encouragée et accompagnée. **Christine**, **Christiane** et **Sonia**, votre générosité et votre aide m'ont été précieuses.*

*Je n'oublie pas mes camarades de DEA : **Bertille**, **Cédric**, **Cyrille**, **Éric**, **Martine** et **Yann** pour les bons moments passés ensemble ainsi qu'avec **Corinne** et **Sylvain**.*

*J'adresse ma profonde gratitude à **Madame Martin** du CROUS de Tours et **Monsieur Augros** de l'Association privée **Descartes de la Touraine** pour leur indispensable soutien.*



*J'en profite pour dire merci à ma logeuse pour son amitié et sa générosité. Mille mercis à **Brigitte Espaze** et **Jean Vonnet** pour leur amitié que je garde toujours avec moi. Merci à **Madame Chevrier** pour sa gentillesse. A mes amis en France et au Vietnam pour tout ce qu'ils ont fait pour moi.*

Enfin, merci à mes proches et surtout à mes parents pour leurs sacrifices et leur soutien sans limite. Ils m'ont donné toutes les chances de suivre la voie que j'avais choisie.

*Et à toi **Michel**, pour ton indispensable soutien et ton implication dans cette thèse ; pour tes sacrifices, ton accompagnement et au-delà de tout, pour toutes les bonnes choses vécues et à venir... La gentillesse de tes parents et de toute ta famille m'encourage beaucoup et me fait parfois oublier les milliers de kilomètres qui me séparent des miens.*

SOMMAIRE

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	3
A - PRESSIONS SÉLECTIVES ET VALEUR SÉLECTIVE DES INDIVIDUS	4
1. Capacité d'accouplement.....	7
2. Succès de transfert des spermatozoïdes.....	8
3. Succès de fécondation	8
4. Effet de la femelle.....	12
B - PRODUCTION SPERMATIQUE ET STRATÉGIES D'ÉJACULATION	14
C - CHEZ LES HYMÉNOPTÈRES PARASITOÏDES	18
D - TRAVAIL DE THÈSE.....	19
1. Objectif.....	19
2. Plan de la thèse	22
CHAPITRE I : MODÈLES BIOLOGIQUES ET OUTILS EXPÉRIMENTAUX	26
A - MODÈLES BIOLOGIQUES.....	26
1. Plante hôte : <i>Vigna unguiculata</i>	26
2. Insecte phytophage parasite: <i>Callosobruchus maculatus</i>	28
3. Insecte entomophage parasitoïde : <i>Anisopteromalus calandrae</i>	30
B - OUTILS EXPÉRIMENTAUX.....	37
1. Marqueur génétique de paternité	37
2. Obtention des mâles ayant des traits d'histoire de vie différents	40
3. Obtention des mâles ayant des réserves spermatiques différentes	43
4. Discussion.....	45
CHAPITRE II : CAPACITÉ D'ACCOUPEMENT DU MÂLE	47
A - QUESTION BIOLOGIQUE	48
B - MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	50
1. Obtention des parasitoïdes vierges	50
2. Étude des accouplements.....	50
3. Analyses statistiques des données	51
C - RÉSULTATS.....	53
1. Accouplements simples	53
2. Compétition entre deux mâles pour l'accès à une femelle	55
D - DISCUSSION.....	61
CHAPITRE III : DISTRIBUTION ET STOCKAGE DES SPERMATOZOÏDES.....	67
A - QUESTION BIOLOGIQUE	68
B - MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	69
1. Quantification des spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelle après un accouplement simple	69
2. Quantification des spermatozoïdes dans la spermathèque des femelles inséminées par un mâle et chez le mâle après des accouplements multiples	69
3. Quantification des spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelles inséminée après une compétition entre mâles.....	70
4. Analyses statistiques des données	70

C - RÉSULTATS	73
1. Nombre de spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelle après un accouplement simple	73
2. Nombre de spermatozoïdes dans la spermathèque des femelles inséminées par un mâle et chez le mâle après des accouplements multiples	75
3. Nombre de spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelle inséminée après une compétition entre deux mâles de morphes différents	79
4. Nombre de spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelle inséminée après une compétition entre mâles du même morphe	81
D - DISCUSSION	82
CHAPITRE IV : ÉTUDE DE LA DESCENDANCE	87
A - QUESTION BIOLOGIQUE	89
B - MATÉRIEL ET MÉTHODES	92
1. Obtention des graines parasitées.....	92
2. Mise en ponte des femelles accouplées	92
3. Étude de la paternité des descendants.....	93
4. Analyses statistiques des données	94
C - RÉSULTATS	96
1. Descendance issue d'un accouplement simple	96
2. Descendance issue d'une compétition entre deux mâles vierges de morphes différents ..	99
3. Descendance issue d'une compétition entre deux mâles vierges d'âges différents.....	104
4. Descendance issue d'une compétition entre deux mâles ayant des expériences sexuelles différentes	113
5. Bilan des résultats concernant la descendance issue d'une compétition entre deux mâles	118
D - DISCUSSION	119
1. Descendance issue d'un accouplement simple.....	119
2. Descendance issue d'une compétition entre deux mâles.....	122
RÉSULTATS PRINCIPAUX DU TRAVAIL DE THÈSE	126
DISCUSSION GÉNÉRALE	128
A - ACCOUPLEMENTS SIMPLES	128
B - ACCOUPLEMENTS MULTIPLES DU MÂLE	129
C - COMPÉTITION ENTRE DEUX MÂLES	131
D - GLOBALISATION AU NIVEAU DES GROUPES D'INDIVIDUS	134
E - CONCLUSION	137
F - PERSPECTIVES	138
1. En conditions contrôlées.....	138
2. En conditions semi-contrôlées.....	139
3. En conditions de greniers	140
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	141

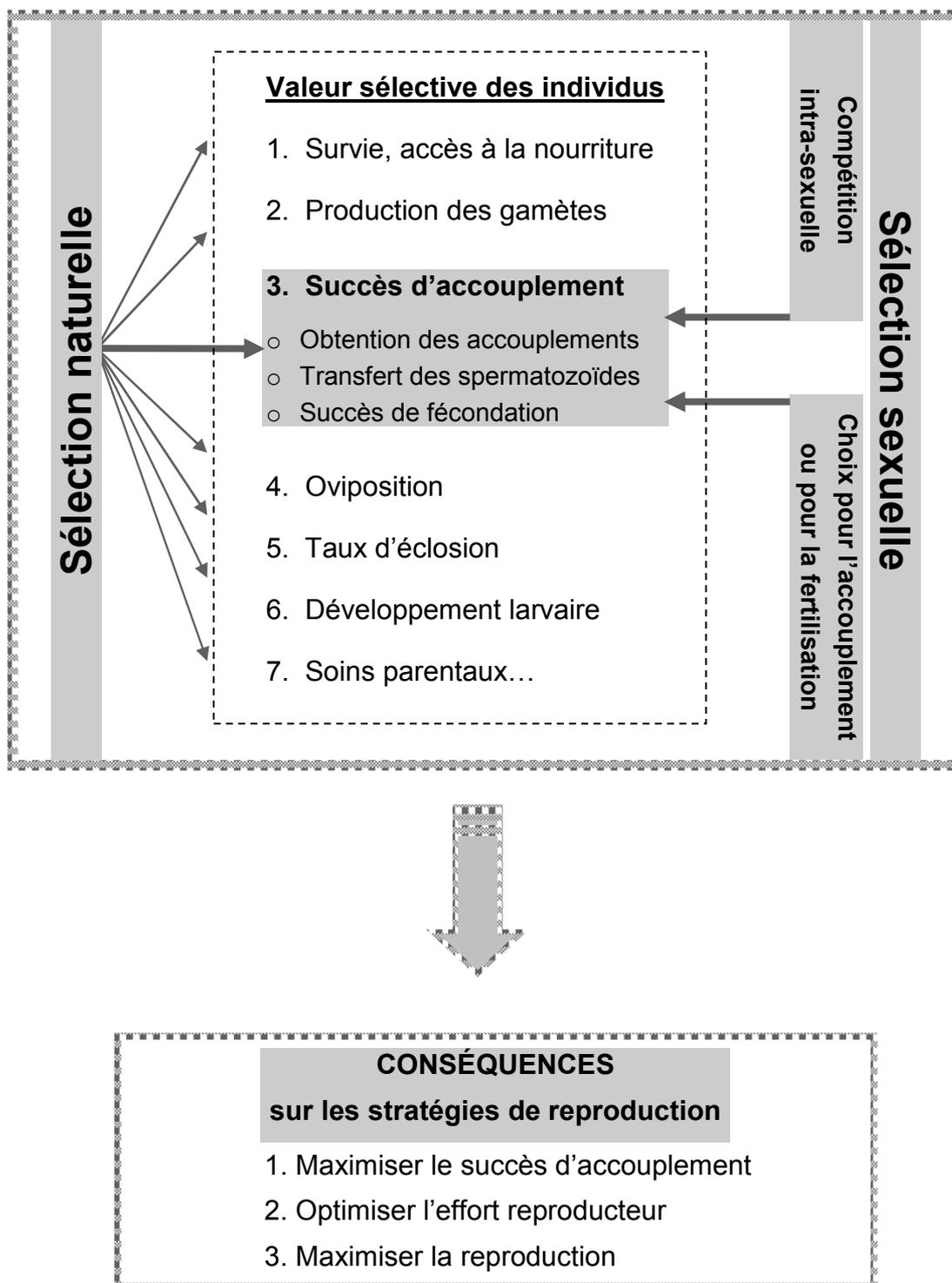


Figure 1 : Pressions sélectives agissant sur différentes composantes de la valeur sélective des individus et conséquences sur leurs stratégies de reproduction.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

A - PRESSIONS SÉLECTIVES ET VALEUR SÉLECTIVE DES INDIVIDUS

Chez les organismes vivants, **la valeur sélective**, *fitness*, des individus (ou leur **succès reproducteur**) est représentée par leur **contribution génétique à la génération suivante** (Darwin, 1859; Aron & Passera, 2000). Ceci est généralement exprimé en terme du **nombre de descendants produits par individu et capables de se reproduire à nouveau**. Cette valeur sélective globale peut être décomposée en deux parties : valeur sélective directe et valeur sélective indirecte. La valeur sélective directe d'un individu est la part du succès reproducteur issue de sa propre descendance. Tandis que la valeur sélective indirecte d'un individu est la part du succès reproducteur provenant de la descendance des apparentés grâce à l'aide que l'individu apporte à ces derniers (Aron & Passera, 2000).

Charles Darwin (1859) a distingué deux pressions sélectives qui agissent sur la valeur sélective des individus : l'une est la **sélection naturelle** et l'autre est la **sélection sexuelle**. **La sélection naturelle** favorise les adaptations pour la **survie des individus**. **La sélection sexuelle** quant à elle, contribue à optimiser le **succès d'accouplement** des individus.

Les mâles sont différents des femelles par leurs **caractères sexuels primaires** comme les **organes génitaux**, les **gamètes** et les **tractus reproducteurs**. Cependant, Darwin (1871) a souligné que les sexes se différenciaient souvent par leurs **caractères sexuels secondaires** tels que les traits morphologiques ou comportementaux propres à un sexe. Il arrive que la sélection naturelle et la sélection sexuelle agissent d'une manière simultanée sur le succès d'accouplement des individus (figure 1). La sélection naturelle permet la survie des individus les meilleurs et les pressions de la sélection sexuelle les sélectionnent sur leur capacité à maximiser les accouplements. Les traits sexuels primaires et secondaires seraient soumis à une sélection dite stabilisée (Partridge & Endler, 1987; Kirpatrick & Ryan, 1991).

La **sélection sexuelle** augmente la capacité d'accouplement des individus mais également **après la copulation**, elle peut agir sur le **succès de fécondation** (Parker, 1984; Møller, 1998).

En résumé, **le succès reproducteur** des individus est à la fois sous la pression de la sélection naturelle et de la sélection sexuelle (Darwin, 1871; Darwin, 1859; Trivers, 1972). Ces pressions évolutives entraînent **différentes contraintes** dans la reproduction des

individus. Ces contraintes sont **écologiques** (les saisons, la température, l'humidité, les ressources de nourriture...) et **biologiques** (la physiologie, l'anatomie, la diapause, le mode de reproduction...). Toutes les pressions sélectives permettraient la sélection d'individus qui peuvent assurer leur valeur sélective : **(1) en maximisant leur succès d'accouplement** (figure 1) via les traits sexuels primaires (Parker, 1984; Møller, 1998; Simmons, 2001) et secondaires (Darwin, 1871; Thornhill & Alcock, 1983); **(2) en optimisant leur effort reproducteur** (figure 1) par le biais de **compromis** comme une diminution des soins parentaux si le nombre des accouplements augmente (Trivers, 1972); **(3) et enfin, en maximisant leur reproduction** (figure 1) à travers la quantité et la qualité des gamètes, la fécondation, l'oviposition, les soins parentaux, mais également à travers l'accès à la nourriture et enfin la survie (Darwin, 1859; Darwin, 1871; Trivers, 1972; Dewsbury, 1982; Godfray, 1994).

Chez les insectes, la valeur sélective des femelles a été très étudiée à travers les stratégies d'accouplement, la fécondité et les stratégies de ponte (Hamilton, 1979; Thornhill & Alcock, 1983; Godfray, 1994; Quicke, 1997; Birkhead & Møller, 1998). Tandis que **la valeur sélective des mâles** a été étudiée à travers leur **nombre d'accouplements** et la **descendance obtenue par accouplement** (Dewsbury, 1982; Simmons, 2001). Ainsi, comme chez les femelles, la valeur sélective d'un mâle ou dépend du nombre de descendants engendrés par le mâle durant sa vie reproductive (Arnqvist & Nilsson, 2000), elle dépend directement de sa **capacité à obtenir des accouplements** et de sa **fécondité potentielle** durant sa vie reproductive (Roitberg *et al.*, 2001). Particulièrement, la valeur sélective d'un mâle est évaluée sur les bases de sa vie reproductrice, la période d'accouplement définie comme la période pendant laquelle il est prêt à s'accoupler avec les femelles rencontrées et le nombre de femelles inséminées durant sa vie reproductive. Les variations dans la qualité des mâles peuvent être exprimées dans les différences en **qualité** et en **quantité de spermatozoïdes** disponibles. Par exemple, les mâles qui réalisent des accouplements multiples présentent une diminution de leur stock de spermatozoïdes alors que les mâles vierges ont un stock maximal en spermatozoïdes.

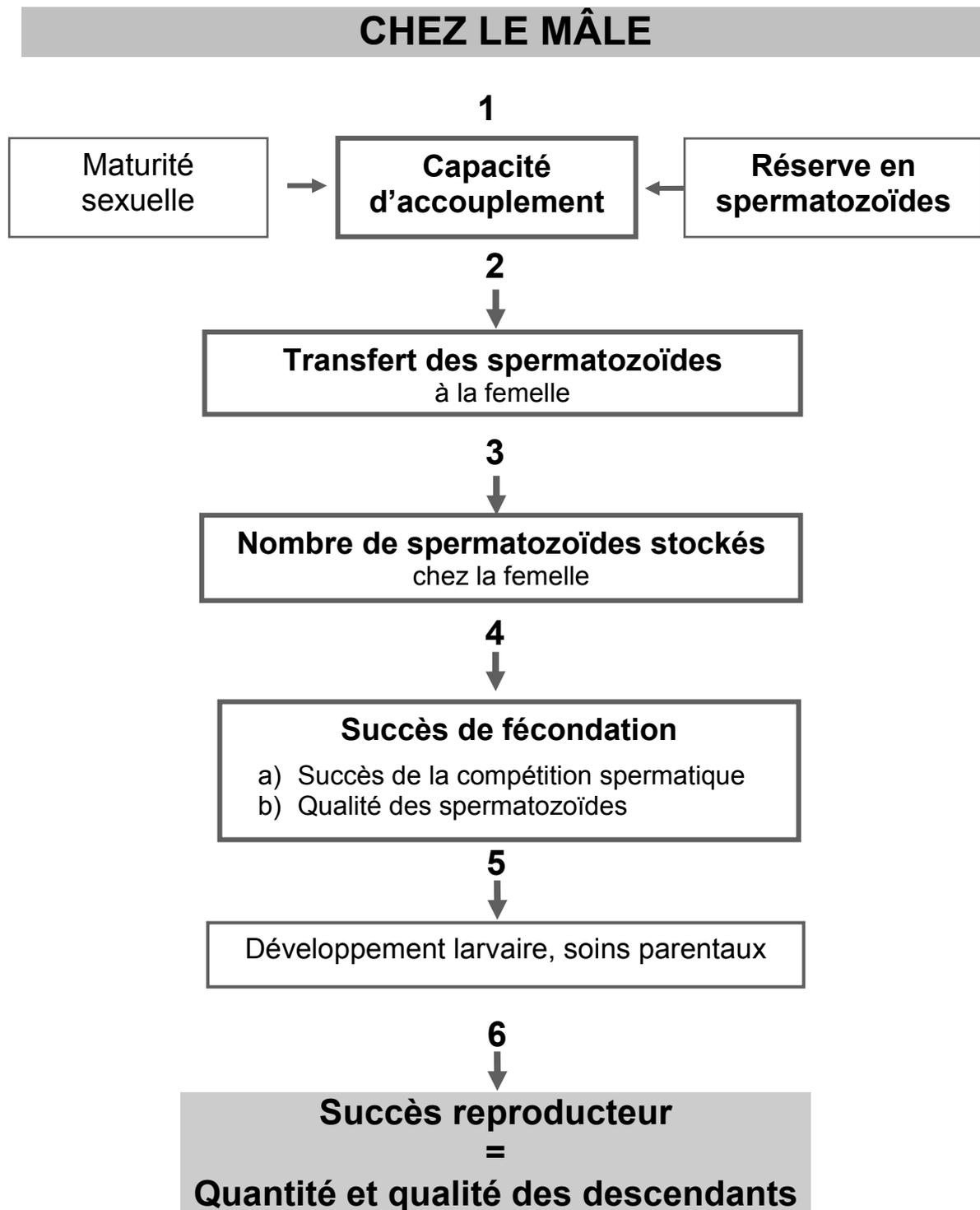


Figure 2 : Présentation des différents paramètres qui agissent sur le succès reproducteur d'un mâle chez les insectes.

Les facteurs déterminants du succès reproducteur des mâles se trouvent à différents niveaux de la reproduction (figure 2) : (1) **l'obtention des accouplements et le succès de copulation** ; (2) le succès de **transfert des spermatozoïdes** à la femelle ; (3) et enfin, le **succès de fécondation**. Chez les insectes où la femelle présente des structures de stockage spermatique et notamment chez les espèces polyandres où une femelle s'accouple avec plusieurs mâles, le succès de fécondation dépend essentiellement de la **quantité de spermatozoïdes stockés** dans la ou les spermathèques de la femelle, de la **compétition entre éjaculats** de mâles différents et également de **l'utilisation des spermatozoïdes** par la femelle. Après la fécondation, le succès reproducteur du mâle peut encore être altéré par une réduction du taux d'éclosion, une mortalité larvaire et parfois par une absence des soins parentaux (Simmons, 2001).

1. Capacité d'accouplement

La valeur sélective du mâle est largement déterminée par le **nombre d'accouplements réussis**. Dans une population, les mâles individuellement peuvent être différents en fonction de leur âge, de leur expérience de reproduction ou de leur génotype ; ces mâles de différentes qualités sont en compétition dans la population pour l'accès aux femelles (Van den Assem, 1989 ; Fawcett & Johnstone, 2003). De plus, la **taille** du mâle peut affecter sa **longévité** et aussi sa **capacité à localiser des femelles**. Dans certains cas, les mâles de petite taille peuvent souffrir d'une compétition intra-sexuelle pour les accouplements.

La capacité d'accouplement du mâle peut dépendre des caractères sexuels secondaires (Darwin, 1871; Thornhill & Alcock, 1983; Sivinski, 1997), mais également des **caractères sexuels primaires**. Simmons (2001) constate une évolution rapide et une grande divergence dans la morphologie et la physiologie de ces traits chez les mâles, tels que **les organes génitaux, le fluide séminal** ou **les spermatozoïdes**. Il semble que les caractères sexuels primaires subissent une sélection sexuelle intense et ont une influence considérable dans le succès reproducteur du mâle (Simmons, 2001). Par exemple, la morphologie des organes génitaux chez les mâles Odonates (Thornhill & Alcock, 1983) joue un rôle décisif dans leur succès d'accouplement.

De plus, le nombre de copulations d'un mâle dépend de l'intensité de la **compétition pour l'accouplement** entre mâles (Parker, 1984). Enfin, le nombre d'accouplements réalisés par un mâle peut également varier en fonction de son accès aux

sources de nourritures ou des caractéristiques de son territoire (Thornhill & Alcock, 1983; Goshima *et al.*, 1998). Ainsi, les mâles dominants obtiennent le plus d'accouplements comme chez les Odonates (Thornhill & Alcock, 1983) et chez certaines mouches (Simmons, 2001).

2. Succès de transfert des spermatozoïdes

Lorsqu'un mâle s'accouple, son succès reproducteur dépend de la réussite de la **copulation** et du **transfert des spermatozoïdes** à la femelle (Thornhill & Alcock, 1983; Parker, 1984; Simmons, 2001). Il existe de nombreux cas où la copulation n'est pas suivie par un transfert de spermatozoïdes par le mâle. Par exemple, la présence d'un **bouchon copulatoire** laissé par le mâle précédent chez une femelle accouplée ne permet pas à un second mâle de s'accoupler comme dans le cas du papillon *Cressida cressida* (Orr & Rutowski, 1991) ou de transférer ses spermatozoïdes comme chez le diptère *Cyrtodiopsis whitei* (Lorch *et al.*, 1993). Le **succès de transfert des spermatozoïdes** peut être lié à différents facteurs. Un **déplacement** ou un **enlèvement des spermatozoïdes** transférés chez la femelle accouplée peut avoir lieu chez la plupart des Odonates lorsqu'un nouveau mâle s'accouple avec la femelle (von Helversen & von Helversen, 1991; Hooper & Siva-Jothy, 1996). Le premier mâle peut perdre jusqu'à 98% de son sperme lors de la copulation d'un second mâle chez les coléoptères à longues cornes *Psacotha hilaris* (Yokoi, 1990). Chez les grillons, quand **la femelle expulse** rapidement le **spermatophore**, le transfert des spermatozoïdes échoue également (Gwynne, 1984; Sakaluk, 1986; Sakaluk & Eggert, 1996; Arnaud, 1999; Simmons, 2001). Ainsi, le succès de transfert des spermatozoïdes dépend des éléments avant, pendant et après l'éjaculat.

3. Succès de fécondation

Chez les insectes, une fois que le mâle réussit à transférer ses spermatozoïdes à la femelle, la **qualité des spermatozoïdes** du mâle peut jouer un rôle dans le succès de fécondation des œufs (Vladić & Järvi, 2001; Damiens *et al.*, 2002). Chez les espèces polyandres, le **succès de fécondation** dépend essentiellement de **la compétition spermatique**, compétition entre différents éjaculats pour la fécondation des œufs d'une même femelle (Parker, 1970 ; 1984) et de la manière dont sont **utilisés les spermatozoïdes** de différents mâles par la femelle (Eberhard, 1996 ; Birkhead & Møller, 1998 ; Simmons, 2001).

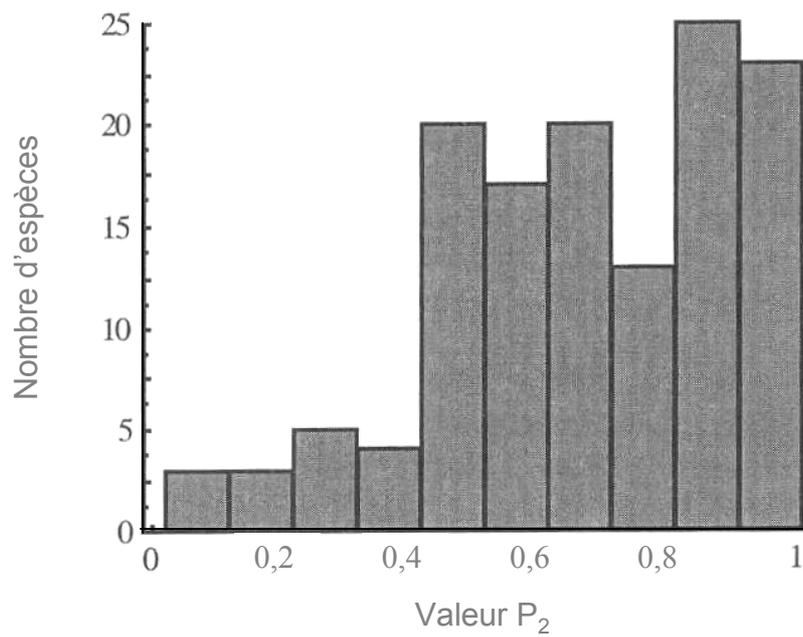


Figure 3 : Variations de la valeur P_2 , proportion de descendants engendrés par le second mâle lorsqu'une femelle s'accouple avec deux mâles différents, chez 133 espèces d'insectes non-sociaux (Simmons, 2001).

Les mâles peuvent développer des stratégies (Simmons, 2001): (1) **pour éviter la compétition spermatique** comme la garde post-copulatoire ou l'enlèvement des spermatozoïdes ; (2) **pour gagner la compétition spermatique** comme avoir des spermatozoïdes de meilleure qualité (plus mobiles ou viables plus longtemps) ; (3) et enfin, des **stratégies alternatives** comme **la taille des éjaculats** plus importante, les copulations prolongées, les copulations répétées...

L'étude de la descendance de la femelle accouplée avec plusieurs mâles permet de relever si un des mâles est mieux représenté et donc de savoir si un mâle a une meilleure valeur sélective. En laboratoire, ces travaux ont porté majoritairement sur l'étude de la descendance de femelles accouplées avec deux mâles différents (Parker, 1984; Simmons, 2001). Chez **les insectes**, c'est souvent **le deuxième mâle** qui est le plus représenté dans la descendance finale. Cette priorité spermatique du second mâle est caractérisée par la **valeur P_2** qui est **la proportion de descendants engendrés par le second mâle** (Boorman & Parker, 1976). La valeur P_2 varie **entre 0 et 1** et elle a été étudiée sur un ensemble de 133 espèces d'insectes non sociaux (figure 3 ; Simmons, 2001). Chez la libellule *Sympetrum danae*, le second mâle a 100% de descendants, donc $P_2=1$ (Simmons, 2001). En général, nous pouvons observer les variations suivantes de la valeur P_2 : **(1)** lorsque $P_2 > 0,8$ (44% des 133 espèces présentées dans la figure 3), il s'agit soit d'un déplacement des spermatozoïdes provenant du premier mâle soit d'une préférence de la femelle en faveur des spermatozoïdes du second mâle (Simmons, 2001) ; **(2)** lorsque $0,7 \geq P_2 \geq 0,4$ (43% des 133 espèces, figure 3), il existe un mélange complet des éjaculats et la compétition spermatique est ainsi intense (Simmons, 2001). Et enfin, **(3)** lorsque $P_2 < 0,4$ (seulement 13% des 133 espèces) : ce dernier cas est assez rare chez les insectes et a été trouvé principalement chez six espèces d'hyménoptères (Simmons, 2001).

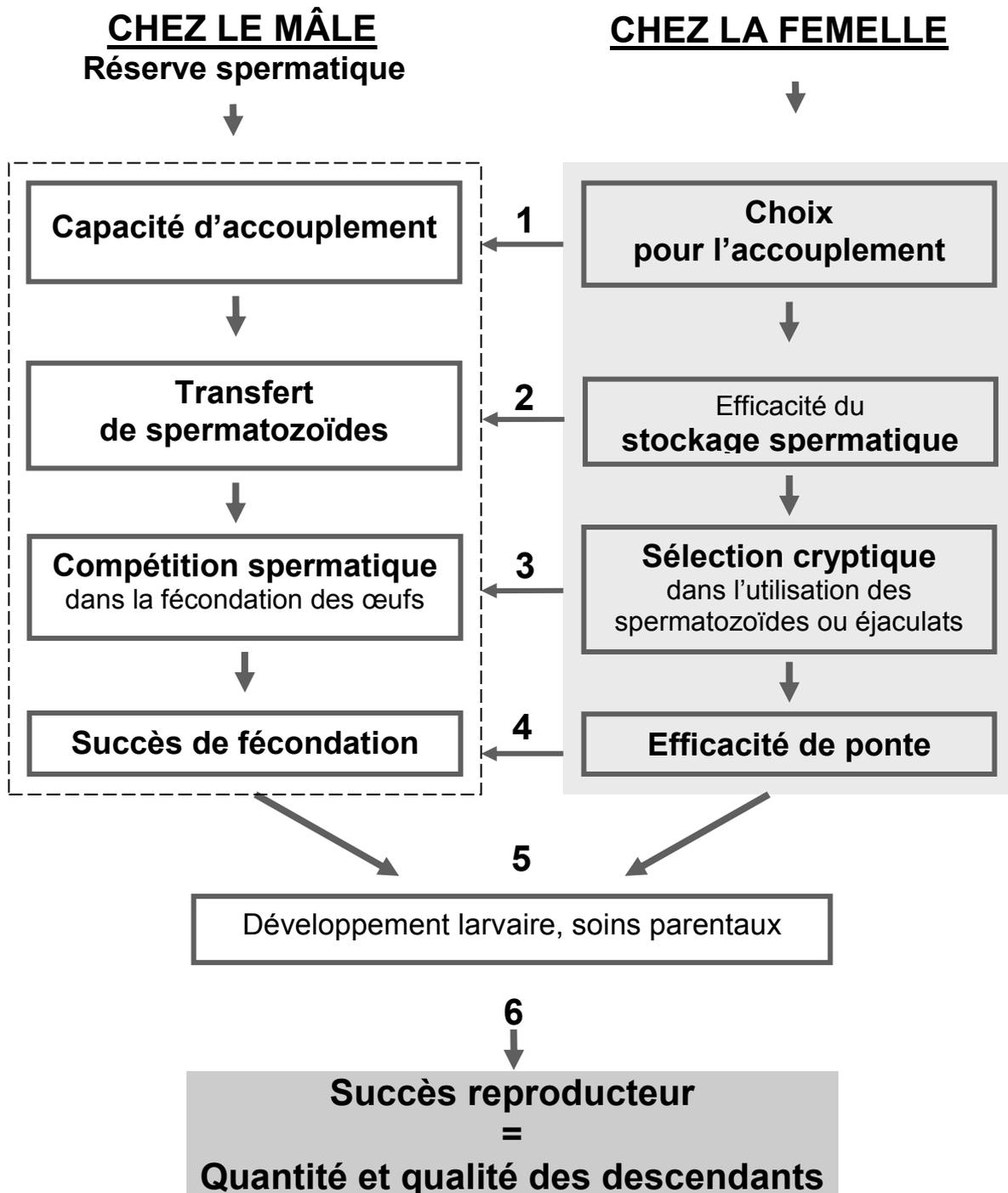


Figure 4 : Modulation du succès reproducteur du mâle par la femelle chez les insectes.

4. Effet de la femelle

Nous savons que **les femelles** d'insectes peuvent agir de manière **active** sur les processus de transfert, de stockage et d'utilisation des spermatozoïdes (figure 4) pour favoriser certains mâles ou pour la paternité des descendants (Thornhill, 1983; Simmons, 1987; Eberhard, 1996). De plus, les mécanismes actifs dans l'organe de stockage pourraient influencer le mélange et le déplacement des spermatozoïdes (Heming-Van Battum & Heming, 1986; Rothschild, 1991; Kaufmann, 1996). La femelle peut également faire une **sélection en faveur des spermatozoïdes** (ou d'éjaculats) **d'un mâle** par rapport à ceux des autres mâles, c'est la **sélection cryptique** de la femelle (Simmons, 1987; Eberhard, 1996). Particulièrement, la sélection cryptique peut avoir lieu en absence de la compétition spermatique (Simmons, 2001).

Ainsi, différents mécanismes peuvent contribuer aux modalités de paternité après des accouplements doubles de la femelle (Simmons, 2001) :

- **Mélange complet** des éjaculats
- **Mélange** des éjaculats **plus une sélection de la femelle** parmi les éjaculats
- **Déplacement** ou un **enlèvement des spermatozoïdes** du premier mâle du site de fécondation
- **Perte du premier éjaculat** des organes de stockage avant la seconde copulation
- **Absence des spermatozoïdes** d'un mâle dans le stockage de la femelle à cause d'une sélection de celle-ci ou d'une insémination non réussie
- Et enfin, **échec du développement** des œufs fécondés par un mâle.

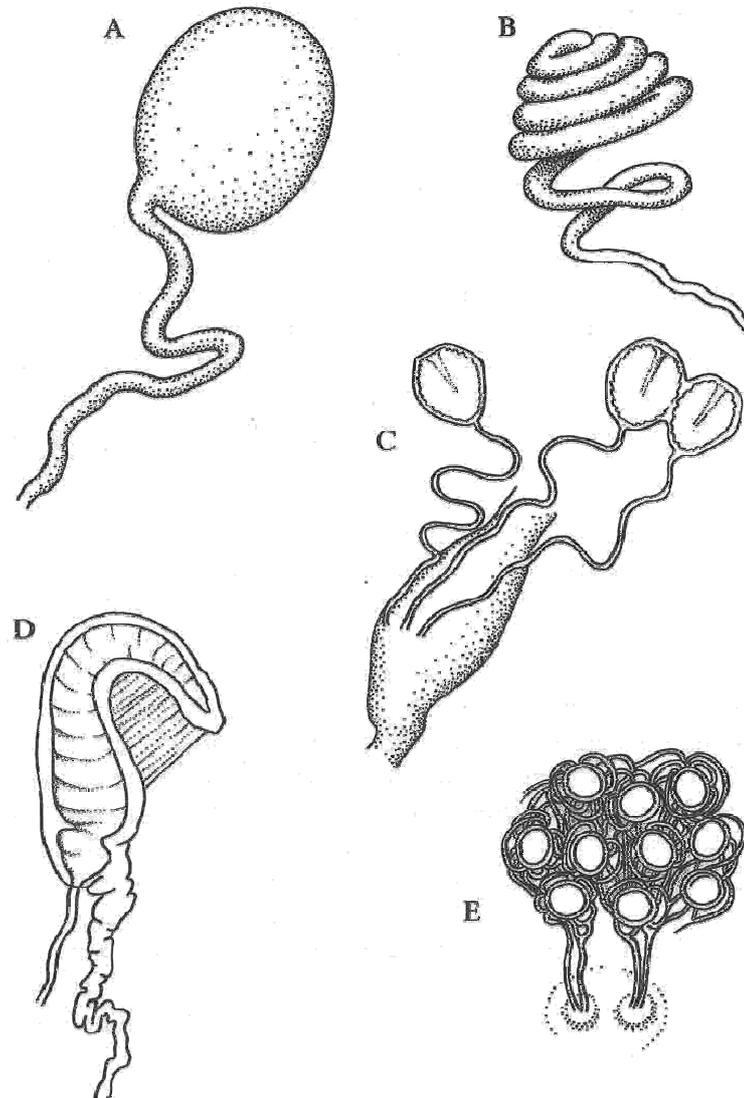


Figure 5: Diversité morphologique des organes de stockage spermatique chez les femelles d'insectes (Simmons, 2001). (A) la spermathèque unique et ronde chez le grillon *Gryllus bimaculatus* (Simmons, 1986); (B) la spermathèque tubulaire chez le criquet migrateur *Locusta migratoria migratorioides* (Gregory, 1965); (C) les trois spermathèques rondes chez la mouche *Scathophaga stercoraria* (Hosken *et al.*, 1999); (D) la spermathèque accompagnée des muscles chez le coléoptère *Chelymorpha alternans* (Rodriguez, 1994) et (E) les dix spermathèques chez les perce-oreilles *Forficula auricularia* (Popham, 1965).

Un autre facteur important dans la paternité de chaque mâle en compétition provient des **caractères morphologiques** ou **physiques des organes de stockage de la femelle**. Selon Simmons (2001), la grande diversité morphologique (figure 5) et les caractères physiques de la spermathèque peuvent fortement influencer les mécanismes de la compétition spermatique : (1) **les petites structures de volume fixe** génèrent un grand potentiel de **déplacement des éjaculats** et (2) **les grandes structures qui sont élastiques** permettent un plus grand potentiel de **mélange des éjaculats**. Ainsi, c'est plutôt le dernier mâle qui gagne quand la spermathèque est ronde et de volume fixe (Ridley, 1989). Quant aux espèces ayant des **spermathèques tubulaires**, un mélange des éjaculats peut être favorisé dans certains cas (Vardell & Brower, 1978; Dickinson, 1988).

En raison de tous ces mécanismes présents chez la femelle et en fonction du stock de spermatozoïdes du mâle, on pourrait s'attendre à la mise en place des stratégies d'éjaculation chez le mâle ou des compromis entre le nombre d'accouplements du mâle et la quantité de spermatozoïdes transférés par accouplement.

B - PRODUCTION SPERMATIQUE ET STRATÉGIES D'ÉJACULATION

La **production des spermatozoïdes** par le mâle est souvent considérée comme ayant un coût négligeable comparé à la production des œufs par la femelle (Bateman, 1948; Trivers, 1972; Arnold & Duvall, 1994). Cependant, Dewsbury (1982) indique que l'**unité fonctionnelle** chez le mâle n'est pas le spermatozoïde mais une **population de spermatozoïdes** dans un éjaculat ou dans un spermatophore. De plus, d'autres substances peuvent être trouvées dans les **fluides séminaux**. Ainsi, la **production des éjaculats** impose des **coûts importants** pour le mâle. Par exemple, les mâles de nombreux insectes ont besoin d'un laps de temps après l'émergence pour accumuler les ressources destinées à la production des éjaculats (Foster, 1967; Woodhead, 1984; Oberhauser, 1988). De plus, une fois accouplé, le mâle doit renouveler ses ressources avant de pouvoir s'accoupler à nouveau ou fournir des éjaculats de taille et de qualité convenables (Simmons, 1986; Svård & Wiklund, 1989; Simmons *et al.*, 1992; Arnqvist & Danielsson, 1999). Chez quelques papillons et grillons, la masse du spermatophore augmente avec l'âge du mâle et l'intervalle entre les accouplements (Simmons, 2001). Ces données montrent que la **production des éjaculats** est variable pour le mâle, à la fois dans l'**investissement en temps** et dans la **gestion des ressources**.

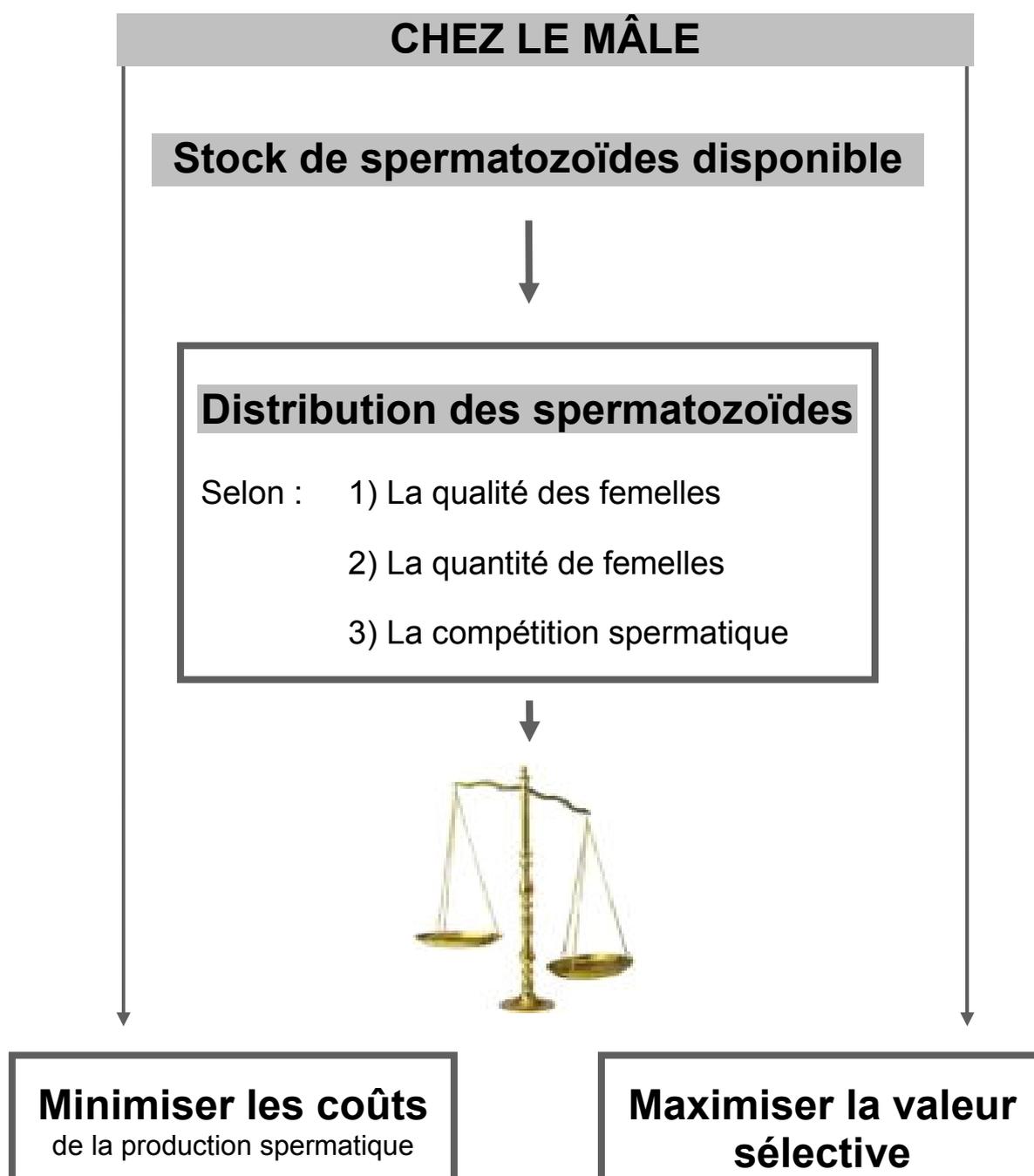


Figure 6 : Optimisation de la valeur sélective du mâle à travers sa production spermatique et sa distribution des spermatozoïdes.

On observe parfois un **compromis** entre la production des éjaculats et le temps de recherche pour l'accouplement (Wedell, 1994; Simmons, 1995b; Simmons *et al.*, 1999a) ou pour l'attractivité des mâles (Simmons *et al.*, 1992; Gage, 1995). D'autre part, l'expérience sexuelle du mâle a un effet important dans sa fertilité (Montrose *et al.*, 2004). Par exemple, chez la punaise aquatique *Gerris lateralis*, un mâle récemment accouplé souffre d'une diminution dans le nombre de spermatozoïdes transférés à la femelle et donc du nombre de descendants qu'il produira (Arnqvist & Danielsson, 1999). Dans certains cas, les mâles ayant épuisé leur stock de spermatozoïdes peuvent devenir stériles, cet effet est parfois irréversible comme dans le cas du moustique *Aedes aegypti* (Jones, 1973).

En raison des coûts de la production des éjaculats, Dewsbury (1982) prédit que les pressions sélectives favoriseraient une **optimisation** de la **quantité de spermatozoïdes distribués** (figure 6) par un mâle en fonction de la **quantité de femelles présentes** dans la population. D'une part, lorsque qu'il y a un **excès de femelles** dans la population, les mâles pourraient distribuer leurs spermatozoïdes à plusieurs femelles (Damiens, 2001) afin de **féconder le plus possible** de femelles (Simmons, 2001). A l'inverse, lorsque les **mâles** sont **trop nombreux**, ils insémineraient moins de femelles, mais transféreraient **plus de spermatozoïdes par femelle** car la recherche d'autres femelles peut être coûteuse. De plus, si le nombre de femelles qu'un mâle peut inséminer était limité, le mâle donnerait plus de spermatozoïdes aux femelles de meilleure qualité (Simmons, 2001). Dans ce cas de figure, les mâles peuvent s'accoupler préférentiellement avec les femelles vierges.

De plus, le **risque de compétition spermatique** (probabilité de réaccouplement chez une femelle) peut influencer la taille des éjaculats du mâle. Quand la femelle a peu de chance de se réaccoupler (**le risque** de compétition spermatique est **faible**), les mâles pourraient moins investir pour chaque femelle afin d'en fertiliser plus. En revanche, lorsque **le risque** de compétition spermatique est **élevé**, les mâles investiraient **plus de spermatozoïdes** par femelle et donc insémineraient moins de femelles. Chez les insectes, dans les cas où les mâles utilisent le flux de spermatozoïdes pour déplacer le sperme rival, le volume de l'éjaculat peut être un avantage pour le mâle (Simmons, 2001). Par exemple, une relation positive entre la taille des éjaculats et le degré de polyandrie est observée chez plusieurs Lépidoptères (Svård & Wiklund, 1989; Gage, 1994) et chez certains Diptères (Pitnick & Markow, 1994).

Enfin, **les stratégies d'éjaculation** du mâle varient en fonction de la **compétition spermatique** (Parker, 1998; Simmons, 2001). D'une part, **l'évitement** de compétition spermatique peut se traduire par une forte **dilution** du sperme rival (Simmons & Siva-Jothy, 1998) ou un **déplacement** de celui-ci par le « flux spermatique » (Arnaud, 1999; Simmons, 2001). Par exemple, une forte dilution spermatique est observée chez le grillon *Gryllus bimaculatus* (Simmons, 1987) ou chez la libellule *Coenagrion scitulum* R. (Cordero *et al.*, 1995). Quant au « flux spermatique », on rencontre ce phénomène chez *Callosobruchus maculatus* (Eady, 1994; Eady, 1995) ou chez le grillon *Truljalia hibinonis* (Ono *et al.*, 1989). D'autre part, **après une compétition spermatique** où il s'agit d'un **mélange des éjaculats**, le mâle produisant des éjaculats plus importants peut être avantagé et par la suite, il sera le **plus représenté** dans la **descendance** issue de cette compétition (Parker, 1990a; Parker, 1998).

Après une compétition inter-éjaculats, il est prédit que le mâle ayant la plus grande proportion de spermatozoïdes compétitifs serait favorisé (Manning & Chamberlain, 1994). Un mécanisme fondamental de la compétition spermatique, appelé **la loterie**, « *the raffle* » (Parker 1990) concerne la relation entre le nombre de spermatozoïdes transférés à la femelle et le nombre de descendants de chaque mâle en compétition. Lors d'une **loterie honnête**, « *the fair raffle* », la proportion de descendants de chaque mâle correspond simplement à celle de ses spermatozoïdes transférés chez la femelle. Dans ce cas de figure, quand les coûts de production spermatique sont différents entre les deux mâles en compétition, Parker (1998) prédit que le mâle produisant des spermatozoïdes avec moins de coût gagnerait la compétition. Cela serait dû au fait que celui-ci pourrait donner plus de spermatozoïdes que son rival, et serait donc plus représenté dans la descendance, même avec moins d'investissement. Chez les insectes, un « fair raffle model » n'est actuellement observé que chez les trois espèces suivantes : le grillon *Gryllus bimaculatus* (Simmons, 1986), la sauterelle *Kawanaphila nartee* (Simmons, 1995c) et le coléoptère *Onthophagus taurus* (Tomkins & Simmons, 2000). Dans tous ces cas, les paternités des descendants sont caractérisées par $P_1 = P_2 = 0,5$ quand le nombre de spermatozoïdes transférés est le même chez les deux mâles.

C - CHEZ LES HYMÉNOPTÈRES PARASITOÏDES

Les femelles **hyménoptères parasitoïdes** peuvent contrôler la sex-ratio des descendants par l'utilisation ou non des spermatozoïdes. Mais ce contrôle peut être limité par le nombre de spermatozoïdes stockés dans la (ou les) spermathèque(s) de la femelle. Ainsi, la quantité de spermatozoïdes transférés par le mâle puis stockés chez la femelle joue un rôle important dans la descendance finale. Lors d'accouplements multiples, un mélange d'éjaculats peut se produire. Dans ce cas, il y a **une compétition spermatique** entre les éjaculats des différents mâles. Concernant **les hyménoptères parasitoïdes**, cette compétition spermatique a seulement été étudiée **chez six espèces** (citées dans Quicke, 1997 ; Simmons, 2001). Cependant, depuis 1990 apparaissent de **nombreuses théories** telles que : (1) le mécanisme de **la loterie**, « *the raffle* » (Parker, 1990a), (2) les stratégies d'éjaculation du mâle en fonction du **risque de compétition spermatique** (Parker *et al.*, 1997 ; Parker, 2000) ou de l'**intensité de la compétition spermatique** (Parker *et al.*, 1996) et enfin (3) les stratégies d'éjaculation du mâle en fonction de son **statut reproducteur** (en couple ou satellite ; Parker, 1990b) ou de la **qualité des femelles**. **Pour la première fois chez un hyménoptère parasitoïde**, nos résultats pourront contribuer à vérifier certaines de ces théories, telles que le mécanisme de la loterie et le risque de compétition spermatique.

D - TRAVAIL DE THÈSE

1. Objectif

Ce travail a porté sur l'étude de **la valeur sélective (succès reproducteur) des mâles** en relation avec leur **réserve de spermatozoïdes disponibles**. Notre étude a porté dans un premier temps sur la quantification **du stock de spermatozoïdes des mâles** en fonction de **différents traits d'histoire de vie** (âge, expérience sexuelle) et de **leur phénotype**. Dans un second temps, **l'étude du succès reproducteur des mâles** en relation avec leur nombre de spermatozoïdes disponibles a été réalisée lors **d'accouplements simples, d'accouplements multiples et en situation de compétition entre deux mâles**.

Pour effectuer cette étude, nous avons utilisé comme **modèle biologique** *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera, Chalcidoidea, Pteromalidae), un **insecte auxiliaire utilisé en lutte biologique** contre les ravageurs des stocks de graines variées : céréales (blé, maïs, riz) et légumineuses (soja, niébé, haricots, fèves et pois). Dans le monde, plus de 20 distributeurs commercialisent cet insecte, principalement dans les zones méridionales (Floride, Californie, Inde, ...). Cependant les travaux scientifiques sur la biologie de l'espèce sont peu nombreux. Ce sont principalement des études empiriques portant sur la compétitivité en milieu semi-expérimental. Chez cette espèce, le succès de reproduction et ses contraintes demeurent peu connus, bien qu'ils soient fondamentaux pour une utilisation de l'auxiliaire en lutte biologique (c'est en se reproduisant que l'auxiliaire détruit les ravageurs).

Notre souche expérimentale a été rapportée de la Côte d'Ivoire et est entretenue au laboratoire depuis 2000 (33°C: 23°C, L12h : D12h, rh 50% : 70%). Elle a **la particularité de présenter deux morphes** au niveau de la couleur des yeux des individus : le morphe sauvage dominant aux yeux foncés (W) et le morphe mutant récessif aux yeux rouges (R). La bibliographie nous montre que ce variant aux yeux rouges chez *Anisopteromalus calandrae* se trouve seulement dans notre souche expérimentale. Ainsi, nous avons pu utiliser le **dimorphisme** du modèle comme **marqueur phénotypique** parental chez les descendants **pour identifier la paternité des descendants** en situation de compétition entre mâles. Ces derniers pourraient avoir des traits d'histoire de vie différents après des accouplements doubles de la femelle. Chez *Anisopteromalus calandrae*, les femelles

pratiquent **la parthénogenèse arrhénotoïque** : un mâle est issu d'un œuf non fécondé et une femelle d'un œuf fécondé. Ainsi, la sex-ratio des descendants dépend de l'utilisation des spermatozoïdes par la femelle mais également de la quantité de spermatozoïdes stockés dans sa spermathèque. Ce dernier paramètre, quant à lui, dépend de la quantité de spermatozoïdes transférés par le mâle à la femelle lors de la copulation. Par conséquent, l'investissement en spermatozoïdes du mâle au moment de l'accouplement joue un rôle clé dans la descendance finale. Enfin, lors d'une compétition entre deux mâles vierges de 1 jour de morphes différents et ayant des stocks de spermatozoïdes différents, la femelle *Anisopteromalus calandrae* s'accouple indifféremment avec les deux mâles. Toutes ces caractéristiques chez cette espèce nous ont permis d'étudier le succès reproducteur des mâles en relation avec leur production spermatique et particulièrement, d'identifier les conséquences des accouplements doubles de la femelle sur la paternité des descendants des mâles de statuts différents (mâles vierges 1 jour, mâles vierges 21 jours, ou mâles sexuellement expérimentés).

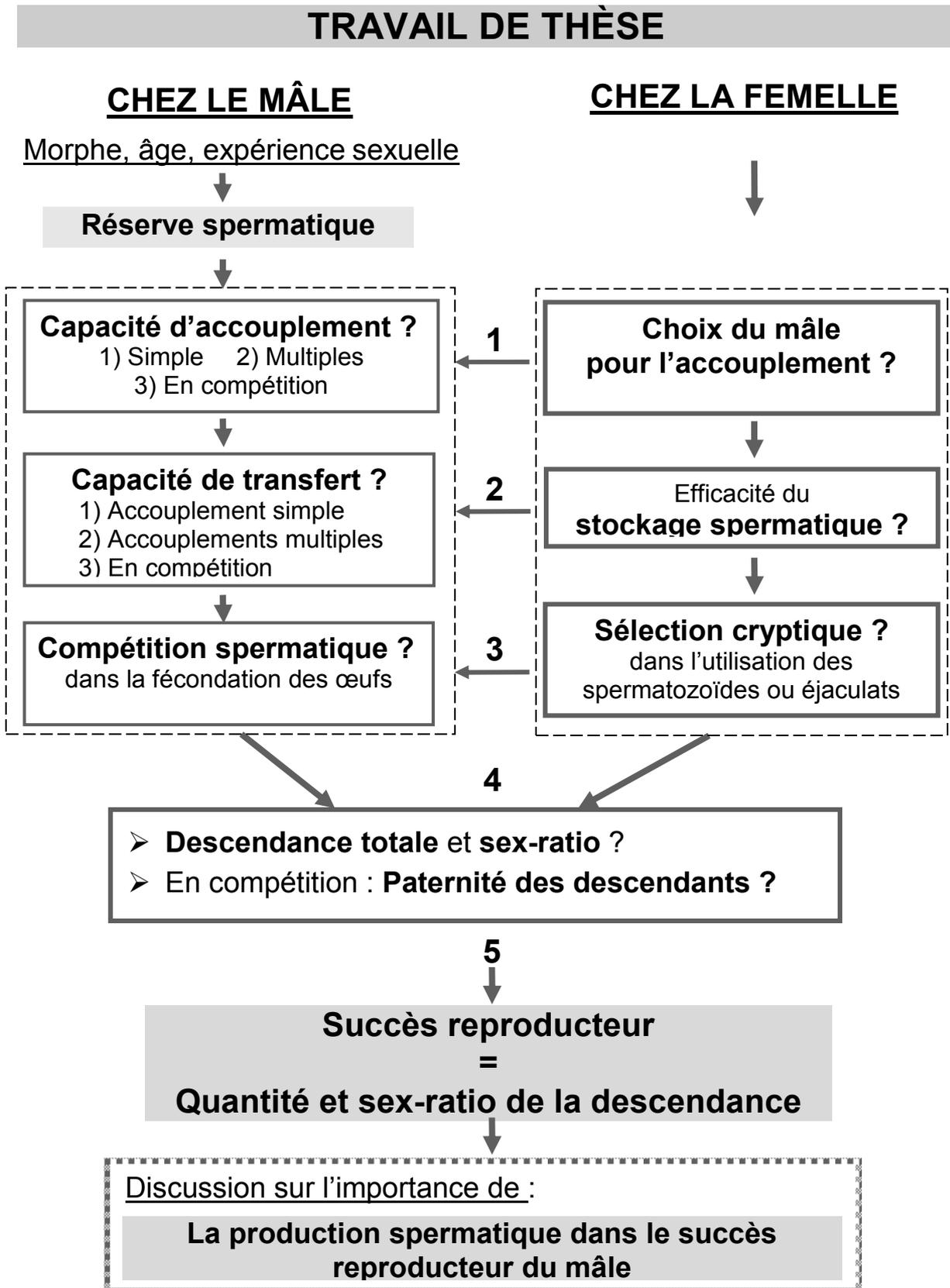


Figure 7 : Succès reproducteur des mâles chez *Anisopteromalus calandrae* en relation avec leur réserve de spermatozoïdes disponibles : Présentation des paramètres étudiés.

2. Plan de la thèse

Dans un premier temps, notre étude a porté sur la **quantification du stock de spermatozoïdes des mâles** en fonction de différents traits d'histoire de vie (âge, expérience sexuelle) et de leur phénotype (chapitre I). **Trois catégories de mâles** ont été utilisées : (1) des mâles vierges de 1 jour de **morphes différents**, (2) des mâles vierges **d'âges différents** (1 jour et 21 jours) et enfin (3) des mâles de 1 jour ayant des **expériences sexuelles différentes**.

Par la suite, l'étude du **succès reproducteur des mâles en relation avec leur nombre de spermatozoïdes disponibles** a été réalisée lors d'**accouplements simples**, lors d'**accouplements multiples** du mâle et en situation de **compétition entre deux mâles**.

(1) La première étape a été l'étude de **la capacité d'accouplement** et du **nombre de spermatozoïdes stockés chez les femelles** (figure 7, chapitres II et III).

- D'abord, nous avons étudié pour chacun des deux morphes les accouplements simples des mâles vierges de 1 jour, des mâles vierges de 21 jours et des mâles expérimentés.
- Dans la littérature, la femelle *Anisopteromalus calandrae* a été considérée par certains auteurs comme monoandre (Islam, 1993) ou polyandre (Baker *et al.*, 1998; Gokhman *et al.*, 1999). Nous avons voulu vérifier expérimentalement si la femelle *Anisopteromalus calandrae* réalisait des accouplements multiples. Dans l'hypothèse où cela était vérifié, nous voulions connaître les conditions nécessaires à leur réalisation et également voir les conséquences sur le stockage spermatique chez la femelle.
- Ensuite, lorsque la femelle se réaccouple, nous avons étudié les combinaisons d'accouplements lors d'une compétition entre deux mâles différant par leur phénotype, par leur âge ou par leur expérience sexuelle.
- Parallèlement, les accouplements multiples du mâle ont été réalisés avec des femelles présentées successivement au mâle ou en mettant un mâle en présence d'un groupe de femelles.
- Enfin, la quantification du nombre de spermatozoïdes stockés dans les vésicules séminales du mâle et dans la spermathèque de la (des) femelle(s) *Anisopteromalus calandrae* a été effectuée. Les résultats obtenus nous ont permis de comprendre les modalités d'accouplements simples et doubles chez cette espèce et d'évaluer

la capacité de stockage de la femelle et l'effet du risque de la compétition spermatique sur ce stockage. De plus, nous avons pu déterminer **la distribution des spermatozoïdes du mâle lors de ses accouplements multiples**.

- 2) La seconde étape a été l'étude de la **descendance** et de la **sex-ratio** (la proportion de descendants femelles sur le nombre total de descendants) après des accouplements simples ou après des accouplements doubles de la femelle après une compétition entre deux mâles (figure 7, chapitre IV).
- Nous avons utilisé comme référence la descendance après un **accouplement simple**. Les paramètres mesurés sont la quantité des descendants et leur sex-ratio calculée comme la proportion de descendants femelles sur la descendance totale.
 - Lorsque la femelle s'accouple deux fois avec les **deux mâles en compétition**, nous avons étudié la **paternité de la descendance** afin de quantifier le nombre de descendants engendrés par chaque mâle. A partir de ces résultats, nous avons pu déterminer le rôle du stock de spermatozoïdes disponibles du mâle dans son succès reproducteur en situation de compétition.
 - Cela nous a permis d'étudier les conséquences de la **compétition spermatique**. Les théories concernant l'investissement reproducteur du mâle prédisent un **compromis** entre l'optimisation du nombre de spermatozoïdes et l'investissement pour l'obtention des accouplements (Dewsbury, 1982; Waage, 1986). Ainsi, nous avons proposé un **modèle mathématique simplifié en situation de compétition** pour estimer l'espérance de paternité du mâle en fonction de **son stock de spermatozoïdes** et **sa capacité d'accouplement** et par la suite, de **vérifier le mécanisme de la loterie, « the raffle »**, proposé par Parker en (1990a) dans l'utilisation des différents éjaculats.

CHAPITRE I

MODÈLES BIOLOGIQUES ET OUTILS EXPÉRIMENTAUX

A - MODÈLES BIOLOGIQUES	26
1. Plante hôte : <i>Vigna unguiculata</i>	26
2. Insecte phytophage parasite: <i>Callosobruchus maculatus</i>	28
2.1 Généralités	28
2.2 Élevage en laboratoire	28
3. Insecte entomophage parasitoïde : <i>Anisopteromalus calandrae</i>	30
3.1 Généralités	30
3.2 Développement	32
3.3 Anatomie des appareils reproducteurs.....	34
3.4 Élevage en laboratoire	35
 B - OUTILS EXPÉRIMENTAUX.....	 37
1. Marqueur génétique de paternité	37
2. Obtention des mâles ayant des traits d’histoire de vie différents	40
2.1 Mâles vierges de 1 jour	40
2.2 Mâles vierges de 21 jours.....	40
2.3 Mâles sexuellement expérimentés	40
3. Obtention des mâles ayant des réserves spermatiques différentes	43
3.1 Réserve spermatique d’un mâle vierge de 1 jour	43
3.2 Réserve spermatique d’un mâle vierge de 21 jours	43
3.3 Réserve spermatique d’un mâle sexuellement expérimenté	43
4. Discussion.....	45

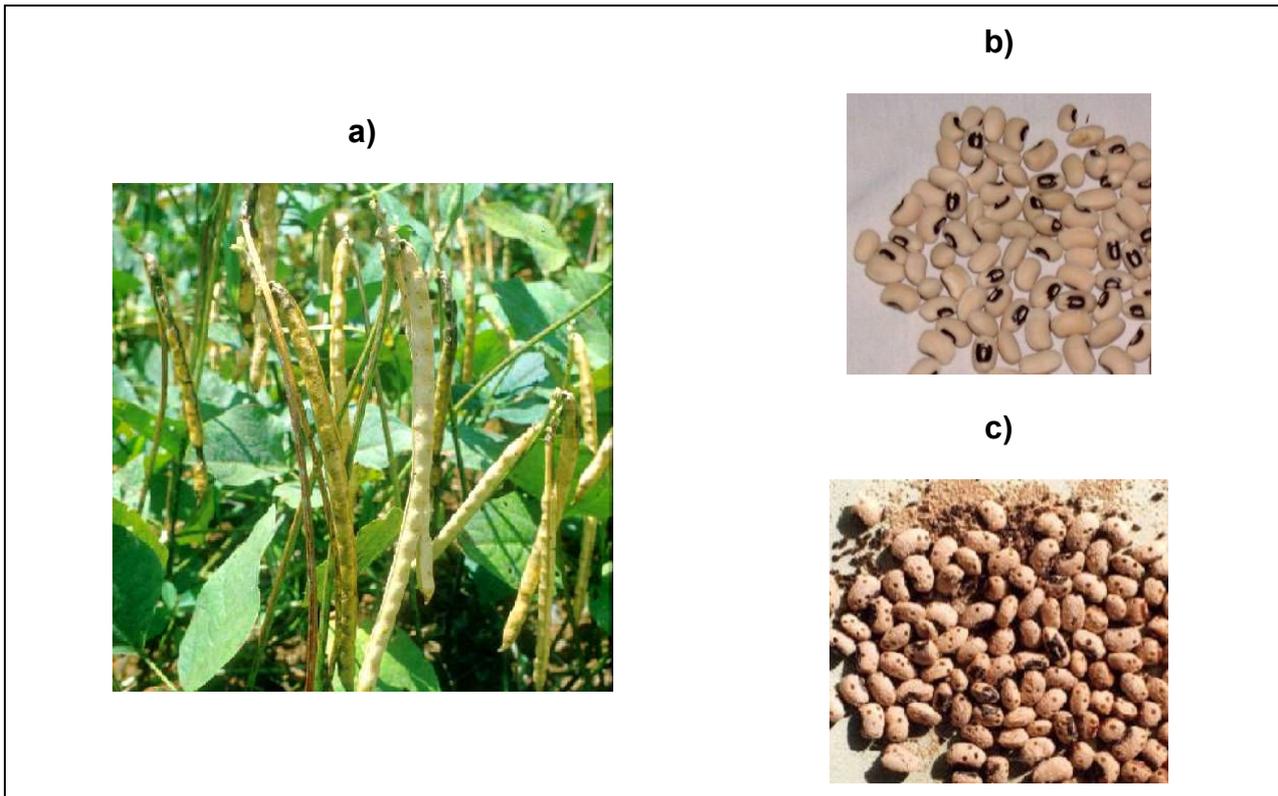


Figure 8 : La plante hôte, *Vigna unguiculata*. a) Plante b) Graines saines
c) Graines ravagées par des Bruchidés

CHAPITRE I : **MODÈLES BIOLOGIQUES ET OUTILS EXPÉRIMENTAUX**

A - MODÈLES BIOLOGIQUES

1. Plante hôte : *Vigna unguiculata*

Vigna unguiculata (figure 8) est une légumineuse alimentaire, communément appelée niébé ou cornille dans les pays francophones. Dans la littérature anglo-saxonne, le niébé est souvent appelé cowpea, ainsi que black-eyed pea, cherry bean, southern pea, yard long-bean ou encore dolique de Chine. Son cycle varie de 70 à 140 jours. Il faut également noter que le niébé est cultivé dans plus des deux tiers des pays en développement, particulièrement en Afrique où le Nigeria et le Niger sont les premiers producteurs. Il constitue la première légumineuse alimentaire dans les systèmes de culture à base de céréales - légumineuses des populations rurales africaines et asiatiques.

Le niébé peut être attaqué à tous les stades de développement, mais c'est le stockage des graines qui pose le plus de difficultés à cause des insectes ravageurs qui peuvent être classés en trois groupes : ravageurs des stades de préfloraison, ravageurs des stades de floraison - fructification et ravageurs des graines mûres ou en cours de maturation aux dépens desquelles ils se développent. Parmi ces derniers, *Callosobruchus maculatus*, souvent appelé bruche du niébé, une espèce de coléoptère de Bruchidae vivant en zone sahélienne, est l'un des principaux ravageurs des graines de *Vigna unguiculata* (Huignard, 1985). La larve se développe aux dépens des graines de niébé et cette espèce est capable de détruire complètement un stock de graines en quelques générations. C'est à ce stade de stockage que l'on constate le plus de dégâts causés par les insectes ravageurs phytophages. Par exemple, au Nigeria entre 80% et 100% de graines de *Vigna unguiculata* stockées sont attaquées par *Callosobruchus maculatus* (Huignard, 1985).

Dans ce travail de thèse, nous utiliserons des graines sèches de *Vigna unguiculata* de la variété Black Eye California.



Figure 9 : Adultes de l'espèce *Callosobruchus maculatus* obtenus sur graines de niébé en laboratoire. a) Mâle, b) Femelle (grossissement x 20).

2. Insecte phytophage parasite: *Callosobruchus maculatus*

2.1 Généralités

Callosobruchus maculatus (Fabricius) est un coléoptère Bruchidae de petite taille (environ 3 mm de long ; 1 mm de large) et de couleur fauve. Un dimorphisme sexuel net au niveau de la coloration des élytres (ailes antérieures) et de la forme du pygidium (extrémité postérieure de l'abdomen) permet de distinguer les mâles et les femelles (figure 9). La femelle est plus grande que le mâle et est tachetée de noir, tandis que le mâle présente une couleur brune unie. D'origine africaine ou asiatique, *Callosobruchus maculatus* est actuellement devenu cosmopolite. Après la ponte sur les gousses ou sur les graines de légumineuses, une minuscule larve mobile éclos de l'œuf, fore son chemin dans les tissus végétaux pour atteindre les cotylédons de la graine. Après 4 stades larvaires (de L₁ à L₄), la nymphose succède ensuite au stade physiologique de pré-nymphe et conduit à la formation de l'adulte. La bruche effectuera tout son développement larvaire au sein de la graine. L'imago émerge de la graine par un opercule circulaire dans le tégument de la graine, découpé à l'aide de ses mandibules (Gauthier, 1996).

2.2 Élevage en laboratoire

La souche de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera, Bruchidae) provenant du Burkina Faso est entretenue au laboratoire depuis 1991 sur des graines de niébé (*Vigna unguiculata*) dans une étuve à 40°C : 25°C, L12h : D12h, rh 30%. Pour l'obtention des graines parasitées, nous mettons des graines saines en présence de bruches adultes mâles et femelles pendant 48 heures dans la chambre climatisée. Cela permet la ponte des femelles sur graines. Les graines parasitées sont conservées en permanence dans la chambre climatisée jusqu'au 18^e jour pour permettre le développement des larves jusqu'au 4^e stade larvaire, L₄. Ces graines contenant des larves de bruches sont alors séparées en deux parties. Une partie reste à l'étuve jusqu'à l'émergence des bruches adultes pour entretenir la souche de *Callosobruchus maculatus* au laboratoire. L'autre partie est utilisée pour les élevages des parasitoïdes étudiés dans ce travail ; les graines sont alors enlevées de la chambre climatisée et sont placées au réfrigérateur à 4°C pour stopper la croissance des larves et pour pouvoir être conservées pendant environ 7 jours.



Figure 10 : Mâle et femelle d' *Anisopteromalus calandrae*. Présence d'un dimorphisme sexuel (grossissement x 20).

3. Insecte entomophage parasitoïde : *Anisopteromalus calandrae*

3.1 Généralités

Anisopteromalus calandrae (Howard) appartient à la famille des Pteromalidae de la super-famille Chalcidoïdea. Les adultes sont de couleur noire brillante. Ils présentent un dimorphisme sexuel pour la couleur de l'abdomen (figure 10). Les mâles mesurent de 1,5 à 2 mm et présentent une absence de pigmentation à la base ventrale de l'abdomen. Les femelles mesurent entre 2 et 2,5 mm et leur abdomen est noir uniforme.

Cette espèce est un hyménoptère **ectoparasitoïde** dont les larves se développent à l'extérieur de l'hôte. Elle parasite des larves et nymphes de coléoptères granivores dont les Bruchidae et peut être considérée comme une espèce semi-grégaire en raison d'un groupement des hôtes (van den Assem *et al.*, 1980). Les femelles pratiquent la **parthénogenèse arrhénotoque** : un mâle est issu d'un œuf non fécondé et une femelle d'un œuf fécondé. Les femelles sont capables de localiser les larves hôtes dans les graines (Arbogast & Mullen, 1990). Elles insèrent l'ovipositeur dans la graine et paralysent l'hôte. L'ovipositeur est retiré et ensuite introduit de nouveau pour déposer un œuf translucide allongé sur l'hôte ou près de celui-ci (Arbogast & Mullen, 1990). *Anisopteromalus calandrae* est une espèce **idiobionte** : le développement de l'hôte s'arrête dès qu'il est parasité. Le développement comporte trois stades larvaires (Islam, 1993). Le premier stade possède 3 paires de stigmates (des orifices minuscules où arrivent les trachées respiratoires) tandis que les deuxième et troisième stades en possèdent neuf paires. Les pupes chez cette espèce ont des membres, des ailes, et des antennes libérés de l'enveloppe initiale (Islam, 1993). Cette espèce est protandre car les mâles émergent 1 jour avant les femelles (Islam, 1993).

Anisopteromalus calandrae présente des intérêts économiques importants. En plus de l'activité de ponte, les femelles se nourrissent de l'hémolymphe de leur hôte en utilisant un tube formé par les matières sécrétées autour de l'ovipositeur (Arbogast & Mullen, 1990). Cosmopolite et généraliste, il est peut-être le plus important ennemi naturel des coléoptères granivores (Smith *et al.*, 1995). Par exemple, environ 96% des bruchidés qui affectent des stocks de blé sont supprimés par l'utilisation d'*Anisopteromalus calandrae* (Phillips *et al.*, 2003).

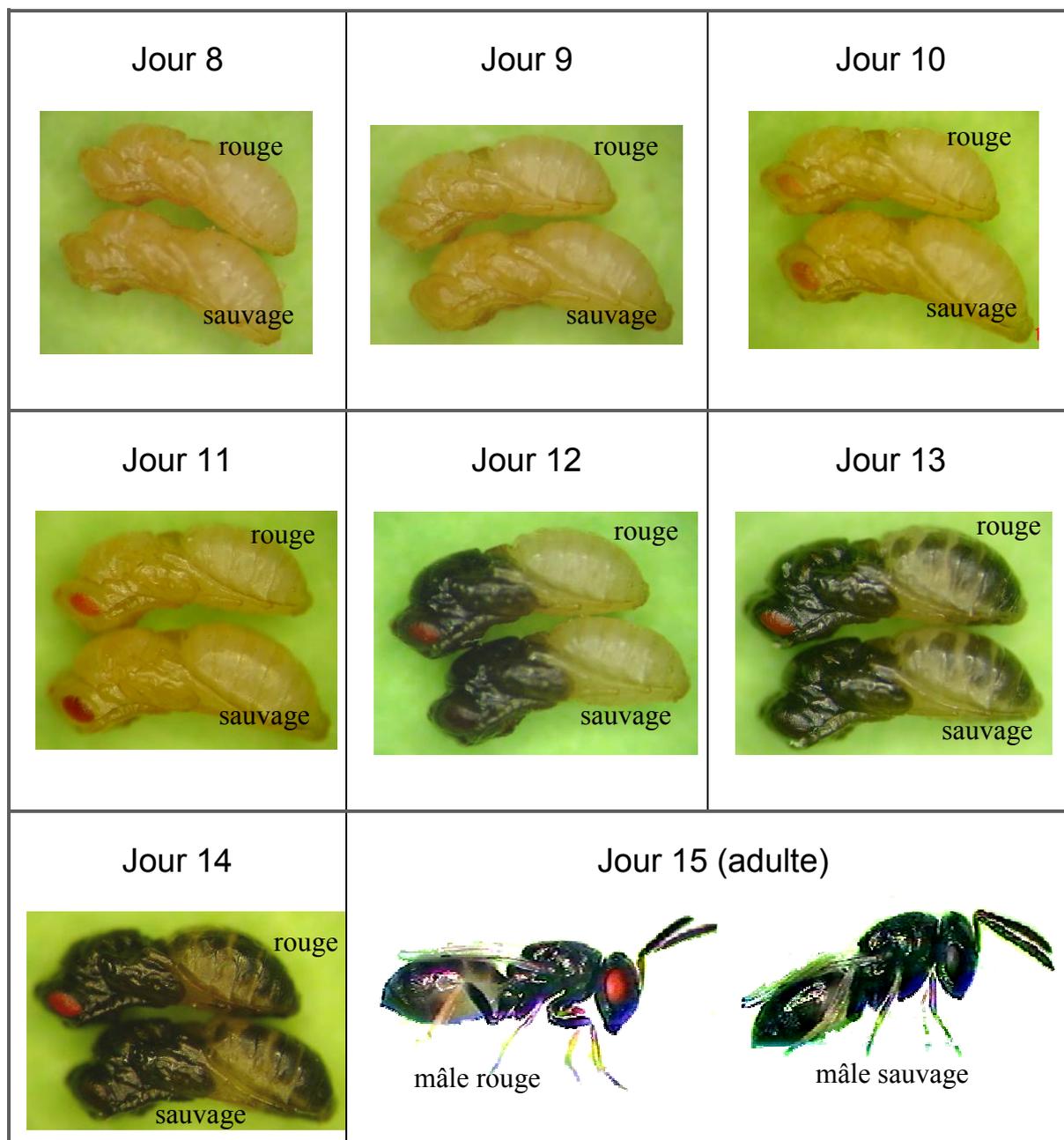


Figure 11: Détermination en laboratoire (33°C : 23°C, L12h : D12h, rh 50% : 70%) du stade nymphal à partir duquel on peut distinguer les deux morphes chez les mâles *Anisopteromalus calandreae*. Les observations ont été faites sous loupe binoculaire (grossissement x 20) et la capture des images a été effectuée par un système de microvidéographie à l'aide du logiciel Photoshop version 4,0 LE.

3.2 Développement

L'éclosion s'effectue entre 30 et 31 heures après la ponte (Labarussias, 2005). La larve de parasitoïde est très mobile et se déplace sur la surface de l'hôte où cette première s'accroche par ses pièces buccales. La larve de bruche est totalement consommée au bout de 7 jours. A l'entrée en nymphose au jour 8, la larve du parasitoïde n'est alors plus fixée. Au bout de 10 jours, on observe une coloration rouge au niveau des yeux (figure 11). Une différenciation de la coloration des yeux apparaît au jour 11. Un rouge plus foncé est observé pour le morphe sauvage et devient presque noir au jour 12. La coloration du thorax apparaît au jour 12 et celle de l'abdomen au jour 13. Des tâches noires de forme ronde sont concentrées sur la partie dorsale de l'abdomen chez les mâles. Dans les conditions déterminées au laboratoire : 12 heures de jour à 33°C et 50% d'humidité puis 12 heures d'obscurité à 23°C et 70% d'humidité, les parasitoïdes adultes mâles apparaissent au bout de $14,3 \pm 0,04$ jours (n=308) et les femelles au bout de $16,9 \pm 0,1$ jours (n=208). Dans d'autres conditions, la durée de développement chez *Anisopteromalus calandrae* peut varier ; par exemple, à 30°C et 70% d'humidité, la durée de développement est entre 10 et 11 jours (Islam, 1993).

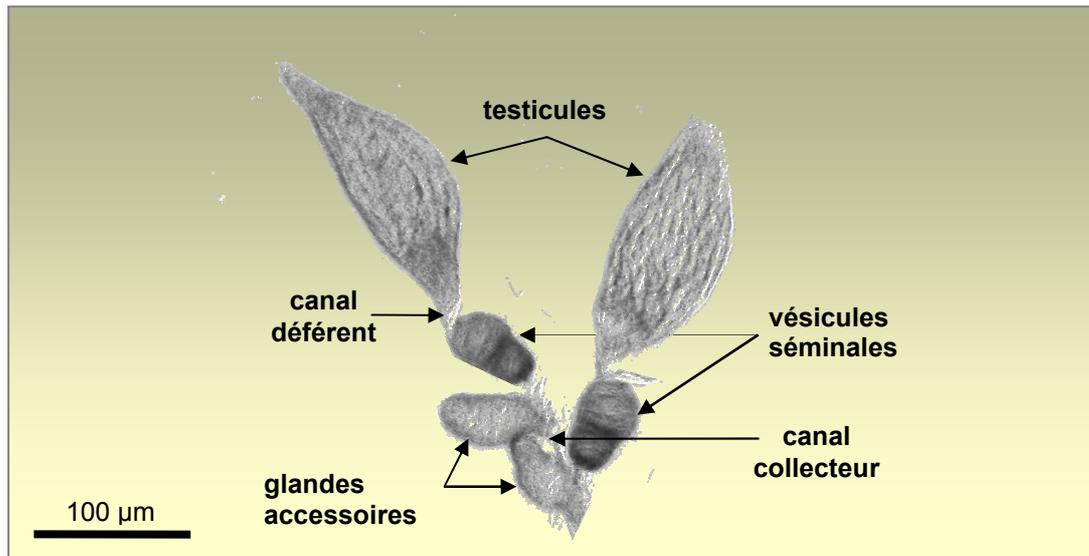


Figure 12 : Appareil génital des mâles *Anisopteromalus calandrae*.

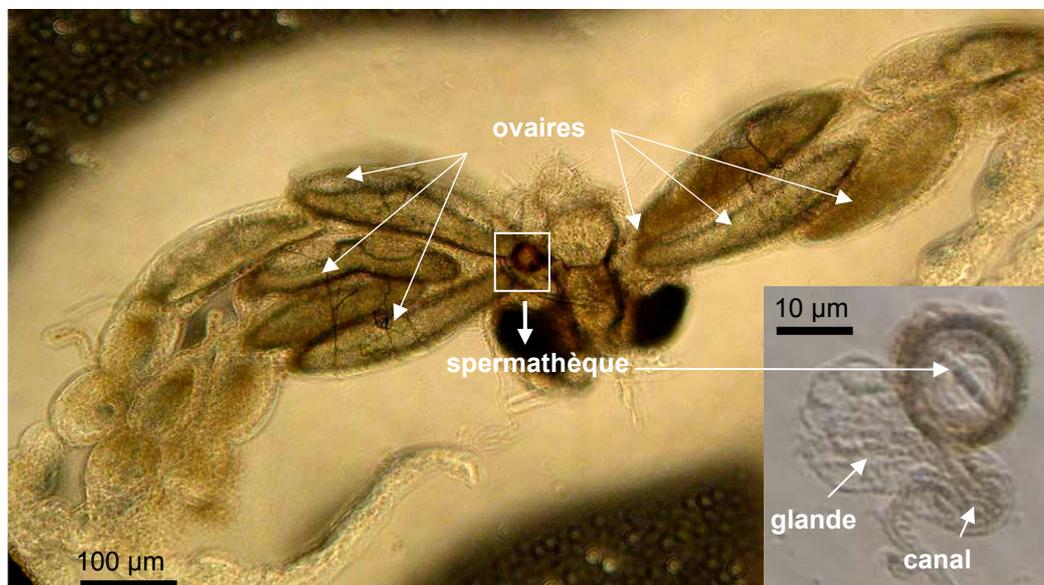


Figure 13 : Appareil génital et spermathèque des femelles *Anisopteromalus calandrae*.

3.3 Anatomie des appareils reproducteurs

a) Chez les mâles

L'appareil génital des mâles *Anisopteromalus calandrae* comprend deux parties identiques et symétriques. Chacune d'entre-elles est constituée d'un testicule, d'une vésicule séminale et d'une glande accessoire (figure 12). La composante la plus volumineuse de chaque partie chez un mâle jeune est le testicule d'où à la base démarre le canal déférent qui s'élargit pour rejoindre la vésicule séminale (*vas deferens*). Celle-ci est composée d'un réservoir principal ovoïde et d'une petite poche globulaire que l'on nomme poche vésiculaire. Cette dernière contient le stock de spermatozoïdes qui sont transférés au cours de la copulation. Après la vésicule séminale se trouve la glande accessoire qui débouche dans le canal collecteur des spermatozoïdes et des produits de sécrétion de la glande (Wheeler & Krutzsch, 1992). Les spermatozoïdes éjectés des vésicules séminales au moment de la copulation sont mélangés aux produits de sécrétion dans les canaux collecteurs. L'éjaculat ainsi formé est transféré à la femelle via le canal éjaculateur (Adams, 2001).

b) Chez les femelles

L'appareil reproducteur des femelles *Anisopteromalus calandrae* est constitué d'une paire d'ovaires formés chacun de 3 ovarioles où se développent les ovocytes. Les ovaires débouchent dans les deux oviductes latéraux qui se prolongent par l'oviducte commun et le vagin. Le vagin débouche à l'extérieur par l'ovipositeur. Les femelles possèdent un organe de stockage des spermatozoïdes que l'on nomme la spermathèque (figure 13). Celle-ci se trouve au centre de l'appareil reproducteur et aboutit à la jonction oviducte commun - vagin. Comme chez tous les hyménoptères, elle est composée d'un réservoir, d'une glande et d'un conduit (King, 1962). Au cours de la copulation, les spermatozoïdes transférés par le mâle remontent dans la spermathèque et y sont stockés jusqu'à l'oviposition. La glande sécrète des substances dans le conduit et dans le réservoir. Quant au conduit en forme de « S » qui connecte le réservoir au vagin, il permet l'entrée et la sortie des spermatozoïdes.

L'ensemble de l'appareil génital de la femelle est associé à divers types de glandes. La glande de Dufour et la glande à venin débouchent à la jonction vagin - ovipositeur (Howard & Baker, 2003). Dans les sécrétions de la glande de Dufour chez *Anisopteromalus calandrae*, seuls des hydrocarbures sont présents (Howard & Baker, 2003). Chez d'autres espèces, la glande de Dufour peut sécréter des substances lubrifiantes de l'ovipositeur (Porter, 1961), des substances de marquage (Gauthier, 1996) ou des substances antibiotiques (Blum *et al.*, 1958). Quant à la glande à venin, elle produirait des substances induisant une paralysie de l'hôte comme chez *Eupelmus orientalis* (Doury *et al.*, 1995).

3.4 Élevage en laboratoire

Dans notre laboratoire, la souche *Anisopteromalus calandrae* a été rapportée de la Côte d'Ivoire par Monique Braud. Les adultes à l'origine de cette souche proviennent de graines de *Vigna unguiculata* collectées sur un marché d'Abidjan en 2000 et ont été identifiées par Jean-Yves Rasplus (INRA de Montpellier, France). Les graines de *Vigna unguiculata* contenant des larves de *Callosobruchus maculatus* sont placées dans 4 boîtes de Pétri et mises à l'intérieur d'une cage d'élevage d'*Anisopteromalus calandrae* pendant 48 heures, permettant aux femelles de pondre sur les larves. Les cages sont pourvues d'abreuvoirs contenant de l'eau sucrée. Les boîtes de Pétri sont ensuite retirées et placées dans la chambre climatisée (33°C: 23°C, L12h : D12h, rh 50% : 70%). Environ huit jours plus tard, on enlève les bruches non parasitées qui sont parvenues au stade imago.

Après tamisage des boîtes d'émergence, on vérifie toujours la couleur des yeux des individus sous la loupe binoculaire avant de les introduire dans les cages d'élevage pour éviter les mélanges entre la souche mutant rouge et la souche sauvage. Pour maintenir la population, la majorité des adultes est réintroduite dans la cage d'élevage. Les autres sont utilisés pour les expérimentations en fonction des protocoles définis dans les chapitres II, III et IV.

Dès l'émergence, les mâles et les femelles sont capables de s'accoupler et de donner des descendants viables (Pérez-Lachaud & Campan, 1994). Comme les mâles émergent avant les femelles, nous utiliserons dans plusieurs expériences (voir chapitre II, III et IV) des mâles vierges de 24 heures et des femelles vierges de 2 heures.

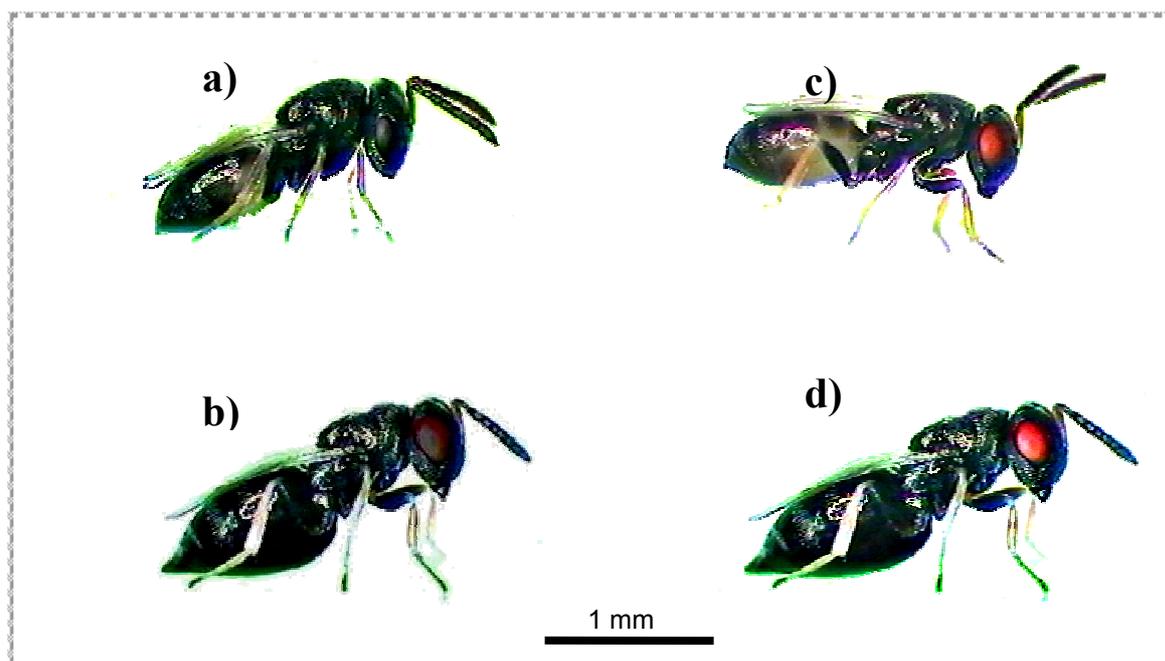


Figure 14 : Des adultes de l'espèce *Anisopteromalus calandrae* des deux morphes.

a) Mâle W, b) Femelle W, c) Mâle R et d) Femelle R (grossissement x 20).

Tableau 1 : Transmission du caractère de la couleur des yeux de la souche *Anisopteromalus calandrae* en laboratoire selon la première loi de Mendel.

P		Croisement ♂R avec			Croisement ♂W avec		
		♀W (AA)	♀W (Aa)	♀R (aa)	♀W (AA)	♀W (Aa)	♀R (aa)
Mâle F ₁	phénotype	100% ♂W	50% ♂R 50% ♂W	100% ♂R	100% ♂W	50% ♂R 50% ♂W	100% ♂R
	génotype	100% A	50% a 50% A	100% a	100% A	50% a 50% A	100% a
Femelle F ₁	phénotype	100% ♀W	50% ♀R 50% ♀W	100% ♀R	100% ♀W	100% ♀W	100% ♀W
	génotype	100% Aa	50% aa 50% Aa	50% aa	50% AA	50% AA 50% Aa	50% Aa

B - OUTILS EXPÉRIMENTAUX

1. Marqueur génétique de paternité

Deux variants morphologiques au niveau de la **couleur des yeux** des individus : rouge vif (récessif) et pourpre foncé (dominant) dans notre souche expérimentale *Anisopteromalus calandrae* sont présentés sur la figure 14. Chez d'autres espèces, il existe des marqueurs génétiques chez les descendants au niveau phénotypique comme un mutant récessif de la couleur des yeux des individus chez *Nasonia vitripennis* (van den Assem & Feuth-De Bruijn, 1977) et chez le coléoptère *Anthonomus grandis* (Bartlett *et al.*, 1968), ou un autre mutant dominant de la couleur des yeux chez les *Drosophila* (Price *et al.*, 1999; Civetta, 1999). Nous avons sélectionné deux souches homozygotes : une souche aux yeux **rouges (R)** et une souche aux yeux de couleur foncée dite **sauvage (W)**. Pour certaines expérimentations, nous avons également utilisé des femelles **hétérozygotes** (tableau 1). Après vérification par différents croisements, nous avons constaté que la transmission du caractère respectait strictement la première loi de l'hérédité de Mendel. Lorsque les mutants ou variants phénotypiques existent, l'utilisation des marqueurs phénotypiques est relativement simple à mettre en œuvre. De plus, cette technique est moins coûteuse que celles utilisant des marqueurs enzymatiques ou moléculaires. Ce marqueur génétique chez *Anisopteromalus calandrae* au niveau de la couleur des yeux des individus nous donnera la possibilité de déterminer la paternité des descendants. La descendance adulte est le résultat final du succès reproducteur des mâles. Pour l'étude de l'utilisation des spermatozoïdes chez la femelle à travers les paternités, l'avantage expérimental de ces espèces haplo-diploïdes est que **la femelle R homozygote récessive** donne des **descendants femelles dont le génotype exprime le phénotype de leur père haploïde dès la génération F₁** (Do Thi Khanh *et al.*, 2005).

En effet, **les femelles R** homozygotes **récessives (génotype aa)** donnent toujours des descendants mâles R, tandis que la couleur des yeux des descendants femelles en F₁ est celle de leur père. Les femelles R accouplées deux fois avec deux mâles de morphes différents donnent deux types de descendants femelles : W et R. Nous pouvons donc dès la génération F₁ identifier la paternité de la descendance (tableau 1). Pour cette raison, **les**

femelles R sont utilisées dans la plupart des expériences de compétition entre deux mâles.

Lorsqu'il s'agit de **la femelle W (génotype AA)**, tous les descendants mâles de celle-ci sont du morphe sauvage. Comme le morphe sauvage est dominant, tous les descendants femelles produits par la femelle W seront de morphe sauvage quelle que soit la couleur des yeux de leur père. En réalité, la femelle W accouplée deux fois avec les mâles des deux morphes donne deux types de descendants femelles : femelles W et femelles hétérozygotes (Aa) (tableau 1). Nous sommes dans **l'obligation d'étudier la descendance des femelles vierges de F₁** pour l'identification de la paternité ces dernières. Pour cela, on les récupère vierges en les isolant des graines une par une dès leur émergence. Nous avons choisi d'identifier la paternité des descendants femelles sur la période comprenant le 5^e, 6^e et 7^e jour de ponte. Pendant ces 3 jours, la femelle R accouplée avec les deux mâles a une intensité de ponte maximale (entre 58% à 61% des descendants sont produits durant cette période). Ces femelles vierges sont mises en ponte séparément dans une boîte de Pétri contenant 20 graines de niébés parasitées. A travers la descendance femelle de chacune de ces femelles, nous avons pu déterminer le génotype de ces dernières et donc leur paternité. Les descendants femelles W sont du père W et les descendants femelles hétérozygotes sont du père R.

En ce qui concerne **la femelle hétérozygote (génotype Aa)**, elle donne deux types de descendants mâles (R et W). Selon la 1^{re} loi de Mendel, leurs proportions sont identiques. Ceci est confirmé par nos résultats expérimentaux (n=36 femelles ; test Chi² $\chi^2=1,72$ ddl=1 p=0,19). Quand une femelle Aa s'est accouplée avec un mâle W, deux types de descendants femelles peuvent être produits : sauvages et hétérozygotes. Tandis qu'après un accouplement avec un mâle R, la femelle hétérozygote produit des descendants femelles : hétérozygotes et rouges ; ils sont également en proportions égales selon la 1^{re} loi de Mendel. Ainsi, la femelle hétérozygote accouplée avec les mâles des deux morphes donne trois catégories de descendants femelles : sauvages, hétérozygotes et rouges. A partir de la proportion des descendants femelles R obtenues dès F₁, la 1^{re} loi de Mendel nous permet de déduire la proportion des descendants femelles hétérozygotes engendrés par le mâle R.

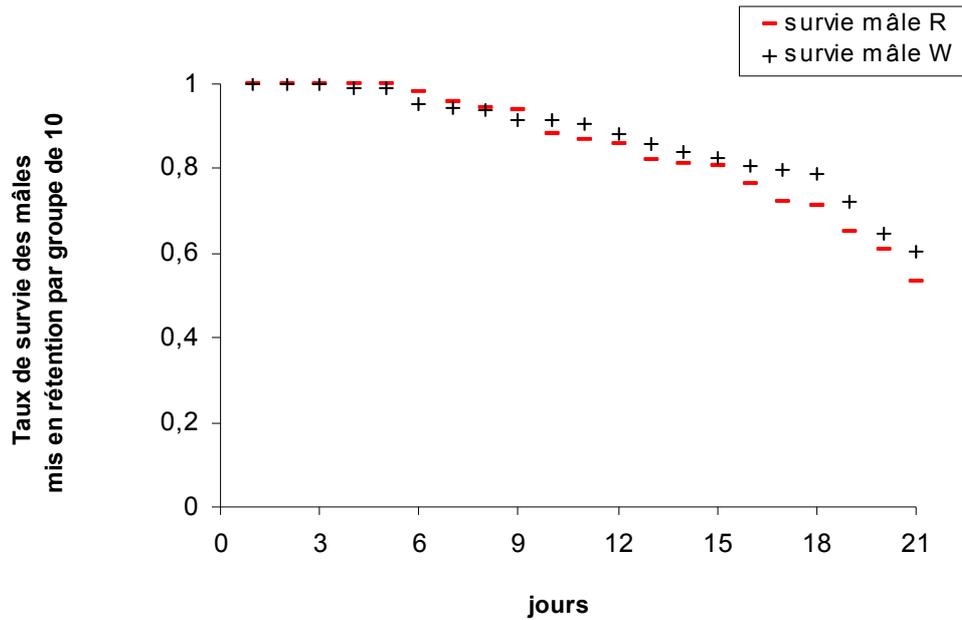


Figure 15 : Taux de survie des mâles *Anisopteromalus calandrae* (n=387) mis en rétention par groupe de 10 avec une source d'eau sucrée (33°C: 23°C, L12h : D12h, rh 50% : 70%).

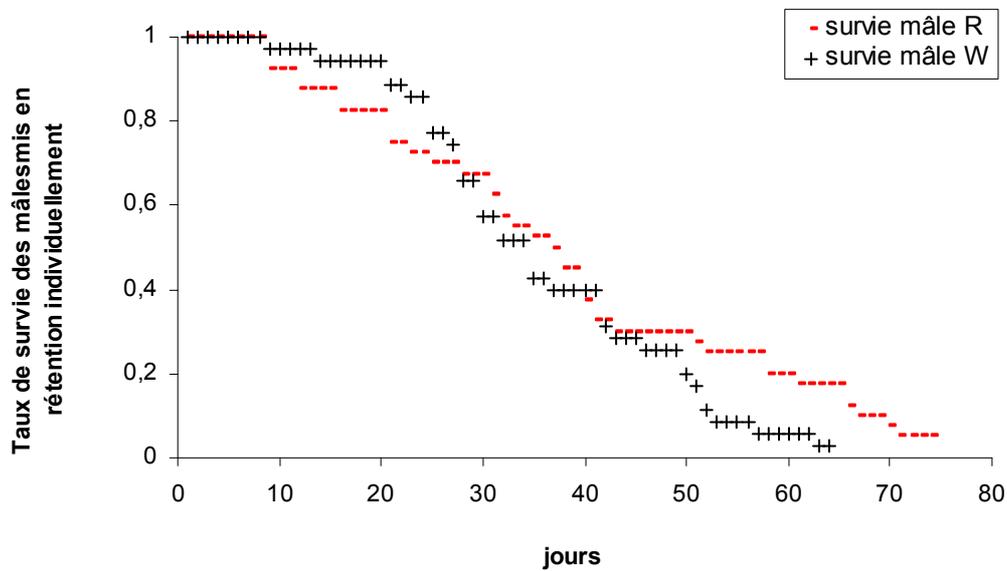


Figure 16 : Taux de survie de mâles *Anisopteromalus calandrae* (n=75) mis en rétention individuellement avec une source d'eau sucrée en conditions de laboratoire (33°C: 23°C, L12h : D12h, rh 50% : 70%).

2. Obtention des mâles ayant des traits d'histoire de vie différents

2.1 Mâles vierges de 1 jour

Comme expliqué précédemment, les mâles sont isolés dès l'émergence et sont gardés en rétention durant 24 heures avec une source d'eau sucrée dans une chambre climatisée (33°C : 23°C).

2.2 Mâles vierges de 21 jours

Dès l'émergence, les mâles vierges sont mis en rétention par groupe de dix dans une boîte de Pétri dans une chambre climatisée (33°C : 23°C). Un coton imbibé d'eau sucrée est à leur disposition en permanence.

En rétention individuelle, environ $82 \pm 7\%$ des mâles sont encore en vie au bout de 21 jours et les taux de mortalité sont similaires dans les deux morphes (figure 15, test exact de Fisher, ddl=1 $p=0,38$). Par contre en groupe, seulement $55 \pm 5\%$ des mâles sont encore en vie à 21 jours (figure 16). La différence entre la mortalité des mâles des deux morphes n'est pas significative (test exact de Fisher, ddl=1 $p=0,21$).

Pour les expériences décrites dans les chapitres II et IV, nous avons voulu obtenir des mâles physiologiquement âgés et qui sont susceptibles d'être retrouvés dans une population. Ainsi, pour les expériences avec les mâles dits « âgés », nous utiliserons des mâles de 21 jours qui ont été élevés en groupe comme décrit ci-dessus.

2.3 Mâles sexuellement expérimentés

Pour la réalisation des expériences de compétition entre un mâle ayant déjà eu une expérience sexuelle et un mâle vierge, nous avons utilisé des mâles sexuellement expérimentés. Dans une expérience préliminaire nous avons mis un mâle vierge R de 24 heures dans un patch d'accouplement avec 10 femelles durant 24 heures. Après cette période, la quantification du nombre de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque de toutes les femelles a été effectuée et nous avons pu déterminer le nombre de femelles inséminées. Le nombre de spermatozoïdes restant dans les vésicules séminales des mâles a également été quantifié. Dans ce travail préliminaire, nous avons montré que seulement 6 femelles sur les 10 présentes étaient inséminées. Le nombre moyen de spermatozoïdes

restant dans les vésicules séminales du mâle R expérimenté de 1 jour correspondait à moins de 14% du stock initial d'un mâle vierge du même âge.

Pour les expériences de compétition, les mâles expérimentés ont un stock réduit de spermatozoïdes. Cependant, il faut qu'ils soient capables d'inséminer à nouveau des femelles. Le protocole expérimental retenu a donc consisté à mettre durant une période de 4 heures un mâle vierge de 24 heures avec 5 femelles vierges de 2 heures dans une boîte de Pétri et sans nourriture. Cette mise en présence avec des femelles dure seulement 4 heures pour limiter le renouvellement du stock spermatique des mâles. Cette reconstitution des spermatozoïdes a été décrite chez un autre Pteromalidae *Dinarmus basalis* (Damiens, 2001). Nous avons vérifié que toutes les 5 femelles étaient bien inséminées. De plus, ce mâle expérimenté insémine efficacement une 6^e femelle malgré un stock de spermatozoïdes réduit en comparaison avec un mâle vierge du même âge. Ces mâles dits « expérimentés » sont immédiatement utilisés pour les expériences (cf. chapitres II, III et IV).

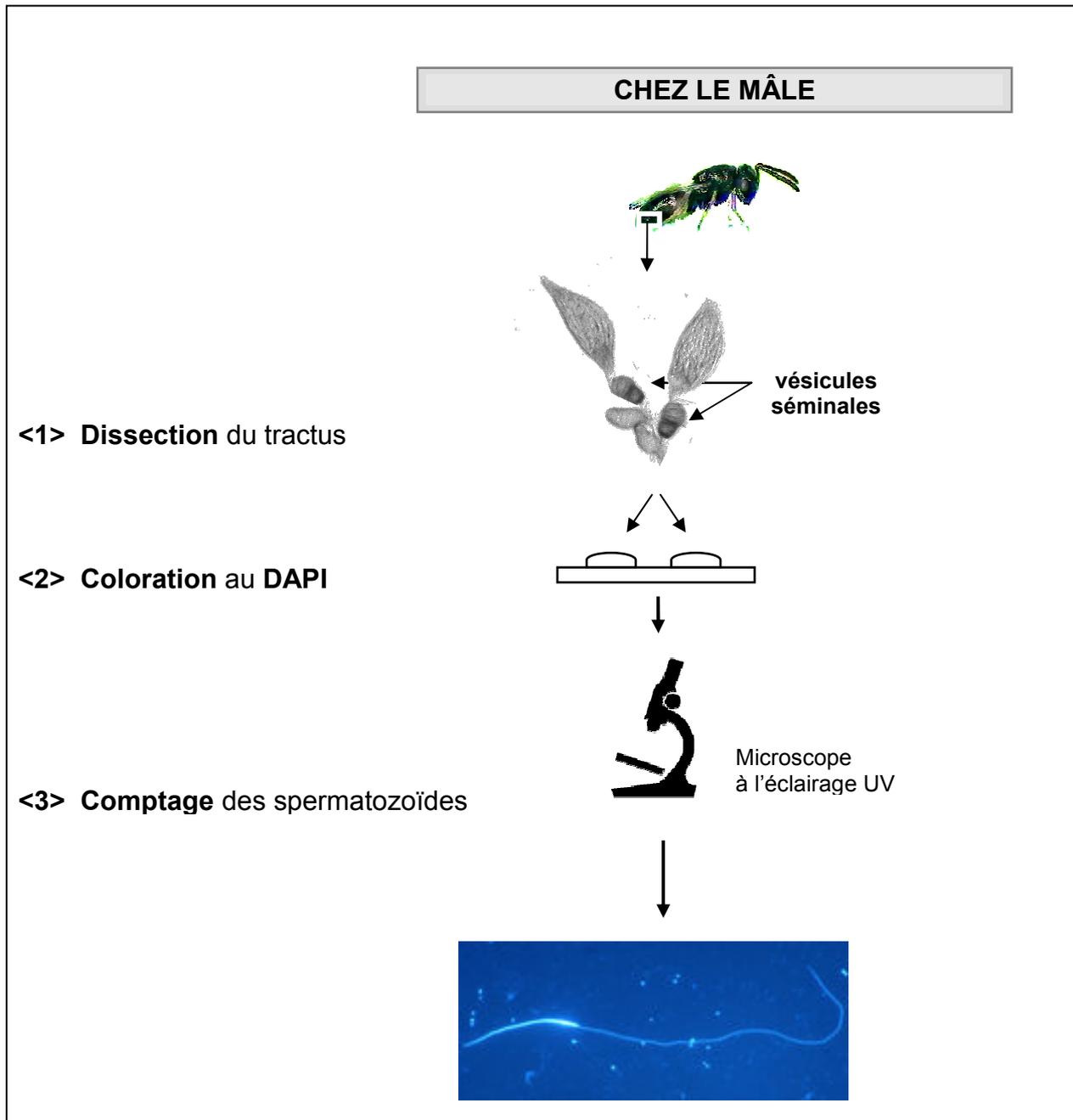


Figure 17 : Protocole expérimental de la quantification des spermatozoïdes dans les vésicules séminales du mâle (spermatozoïde au grossissement $\times 10^4$).

3. Obtention des mâles ayant des réserves spermatiques différentes

Sur la figure 17 est présenté le protocole expérimental pour **la quantification des spermatozoïdes chez les mâles**. Chaque mâle est disséqué dans une goutte de Beadle (128,3 mM NaCl ; 4,7 mM KCl ; 2,3 mM CaCl₂). On extrait et on transfère l'appareil reproducteur du mâle dans une goutte de Beadle. Par la suite, on isole les testicules des vésicules séminales. Ces dernières sont éclatées chacune dans une nouvelle goutte de Beadle et leur contenu est étalé à l'aide de pinces à dissection.

Quand la lame est sèche, on fixe la préparation à l'éthanol 100% puis on la colore par la solution de DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) pendant 10 minutes (Bressac & Chevrier 1998). Ce colorant est un agent intercalant de l'ADN et qui devient fluorescent sous UV. Tous les spermatozoïdes présents sont comptés à l'aide d'un microscope à épifluorescence au grossissement x 200.

3.1 Réserve spermatique d'un mâle vierge de 1 jour

Le nombre moyen de spermatozoïdes stockés dans les vésicules séminales des mâles vierges R de 1 jour est significativement plus élevé que celui des mâles vierges W de 1 jour (4545,2 ± 188,8 vs 3115,7 ± 201,7 ; tableau 2).

3.2 Réserve spermatique d'un mâle vierge de 21 jours

En moyenne, le stock de spermatozoïdes dans les vésicules des mâles vierges R de 21 jours est significativement plus important que celui des mâles vierges W de 21 jours (8497,7 ± 258,6 vs 5576,7 ± 196,5 spermatozoïdes ; tableau 2).

3.3 Réserve spermatique d'un mâle sexuellement expérimenté

Dans les deux vésicules séminales d'un mâle expérimenté (après 4 heures de mise en présence de 5 femelles) du morphe R ou W, on trouve en moyenne autant de spermatozoïdes (800,1 ± 60,7 vs 779,4 ± 44,3 ; tableau 2).

Tableau 2: Ratio de stocks de spermatozoïdes dans les vésicules séminales des mâles *Anisopteromalus calandrae* différents par leurs traits d'histoire de vie (âge, expérience sexuelle) ou par leur phénotype.

Ratio de stocks de spermatozoïdes dans les vésicules séminales des mâles										
♂Rv1j (n=30) VS			♂Wv1j (n=30) VS		♂Rexp (n=30) VS	♂Rv21j (n=23) VS			♂Wv21j (n=22) VS	
♂W1j (n=30)	♂Rexp (n=30)	♂Wexp (n=30)	♂Rexp (n=30)	♂Wexp (n=30)	♂Wexp (n=30)	♂Wv21j (n=22)	♂Rv1j (n=30)	♂Wv1j (n=30)	♂Rv1j (n=30)	♂Wv1j (n=30)
1,46	5,68	5,83	3,89	4,00	1,03	1,52	1,87	2,73	1,23	1,79
Test de comparaison										
					ANOVA		ddl			P
					F=93,4		1			< 0,001
					F=348,8		1			< 0,001
					F=968,1		1			< 0,001
					F=18,5		1			< 0,001
					F=51,7		1			< 0,001

4. Discussion

Nos résultats chez *Anisopteromalus calandrae* montrent qu'un mâle vierge de 1 jour du morphe rouge (R) a en moyenne plus de spermatozoïdes dans les vésicules séminales qu'un mâle vierge du morphe sauvage (W), qu'ils soient âgés de 1 jour ou de 21 jours. Il existe donc **une différence dans le stock spermatique des mâles** en fonction de **leur phénotype**. Nous observons également des **différences dans le stock initial de spermatozoïdes des mâles** en fonction de **leurs traits d'histoire de vie (âge et expérience sexuelle)**. En effet, quel que soit le morphe des mâles, un mâle vierge de 21 jours a en moyenne plus de spermatozoïdes qu'un mâle vierge de 1 jour (tableau 2). Par ailleurs, le nombre moyen de spermatozoïdes dans les vésicules séminales d'un mâle expérimenté de 1 jour ne représente qu'entre 18% et 25% du stock initial d'un mâle vierge de 1 jour (tableau 2).

En théorie, un mâle pourrait produire des quantités illimitées de spermatozoïdes mais en pratique, la production des spermatozoïdes est limitée. Les mâles sont limités par le nombre d'éjaculats et le temps requis pour renouveler leur stock de spermatozoïdes après l'accouplement (Dewsbury, 1982). De plus, la réserve spermatique des mâles peut varier en fonction de leurs traits d'histoire de vie, tels que l'âge et l'expérience sexuelle. Par exemple, les mâles plus âgés produisent des éjaculats plus importants que les mâles jeunes chez la sauterelle *Ephippiger ephippiger* (Wedell & Ritchie, 2004) et chez la libellule *Jalmenus evagoras* (Hughes *et al.*, 2000). Chez d'autres espèces, les mâles expérimentés ont moins de spermatozoïdes que les mâles vierges ou produisent des éjaculats de taille réduite. On observe ce phénomène chez le papillon *Plodia interpunctella* (Cook, 1999), chez le grillon *Poecilimon veluchianus* (Reinhold & von Helversen, 1997) ou encore chez le parasitoïde *Dinarmus basalis* (Damiens, 2001).

En résumé, à partir de nos outils expérimentaux, nous avons obtenu des mâles *Anisopteromalus calandrae* ayant des réserves spermatiques différentes dans les vésicules séminales en fonction du phénotype, de l'âge et de l'expérience sexuelle. Après les accouplements doubles de la femelle avec deux mâles de morphes différents ou ayant des traits d'histoire de vie différents, le nombre de descendants de chaque mâle peut être quantifié grâce au marqueur phénotypique (la couleur des yeux des individus). Cet outil nous permet d'évaluer la paternité des descendances issues de la compétition entre deux mâles et de faire la relation entre le stock de spermatozoïdes des mâles et leur paternité.

CHAPITRE II

CAPACITÉ D'ACCOUPEMENT DU MÂLE

A - QUESTION BIOLOGIQUE	48
B - MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	50
1. Obtention des parasitoïdes vierges	50
2. Étude des accouplements.....	50
2.1 <i>Accouplements simples (un mâle – une femelle)</i>	50
2.2 <i>Compétition entre deux mâles (deux mâles – une femelle)</i>	51
3. Analyses statistiques des données	51
C - RÉSULTATS.....	53
1. Accouplements simples	53
2. Compétition entre deux mâles pour l'accès à une femelle	55
2.1 <i>Compétition entre deux mâles vierges de morphes différents</i>	55
a) <i>Compétition mâle vierge de 1 jour R vs W pour l'accès à une femelle R</i>	55
b) <i>Compétition mâle vierge de 1 jour R vs W pour l'accès à une femelle W homozygote</i>	56
c) <i>Compétition mâle vierge de 1 jour R vs W pour l'accès à une femelle hétérozygote</i>	56
2.2 <i>Compétition entre deux mâles vierges d'âges différents</i>	58
a) <i>Compétition mâle vierge R de 21 jours vs mâle vierge W de 1 jour</i>	58
b) <i>Compétition mâle vierge W de 21 jours vs mâle vierge R de 1 jour</i>	58
2.3 <i>Compétition entre deux mâles ayant des expériences sexuelles différentes</i>	60
a) <i>Compétition mâle R expérimenté vs mâle vierge W</i>	60
b) <i>Compétition mâle W expérimenté vs mâle vierge R</i>	60
D - DISCUSSION	61

CHAPITRE II :

CAPACITÉ D'ACCOUPEMENT DU MÂLE

Chez les insectes, **l'obtention des accouplements** dépend à la fois de **la capacité d'accouplement du mâle** et de **la préférence de la femelle** pour un type de mâle donné (Thornhill & Alcock, 1983). La capacité d'obtention des accouplements peut être différente entre mâles en raison de leurs différents traits d'histoire de vie. Au niveau comportemental, **l'agressivité** ou **l'attractivité du mâle** peuvent avoir des conséquences sur le nombre d'accouplements obtenus par celui-ci (Thornhill & Alcock, 1983; Bateman, 2000; Wedell & Ritchie, 2004; Jiménez-Pérez & Wang, 2004). Au niveau physiologique, **l'âge du mâle** peut jouer un rôle important dans sa performance sexuelle (Delisle, 1995; Ofuya, 1995; Abila et al., 2003; Jones & Elgar, 2004; Srivastava & Omkar, 2004) et/ou dans l'acceptation de la femelle (Trivers, 1972; Manning, 1985; Hansen & Price, 1995; Kokko, 1998; Beck & Powell, 2000; Brooks & Kemp, 2001). Par exemple, la capacité d'accouplement des mâles diminue en fonction de l'âge chez les hyménoptères *Aphytis lingnanensis* (Gordh & De Bach, 1976) et *Cephalonomia tarsalis* (Cheng et al., 2003). A l'inverse, les femelles semblent préférer les mâles plus âgés chez plusieurs espèces de grillons (Zuk, 1988; Manning, 1989; Simmons & Zuk, 1992; Simmons, 1995a). D'autre part, **l'expérience sexuelle du mâle** (ou son passé reproducteur) peut également avoir un effet sur sa capacité d'accouplement (Jones, 1973; Kendall & Wolcott, 1999; Schlaepfer & McNeil, 2000; Sparkes et al., 2002) et/ou sur l'acceptation de la femelle (Schlaepfer & McNeil, 2000; Sparkes et al., 2002; Jiménez-Pérez & Wang, 2004). Une diminution de la capacité d'accouplement des mâles expérimentés a été observée chez les papillons *Jalmenus evagoras* (Hughes et al., 2000) et *Pieris rapae* (Watanabe et al., 1998). Néanmoins, les femelles de la pyrale du maïs, *Ostrinia nubilalis* (Schlaepfer & McNeil, 2000) ou des crabes bleus *Callinectes sapidus* (Kendall & Wolcott, 1999) préfèrent les mâles expérimentés. Ainsi, la capacité d'accouplement du mâle peut varier en fonction des traits d'histoire de vie du mâle (âge, expérience sexuelle) ou de son phénotype.

A - QUESTION BIOLOGIQUE

Dans ce contexte, la première question biologique que nous nous sommes posée chez *Anisopteromalus calandrae* était de savoir si **les traits d'histoire de vie (âge, expérience sexuelle) du mâle ou son phénotype affectaient sa capacité à obtenir des accouplements**. De plus, le stock de spermatozoïdes dans les vésicules séminales de ces mâles est différent. Par conséquent, notre deuxième question biologique qui trouvait sa réponse dans la même expérience était : le stock de spermatozoïdes d'un mâle influençait-il sa **capacité d'accouplement** ?

Pour répondre à ces questions, nous avons testé chez *Anisopteromalus calandrae* l'effet du morphe, de l'âge et de l'expérience sexuelle du mâle dans sa capacité d'accouplement lors d'**accouplements simples** ou en situation de **compétition entre deux mâles**.

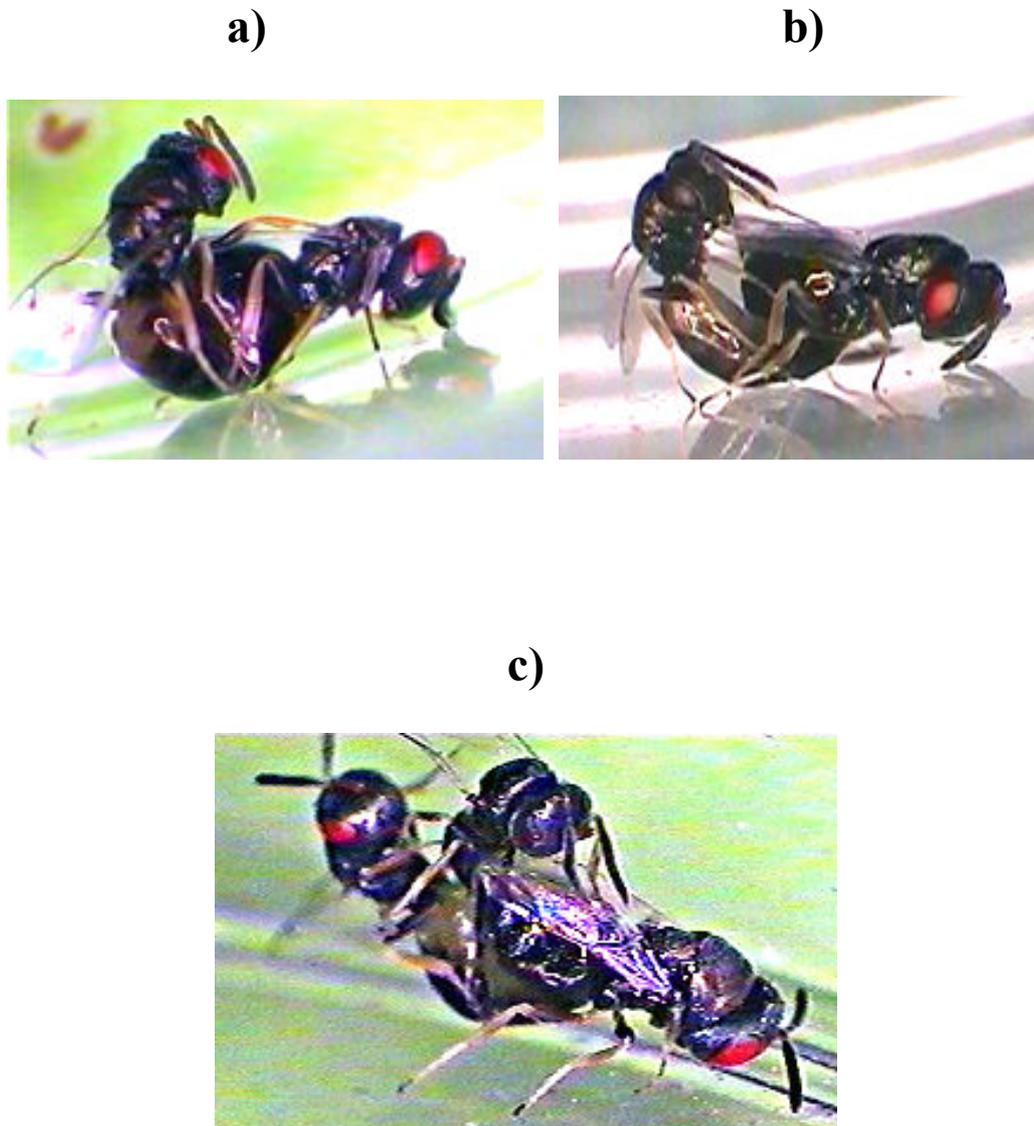


Figure 18 : Différentes situations expérimentales pour l'étude des accouplements.

- a) Accouplement simple : mâle rouge et femelle rouge
- b) Accouplement simple : mâle sauvage et femelle rouge
- c) Situation de compétition entre deux mâles différents pour l'accès à une femelle

B - MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Obtention des parasitoïdes vierges

Pour obtenir des individus vierges chez *Anisopteromalus calandrae*, on tamise des boîtes de graines en début de matinée afin d'enlever tous les individus qui ont émergé au cours des heures précédentes car ils ont pu s'accoupler. Par la suite, on isole chaque nouvel individu qui émerge des graines.

La durée de la période de rétention varie en fonction des expériences, mais pour la majorité des expériences concernant l'accouplement, nous utilisons des mâles vierges de 24 heures et des femelles vierges de 2 heures. Dans ce travail, la rétention des individus correspond à une période pendant laquelle mâles et femelles ne sont pas mis en présence. Dans une boîte de Pétri et dans une chambre climatisée (33°C : 23°C, L12h : D12h, rh 50% : 70%), les femelles vierges sont mises en rétention durant 2 heures et les mâles vierges durant 24 heures avant l'expérimentation. On fournit comme nourriture un coton imbibé d'eau sucrée (20% de saccharose) pour chaque boîte de rétention (diamètre=10 cm).

2. Étude des accouplements

2.1 Accouplements simples (un mâle – une femelle)

Une femelle vierge de 2 heures du morphe rouge (R) ou sauvage (W) est placée avec un seul mâle R ou W (figure 18a et b) dans une petite boîte de Pétri (diamètre=3 cm). Nous avons utilisé des mâles vierges de 1 jour, des mâles vierges de 21 jours et des mâles sexuellement expérimentés.

On a observé chaque couple jusqu'à la copulation. Chez les mâles vierges de 1 jour, la durée de la copulation a été notée lors d'accouplements simples et lors d'une compétition entre deux mâles pour voir si une différence existait entre ces deux situations. Les sexes ont été séparés à la fin de l'accouplement quand le mâle quitte complètement la femelle (en moyenne 55 ± 2 secondes depuis la parade, $n=99$). Les femelles accouplées ont été isolées chacune dans une boîte de Pétri avec une source d'eau sucrée pendant 24 heures. Une

partie de celles-ci a été utilisée pour les dissections et l'autre partie pour l'étude des descendants.

2.2 **Compétition entre deux mâles (deux mâles – une femelle)**

Pour l'accès à une femelle vierge de 2 heures, trois situations de compétition entre deux mâles ont été étudiées :

- Une femelle vierge de 2 heures du morphe rouge est placée avec **deux mâles vierges de 1 jour de morphes différents** (un mâle R et un mâle W ; figure 18 c). Nous avons également réalisé cette expérience avec les femelles sauvages homozygotes et hétérozygotes afin de connaître leurs modalités d'accouplements et d'identifier les différences, si elles existent, par rapport à la femelle R dans la même situation. On observe les combinaisons d'accouplement (simples ou doubles). On note le nombre de combinaisons de chaque type. Pour les accouplements doubles, on comptabilise ceux avec le même mâle et ceux avec les deux mâles. Quand la femelle atteint deux accouplements au maximum ou quand elle refuse de s'accoupler, on arrête l'expérimentation. La durée d'observation est de quelques minutes. Les femelles sont alors isolées comme précédemment et selon les protocoles expérimentaux (chapitres III et IV) elles seront disséquées ou mises en ponte.
- Dans la suite des expériences, la femelle R est mise avec **deux mâles vierges ayant des âges différents** (un mâle de 21 jours et un mâle de 1 jour) ou avec **deux mâles de 1 jour ayant des expériences sexuelles différentes** (un mâle expérimenté et un mâle vierge). Quand la compétition est réalisée entre deux mâles d'âges différents ou ayant des expériences sexuelles différentes, les mâles mis en compétition sont également de morphes différents. Le déroulement des expériences est comme décrit précédemment.

3. **Analyses statistiques des données**

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard ($M \pm ES$). Les logiciels utilisés pour les traitements statistiques sont l'utilitaire d'analyse d'Excel, « R Development Core Team » version 1.9.1 et « StatBox© Grimmer » version 2.5. Le degré de signification des tests est indiqué par la probabilité calculée (p), la signification retenue est $p < 0,05$.

Un test G (log likelihood ratio test) est utilisé lors des comparaisons entre les taux d'accouplements des femelles : accouplement simple *vs* accouplements doubles (*vs* un taux théorique 0,5 : 0,5). En situation de compétition entre deux mâles, un test G est utilisé pour les comparaisons entre des proportions du premier accouplement par un mâle *vs* l'autre mâle (*vs* un taux théorique 0,5 : 0,5) après des accouplements doubles de la femelle. De même, les comparaisons entre toutes les combinaisons d'accouplements étudiées (*vs* un taux théorique égal pour chaque combinaison d'accouplement) sont réalisées à l'aide d'un test G.

Un test-t Student bilatéral est utilisé lors de la comparaison entre deux durées moyennes de copulation.

C - RÉSULTATS

1. Accouplements simples

Toutes les femelles vierges du morphe rouge (R) ou du morphe sauvage (W) placées avec un mâle vierge de 1 jour R ou W se sont accouplées. Lorsque les mâles vierges R et W ont 21 jours, on observe également 100% d'accouplements avec une femelle vierge R. Le même taux d'accouplement est obtenu chez les mâles expérimentés R et W.

Les durées de copulations pour les combinaisons [$\text{♂Rv1j} \times \text{♀R}$] et [$\text{♂Wv1j} \times \text{♀R}$] ne sont pas significativement différentes (tableau 3). En revanche, la durée de copulation de la combinaison [$\text{♂Wv1j} \times \text{♀W}$] est significativement moins longue (tableau 3).

Tableau 3: Durée moyenne de copulation lors d'accouplements simples des mâles vierges de 1 jour ou en situation de compétition entre deux mâles pour l'accès à une femelle vierge de 2 heures. Les lettres différentes indiquent s'il existe une différence significative entre les moyennes (test-t Student). Une ANOVA est également utilisée pour les comparaisons sur l'ensemble des données.

	Combinaisons d'accouplement	Durée moyenne de copulation (seconde)
Accouplements simples des mâles vierges de 1 jour	$\text{♂Wv1j} \times \text{♀W}$ (n=43)	17,1 ± 0,1 a
	$\text{♂Rv1j} \times \text{♀R}$ (n=52)	20,7 ± 0,1 b
	$\text{♂Wv1j} \times \text{♀R}$ (n=53)	21,2 ± 0,1 b
Compétition entre deux mâles vierges de 1 jour	2♂Rv1j x ♀R (n=31)	41,3 ± 0,7 c
ANOVA, $F_{3,170}=39,8$ $p<0,001$		

Tableau 4 : Répartition des différentes combinaisons d'accouplements observées lorsqu'une femelle vierge R (ou W ou hétérozygote) est mise en présence simultanée d'un mâle vierge R de 1 jour et d'un mâle vierge W de 1 jour (♂Rv1j vs ♂Wv1j). Le nombre d'accouplements est limité à 2. Les comparaisons entre les proportions d'accouplement du mâle R et du mâle W sont effectuées par un test G avec la correction de Williams (quand l'effectif est inférieur à 200).

Compétition ♂Rv1j vs ♂Wv1j	Combinaisons d'accouplements					
	1 accouplement		2 accouplements			
	R	W	R - W	W - R	R - R	W - W
♀R (n=98)	21,4%	10,2%	31,6%	24,5%	7,1%	5,2%
	G=3,9 ddl=1 p < 0,05		G=0,9 ddl=1 p=0,3			
	G _{total} =1,4 ddl=1 p=0,24					
♀W homozygote (n=88)	14,8%	33,0%	22,7%	14,8%	3,4%	11,3%
	G=6,2 ddl=1 p < 0,05		G=1,5 ddl=1 p=0,2			
	G _{total} =6,7 ddl=1 p < 0,01					
♀W hétérozygote (n=120)	20,0%	43,3%	15,8%	15,8%	1,7%	3,4%
	G=10,5 ddl=1 p < 0,01		G=0,0, ddl=1 p=1			
	G _{total} =6,3 ddl=1 p < 0,05					

2. Compétition entre deux mâles pour l'accès à une femelle

Lorsque une femelle vierge R est mise en présence de deux mâles R, la 1^{re} copulation dure significativement plus longtemps que lors d'un accouplement simple entre une femelle R et un mâle R (tableau 3).

2.1 Compétition entre deux mâles vierges de morphes différents

Nous avons réalisé ces observations sur trois types de femelles : les femelles R homozygotes récessives, les femelles W homozygotes dominantes et les femelles W hétérozygotes.

Dans nos conditions expérimentales, les deux mâles en compétition parviennent souvent à s'accoupler avec la femelle en même temps. Les conditions de réaccouplement de la femelle sont très limitées : seulement quand les mâles sont présents en même temps et lorsque l'intervalle entre les accouplements ne dépasse pas 10 minutes (Do Thi Khanh *et al.*, 2005). Une fois ce laps de temps dépassé, aucun réaccouplement de la femelle n'est observé. Quand la femelle se réaccouple, elle le fait majoritairement avec deux mâles différents (tableau 4).

a) Compétition mâle vierge de 1 jour R vs W pour l'accès à une femelle R

Dans la situation de compétition entre un mâle vierge R de 1 jour et un mâle vierge W de 1 jour, toutes les femelles vierges R testées s'accouplent. Parmi elles, 31,6 % s'accouplent seulement une fois et 68,4 % s'accouplent deux fois (tableau 4). Quand la femelle s'accouple une seule fois, les deux combinaisons d'accouplements ne sont pas significativement différentes (tableau 4). Lorsque la femelle s'accouple deux fois, c'est préférentiellement avec deux mâles de morphes différents (82 %) et les proportions de ces deux combinaisons d'accouplement (♂Rv1j ou ♂Wv1j en premier) ne sont pas significativement différentes (tableau 4). Quant aux proportions totales d'accouplements du mâle R et W, elles sont similaires (tableau 4).

b) Compétition mâle vierge de 1 jour R vs W pour l'accès à une femelle W homozygote

47,8 % des femelles W mises simultanément avec deux mâles vierges de 1 jour (un R et un W) s'accouplent seulement une fois et 52,2 % s'accouplent deux fois (tableau 4). Quand la femelle W réalise un seul accouplement, c'est le mâle W qui obtient significativement plus d'accouplements simples (tableau 4). Les femelles qui se sont accouplées deux fois, le font le plus souvent avec deux mâles de morphes différents (71%). Les deux combinaisons d'accouplements hétéromorphes (σ^{Rv1j} en premier ou σ^{Wv1j} en premier) ne sont pas significativement différentes (tableau 4). Cependant dans cette situation expérimentale, le mâle W réalise au total significativement plus d'accouplements que le mâle R (tableau 4).

c) Compétition mâle vierge de 1 jour R vs W pour l'accès à une femelle W hétérozygote

Lorsqu'on met une femelle vierge hétérozygote en présence simultanée de deux mâles vierges de 1 jour (un R et un W), 63,3 % des femelles s'accouplent une seule fois et 36,7 % s'accouplent deux fois (tableau 4). Quand la femelle hétérozygote s'est accouplée une fois, les mâles W obtiennent significativement plus d'accouplements simples que les mâles R (tableau 4). Les femelles hétérozygotes qui se sont accouplées deux fois le font plus fréquemment avec deux mâles de morphes différents (86%). Lors de ces accouplements hétéromorphes, la femelle s'accouple autant avec le morphe R en premier qu'avec le morphe W en premier (tableau 4). Au total, il y a significativement plus d'accouplements de la femelle W hétérozygote avec le mâle W qu'avec le mâle R (tableau 4).

Tableau 5 : Répartition des différentes combinaisons d'accouplements observées lorsqu'une femelle vierge R est mise en présence simultanée d'un mâle vierge R de 21 jours et d'un mâle vierge W de 1 jour (♂Rv21j vs ♂Wv1j) ou vice versa (♂Wv21j vs ♂Rv1j). Le nombre d'accouplements est limité à 2. Les comparaisons entre les proportions dépendantes sont effectuées par un test G.

Compétition		Combinaisons d'accouplements			
		1 accouplement		2 accouplements	
♂v21j vs ♂v1j					
Situation		R21j	W1j	R21j - W1j	W1j - R21j
♂Rv21j vs ♂Wv1j		21,9%	31,4%	23,8%	22,9%
(n=105)		G=1,8 ddl=1 p=0,2		G=0,02 ddl=1 p=0,9	
		G _{total} =6,5 ddl=1 p=0,4			
Situation		W21j	R1j	W21j - R1j	R1j - W21j
♂Wv21j vs ♂Rv1j		34,2%	17,6%	24,1%	24,1%
(n=108)		G=5,8 ddl=1 p < 0,05		G=0,0 ddl=1 p=1	
		G _{total} =2,0 ddl=1 p=0,2			

2.2 Compétition entre deux mâles vierges d'âges différents

En présence simultanée de deux mâles vierges d'âges différents (1 jour et 21 jours), les femelles R n'ont pas montré de comportement agressif ou de rejet envers le mâle vierge de 21 jours. En situation de compétition, le mâle vierge de 21 jours détecte la femelle et parvient à s'accoupler avec celle-ci.

a) Compétition mâle vierge R de 21 jours vs mâle vierge W de 1 jour

Dans cette étude, toutes les femelles vierges R testées se sont accouplées au moins une fois ; 46,7 % des femelles s'accouplent deux fois avec deux mâles différents et 53,3 % des femelles ne s'accouplent qu'avec un des deux mâles (tableau 5). Quand la femelle s'accouple avec un seul mâle, elle le fait plus fréquemment avec le mâle W de 1 jour qu'avec le mâle R de 21 jours mais les proportions ne sont pas significativement différentes (tableau 5). Quand la femelle s'est accouplée deux fois avec les deux mâles d'âges différents, il n'y a pas de différence significative entre les deux combinaisons d'accouplements (♂Rv21j ou ♂Wv1j en premier, tableau 5). Aucune préférence pour l'une des 4 combinaisons d'accouplements n'a été observée dans cette étude (tableau 5).

b) Compétition mâle vierge W de 21 jours vs mâle vierge R de 1 jour

Nous obtenons des résultats similaires à ceux observés précédemment lorsque une femelle R est mise avec un mâle W de 21 jours et un mâle R de 1 jour ; 48,2 % d'entre-elles réalisent deux accouplements avec deux mâles différents et 51,8 % des femelles ne s'accouplent qu'avec un des deux mâles (tableau 5). Le mâle W de 21 jours obtient significativement plus d'accouplements simples que le mâle R de 1 jour (tableau 5). Quant aux deux accouplements avec les deux mâles d'âges différents, aucune différence entre les deux combinaisons d'accouplements n'a été observée (♂Wv21j ou ♂Rv1j en premier, tableau 5). Dans cette étude, toutes les combinaisons d'accouplements effectuées par la femelle ne sont pas significativement différentes entre elles (tableau 5).

Tableau 6 : Répartition des différentes combinaisons d'accouplements observées lorsqu'une femelle vierge R est mise en présence simultanée d'un mâle R expérimenté de 1 jour et d'un mâle vierge W du même âge (♂Rexp vs ♂Wv1j) ou vice versa (♂Wexp vs ♂Rv1j). Le nombre d'accouplements est limité à 2. Les comparaisons entre les proportions dépendantes sont effectuées par un test G.

Compétition		Combinaisons d'accouplements			
♂exp vs ♂v1j		1 accouplement		2 accouplements	
Situation		Rexp	Wv	Rexp - Wv	Wv - Rexp
♂Rexp vs ♂Wv		19,8%	43,6%	19,8%	16,8%
(n=126)		G=11,5 ddl=1, P <0,01		G=0,3 ddl=1, P=0,6	
G _{total} =5,2 ddl=1 P <0,05					
Situation		Wexp	Rv	Wexp - Rv	Rv - Wexp
♂Wexp vs ♂Rv		31,3%	26,0%	19,8%	22,9%
(n=108)		G=0,5 ddl=1 P=0,5		G=0,2 ddl=1 P=0,6	
G _{total} =0,2 ddl=1 P=0,7					

2.3 **Compétition entre deux mâles ayant des expériences sexuelles différentes**

Lors d'une compétition entre un mâle expérimenté de 1 jour (après 4 heures de mise en présence avec 5 femelles vierges) et un mâle vierge du même âge, l'accouplement du mâle expérimenté se déroule normalement.

a) Compétition mâle R expérimenté vs mâle vierge W

Lors d'une compétition de deux mâles de 1 jour (un mâle R expérimenté et un mâle vierge W), toutes les femelles vierges R observées se sont accouplées au moins une fois ; 36,6 % de celles-ci s'accouplent deux fois avec deux mâles différents et 63,4 % ne s'accouplent qu'avec un mâle (tableau 6). Quand la femelle s'est accouplée avec un seul mâle, elle le fait significativement plus avec le mâle W vierge (tableau 6). Quand la femelle s'est accouplée avec les deux mâles ayant des expériences sexuelles différentes, on observe autant d'accouplements dans chacune des deux combinaisons d'accouplements (♂Rexp ou ♂Wv en premier, tableau 6). Au total, le mâle W vierge obtient plus d'accouplements que le mâle R expérimenté (tableau 6).

b) Compétition mâle W expérimenté vs mâle vierge R

Lorsqu'une femelle R est mise en présence simultanément d'un mâle R vierge et d'un mâle W expérimenté de 1 jour, elle s'accouple au moins une fois. Parmi elles, 42,7 % s'accouplent avec les deux mâles et 57,3 % des femelles avec un seul mâle (tableau 6). Concernant les accouplements avec un seul mâle, il n'y a pas de différence significative entre les deux combinaisons d'accouplements (tableau 6). Lorsque la femelle s'est accouplée deux fois avec les deux mâles ayant des expériences sexuelles différentes, il y a autant d'accouplements dans chacune des deux combinaisons (♂Wexp ou ♂Rv en premier, tableau 6). Dans cette étude, aucune combinaison d'accouplement ne diffère significativement des autres (tableau 6).

D - DISCUSSION

Lors des accouplements simples, nos résultats chez *Anisopteromalus calandrae* ont montré que tous les mâles (R ou W) s'accouplaient. **En situation de compétition** entre deux mâles, la **durée de copulation** est **deux fois plus longue** que celle observée lors d'accouplements simples. Ce phénomène « **d'accouplement prolongé** » réalisé par le mâle est souvent en relation avec **l'évitement de la compétition spermatique** (Birkhead & Møller, 1998 ; Arnaud, 1999 ; Simmons, 2001). De plus, les mâles *Anisopteromalus calandrae* pratiquent **la parade post-copulatoire** pendant laquelle ils restent sur la femelle et tentent de la préserver de nouveaux accouplements. Ces comportements peuvent s'apparenter à une « garde postcopulatoire » qui est également connue pour éviter la compétition spermatique chez de nombreuses espèces insectes (Parker, 1984 ; Simmons, 2001). Ainsi, les mâles *Anisopteromalus calandrae* pratiquent une « garde » avec contact génital et ensuite une « garde » sans contact génital sous forme d'une parade post-copulatoire. Ces comportements de « garde sexuelle » peuvent jouer un rôle important dans l'évitement de la compétition spermatique chez cette espèce. Cela pourrait permettre aux mâles d'assurer la totalité de la descendance.

Quand deux mâles vierges de 1 jour de morphes différents sont en compétition pour l'accès à une femelle R, le mâle R obtient au final **autant d'accouplements** que le mâle W, même si le premier réalise plus d'accouplements simples que le dernier. A l'inverse, lorsqu'il s'agit d'une femelle W (homozygote ou hétérozygote), le mâle vierge W de 1 jour obtient au total plus d'accouplements que son compétiteur du morphe R et du même âge. Plus précisément, autant d'accouplements doubles sont réalisés par la femelle W avec les deux mâles mais le mâle W réalise plus d'accouplements simples que le mâle R. Dans un système d'accouplement donné, les pressions de la sélection sexuelle s'exercent à la fois sur la capacité d'accouplement des mâles et sur le choix pour l'accouplement par la femelle (Darwin, 1871 ; Trivers, 1972). Ainsi, cette **meilleure compétitivité des mâles W** par rapport aux mâles R dans **l'obtention des accouplements simples** (chez la femelle W) pourrait dépendre du mâle W, du mâle R, de la femelle ou des trois. Pour essayer d'expliquer ce résultat, nous avons émis les hypothèses suivantes : (1) les mâles W protègent plus efficacement leurs accouplements simples que les mâles R ou (2) la femelle exerce un choix pour l'accouplement en fonction du morphe des mâles. Concernant la première hypothèse, nous avons remarqué lors des observations expérimentales que les

mâles W se montraient plus agressifs que les mâles R lorsqu'il s'agit de protéger un accouplement en situation de compétition. Ceci laisse penser que les mâles W protégeraient mieux leurs accouplements que les mâles R, au moins chez les femelles W. En présence d'un compétiteur, un risque futur de compétition spermatique est présent pour le mâle qui s'accouple en premier. Si celui-ci réussit à « empêcher » la femelle de se réaccoupler, comme la période pendant laquelle la femelle se réaccouple est très brève, il pourrait garantir l'exclusivité de la paternité des descendants. Quant à la deuxième hypothèse, la littérature montre que les femelles chez plusieurs insectes peuvent faire un choix sur les différences morphologiques entre les mâles (Thornhill & Alcock, 1983; Watson & Thornhill, 1994). Par exemple, les mâles du lépidoptère *Cnephasia jactatana* ayant des antennes plus longues obtiennent plus d'accouplements (Jiménez-Pérez & Wang, 2004). Chez le grillon africain *Libanasisidus vittatus*, Bateman (2000) a observé que les mâles ayant des armements plus symétriques s'accouplaient plus. L'explication de ce phénomène est que les différences phénotypiques pourraient indiquer la qualité supérieure de certains mâles, donc en partie le reflet de leur qualité génétique supérieure (Thornhill & Alcock, 1983; Watson & Thornhill, 1994). Cependant, lors de nos observations expérimentales, aucun comportement de choix par la femelle n'a été mis en évidence. Les hypothèses suivantes tentent d'expliquer ce phénomène. Tout d'abord, il est possible qu'aucune relation n'existe entre la couleur des yeux des mâles et leur qualité de géniteur. Dans ce cas de figure, le choix par la femelle sur le critère morphologique des mâles n'apporterait aucun bénéfice pour celle-ci. Par ailleurs, comme la période de réceptivité chez les femelles est très courte, des comportements de choix par la femelle pourraient augmenter ses dépenses en temps et en énergie. Par conséquent, cela pourrait diminuer la possibilité de s'accoupler de la femelle.

De même, **en situation de compétition entre deux mâles vierges d'âges différents**, nos résultats ont montré qu'un mâle de 21 jours avait autant de chance de s'accoupler avec une femelle R qu'un mâle de 1 jour. Par ailleurs, si la femelle réalisait des accouplements doubles, elle se réaccouplerait autant avec un mâle de 21 jours que de 1 jour. Ainsi, l'effet de l'âge est absent (au moins entre 1 et 21 jours) chez *Anisopteromalus calandrae*. L'absence d'effet d'âge dans le succès d'accouplement des mâles a également été observée chez les diptères *Cnephasia jactatana* (Jiménez-Pérez & Wang, 2004) et *Sepsis cynipsea* (Martin *et al.*, 2003). A l'inverse, chez de nombreuses espèces, **la capacité d'accouplement** du mâle et/ou **le choix pour l'accouplement** de la femelle peuvent **changer en fonction de l'âge des mâles**. Tout d'abord, chez certaines espèces, **la capacité**

d'accouplement du mâle diminue à partir d'un certain âge comme dans le cas de différents coléoptères (Ofuya, 1995; Jones & Elgar, 2004) ou diptères (Delisle, 1995; Jiménez-Pérez & Wang, 2003), ainsi que chez les hyménoptères *Aphytis lingnanensis* (Gordh & De Bach, 1976) et *Cephalonomia tarsalis* (Cheng *et al.*, 2003). Cependant, concernant la préférence des femelles, elles pourraient parfois préférer s'accoupler avec les mâles plus âgés dont la bonne survie est en partie le reflet de leur qualité génétique supérieure comme chez différents grillons (Zuk, 1988; Simmons & Zuk, 1992; Simmons, 1995a) et chez le lépidoptère *Eoreuma loftini* (foreur mexicain du riz, Spurgeon *et al.*, 1995). Mais **dans la plupart des cas, une préférence des femelles pour les mâles jeunes ou pour ceux d'un âge intermédiaire** a été observée comme dans le cas des coléoptères *Dermestes maculatus* et *Coccinella septempunctata* (Srivastava & Omkar, 2004) ainsi que chez différents diptères (Abila *et al.*, 2003). **Dans notre travail, l'absence d'effet d'âge peut être expliquée** par (1) une capacité d'accouplements similaire entre des mâles de 21 jours et de 1 jour, par (2) l'absence de choix par la femelle ou (3) par une combinaison de ces deux facteurs.

Enfin, **nos résultats** ont montré que **la femelle *Anisopteromalus calandrae* ne choisissait pas un mâle en fonction de son expérience sexuelle**. Un mâle expérimenté a autant de chance d'être choisi par une femelle qu'un mâle vierge. Cela a également été observé chez le ver rouge de la farine, *Tribolium castaneum* (Lewis, 2004). Dans d'autres cas, les mâles tentent de s'accoupler le plus souvent possible même avec un stock spermatique réduit comme c'est le cas des mouches *Drosophila silvestris* (Schwartz, 1991) ou de certaines libellules ((Bissoondath & Wiklund, 1996), cité par (Kendall & Wolcott, 1999)). Cependant, **dans la plupart des cas, l'expérience sexuelle du mâle peut influencer sa capacité d'accouplement et/ou le choix pour l'accouplement** de la femelle. Chez certaines espèces, la capacité d'accouplement des mâles diminue en fonction de leur expérience sexuelle comme dans le cas des moustiques *Aedes aegypti* (Jones, 1973). Tandis que chez d'autres espèces, les femelles préfèrent s'accoupler avec les mâles vierges comme par exemple chez le lépidoptère *Cnephasia jactatana* (Jiménez-Pérez & Wang, 2004) ou chez le crustacé *Lirceus fontinalis* (Sparkes *et al.*, 2002). A l'inverse, la femelle peut s'accoupler le plus souvent avec les mâles expérimentés comme dans le cas du lépidoptère *Ostrinia nubilalis* (Schlaepfer & McNeil, 2000) et du crabe bleu *Callinectes sapidus*. Chez ce dernier, les mâles expérimentés obtiennent plus d'accouplements que les mâles vierges malgré l'absence de choix par la femelle (Kendall & Wolcott, 1999). Le plus grand succès d'accouplement des mâles expérimentés chez *Callinectes sapidus* serait dû à leur taux de

phéromones plus important que celui des mâles vierges, ce qui faciliterait leur détection par les femelles. Dans notre travail, nous avons obtenu des mâles expérimentés en réalisant des accouplements successifs d'un mâle vierge de 24 heures avec des femelles vierges 2 heures après leur émergence. Nous avons montré qu'un mâle était capable de s'accoupler avec environ 10 femelles durant une période de 2 heures. Or, la théorie prédit que le nombre d'éjaculats du mâle est limité en raison des coûts pour renouveler sa réserve spermatique (Dewsbury, 1982). Lorsque la réserve spermatique d'un mâle est épuisée, il a peu d'intérêt à réaliser des accouplements car peu de forces sélectives s'exercent sur lui pour cela (Trivers, 1972). Concernant le choix pour l'accouplement de la femelle en fonction du stock spermatique disponible chez les deux mâles en compétition, les théories prédisent que la femelle pourrait préférer le mâle ayant le plus de spermatozoïdes disponibles. Cela est dû aux coûts importants que la femelle peut subir lorsqu'elle s'accouple avec les mâles ayant une réserve spermatique insuffisante pour assurer une fécondation adéquate (Dewsbury, 1982). **Nos résultats** ont montré que **la femelle *Anisopteromalus calandrae* ne choisissait pas les mâles en fonction de leur nombre de spermatozoïdes disponibles.** Chez cette espèce, une petite quantité de spermatozoïdes (environ 100 spermatozoïdes) assure la fécondation des œufs durant toute la vie reproductive de la femelle. Cela pourrait être une des explications de l'absence de choix par la femelle sur ce critère. Ce phénomène est également observé chez le crabe bleu *Callinectes sapidus* (Kendall & Wolcott, 1999). Il serait aussi possible que chez la femelle *Anisopteromalus calandrae*, l'acceptation d'un partenaire qui pourrait féconder au moins une partie de ses œufs serait plus bénéfique que les dépenses en temps et en énergie pour trouver un meilleur mâle ou pour éviter des harcèlements sexuels.

Concernant les **harcèlement sexuels**, il faut savoir qu'*Anisopteromalus calandrae* est une espèce protandre (les mâles émergent plus tôt que les femelles) et qu'au bout de 15 jours, 80% des mâles sont encore en vie lorsqu'une nouvelle génération de mâles arrive (observations personnelles). De plus, les femelles *Anisopteromalus calandrae* ne s'accouplent qu'en début de vie et les accouplements multiples s'effectuent seulement quand plusieurs mâles sont présents en même temps (Baker *et al.*, 1998). Toutes ces caractéristiques montrent qu'une compétition intense entre mâles est inévitable pour l'accès à la femelle. Les harcèlements sexuels des mâles pour une femelle donnée peuvent être très fréquents chez cette espèce. Ainsi, la résistance de la femelle aux mâles ou l'évitement des harcèlements sexuels peut entraîner des coûts plus importants pour celle-ci que l'acceptation d'un « mauvais » mâle. Il serait également possible que les femelles ne

puissent simplement pas connaître le statut de reproduction des mâles. Cela serait dû à la capacité du mâle à masquer son expérience sexuelle même si le fait de continuer à s'accoupler apporte peu de gain pour sa valeur sélective. Un mâle avec peu de spermatozoïdes peut toujours s'accoupler avec une femelle et donc avoir des descendants supplémentaires. Plus probablement, il n'est pas adaptatif pour la femelle de développer les moyens d'identifier l'expérience sexuelle des mâles car dans la nature, les mâles ayant une réserve spermatique suffisante sont majoritaires (Kendall & Wolcott, 1999).

En résumé, lors d'accouplements simples ou en situation de compétition entre deux mâles chez *Anisopteromalus calandrae*, **notre travail** a montré que **la capacité d'accouplement** des mâles **n'était pas affectée** ni par **l'âge du mâle**, ni par **son expérience sexuelle**. Cependant, en situation de compétition entre deux mâles vierges de 1 jour pour l'accès à une femelle W, les mâles W obtiennent plus d'accouplements. Concernant la femelle, aucun comportement de choix pour l'accouplement n'a été observé.

CHAPITRE III

DISTRIBUTION ET STOCKAGE DES SPERMATOZOÏDES

A - QUESTION BIOLOGIQUE	68
B - MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	69
1. Quantification des spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelle après un accouplement simple	69
2. Quantification des spermatozoïdes dans la spermathèque des femelles inséminées par un mâle et chez le mâle après des accouplements multiples	69
2.1 Femelles présentées successivement à un mâle	69
2.2 Groupe de femelles mises en présence d'un mâle.....	70
3. Quantification des spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelle inséminée après une compétition entre mâles	70
4. Analyses statistiques des données	70
C - RÉSULTATS.....	73
1. Nombre de spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelle après un accouplement simple	73
1.1 Avec un mâle vierge de 1 jour	73
1.2 Avec un mâle vierge de 21 jours	73
1.3 Avec un mâle expérimenté.....	73
2. Nombre de spermatozoïdes dans la spermathèque des femelles inséminées par un mâle et chez le mâle après des accouplements multiples	75
2.1 Femelles présentées successivement à un mâle	75
2.2 Groupe de femelles mises en présence d'un mâle.....	77
3. Nombre de spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelle inséminée après une compétition entre deux mâles de morphes différents.....	79
3.1 Compétition mâle vierge de 1 jour R vs W pour l'accès à une femelle R.....	79
3.2 Compétition mâle vierge de 1 jour R vs W pour l'accès à une femelle W	79
4. Nombre de spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelle inséminée après une compétition entre mâles du même morphe.....	81
4.1 Compétition entre deux mâles vierges R de 1 jour pour l'accès à une femelle R.....	81
4.2 Compétition entre trois mâles vierges R de 1 jour pour l'accès à une femelle R.....	81
D - DISCUSSION	82

CHAPITRE III :

DISTRIBUTION ET STOCKAGE DES SPERMATOZOÏDES

Chez la plupart des insectes, après accouplement, les femelles stockent les spermatozoïdes transférés par le mâle dans un organe spécialisé : la spermathèque. De plus, la durée du stockage peut se prolonger sur une grande période : durant des mois chez la guêpe parasitoïde *Dinarmus basalis* en laboratoire (Damiens *et al.*, 2003) ou des années chez les fourmis *Atta colombica* (Fjerdingstad & Boomsma, 1998) et chez les abeilles *Apis mellifera* (Collins *et al.*, 2004). **Chez les femelles d'insectes, le nombre de spermatozoïdes stockés** (Fjerdingstad & Boomsma, 1998; Chevrier & Bressac, 2002) dans sa (ses) spermathèque(s) et l'évolution de **la qualité des spermatozoïdes stockés** en fonction de la durée de stockage (Damiens *et al.*, 2003; Collins *et al.*, 2004) sont **deux paramètres** qui peuvent **moduler le succès reproducteur du mâle**. Le stockage spermatique chez la femelle peut **être affecté** par diverses caractéristiques et traits d'histoire de vie du mâle. Par exemple, chez *Drosophila melanogaster*, **le génotype du mâle et de ses spermatozoïdes** comme une mutation du chromosome Y (Kiefer, 1969) est néfaste pour le stockage spermatique chez la femelle (Gromko *et al.*, 1984). Chez les mouches de bouse *Scathophaga stercoraria*, le nombre de spermatozoïdes stockés chez la femelle varie en fonction de **la taille du mâle** (Ward, 1993). Enfin, **l'âge du mâle** (Gromko *et al.*, 1984; Lamunyon, 2000; Lamunyon, 2001; Taylor *et al.*, 2001) ou **l'expérience sexuelle du mâle** (Rutowski *et al.*, 1987; Reinhold & von Helversen, 1997; Hughes *et al.*, 2000) peuvent influencer la quantité de spermatozoïdes stockés chez la femelle. **La sex-ratio de la descendance est liée à la quantité de spermatozoïdes stockés** dans la spermathèque. Chez les hyménoptères, si, lors d'un accouplement, cette quantité spermatique est insuffisante, la sex-ratio deviendra biaisée en faveur des mâles quand la femelle aura épuisé son stock de spermatozoïdes (Chevrier & Bressac, 2002). Ainsi, chez les femelles d'hyménoptères, à parthénogenèse arrhénotoque, **l'optimisation de la descendance femelle peut nécessiter le réaccouplement des femelles**. En effet, les accouplements multiples de la femelle permettent une augmentation du stockage spermatique chez l'hyménoptère *Dinarmus basalis* (Pteromalidae) (Chevrier & Bressac, 2002) ou chez les fourmis *Atta colombica* (Fjerdingstad & Boomsma, 1998).

Si les effets de l'âge et de l'expérience sexuelle des mâles dans leur succès d'accouplement ont été très étudiés par l'analyse de la descendance fille, **peu de travaux**

prennent en compte précisément **le rôle de la réserve spermatique**. Or, ce paramètre fait partie intégrante des traits d'histoire de vie des mâles et joue un rôle clé dans leur succès reproducteur (Parker, 1984).

A - QUESTION BIOLOGIQUE

Dans notre étude, nous avons pris en compte la quantité de spermatozoïdes disponible chez un mâle en fonction du morphe, de l'âge et de l'expérience sexuelle. Nous avons obtenu une **gradation du nombre de spermatozoïdes** : du mâle qui a le plus de spermatozoïdes à celui qui en a le moins : ♂_{vR21j}, ♂_{vW21j}, ♂_{vR1j}, ♂_{vW1j}, ♂_{Rexp} et enfin ♂_{Wexp}.

D'une part, la dissection des femelles accouplées et la quantification des spermatozoïdes stockés dans leur spermathèque va nous permettre de voir s'il existe une **relation** entre le **stock de spermatozoïdes du mâle** et le **nombre de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque** de la femelle. D'autre part, la comparaison entre le nombre de spermatozoïdes stockés chez la femelle après un accouplement simple et doubles permettra de savoir **si la femelle augmente ou non son stockage spermatique après des accouplements doubles** avec deux mâles différents en situation de compétition.

B - MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le protocole de l'étude de **quantification des spermatozoïdes stockés dans la spermathèque des femelles accouplées** est présenté sur la figure 19. Chaque femelle est disséquée dans une goutte de Beadle (128,3 mM NaCl ; 4,7 mM KCl ; 2,3 mM CaCl₂). On extrait et on transfère la spermathèque de la femelle dans une goutte de Beadle. La spermathèque est éclatée dans une goutte de Beadle et son contenu est également étalé à l'aide de pinces à dissection. Après une fixation à l'éthanol 100% et une coloration au DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole), les spermatozoïdes présents dans la spermathèque sont dénombrés sous microscope à épifluorescence au grossissement x 200.

Quant à la quantification des spermatozoïdes restant dans les vésicules séminales des mâles après leurs accouplements multiples, le protocole utilisé est comme décrit précédemment chez les mâles (figure 17 page 42).

1. Quantification des spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelle après un accouplement simple

Concernant les accouplements simples, nous avons quantifié le nombre de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque des femelles R accouplées une fois avec un mâle vierge de 1 jour du morphe rouge (n=39) ou sauvage (n=36), ainsi que dans celles des femelles W accouplées une fois avec un mâle vierge W de 1 jour (n=51). De même, le stockage spermatique des femelles R accouplées une fois avec un mâle vierge de 21 jours du morphe rouge (n=15) ou sauvage (W21j, n=15) a été quantifié ; ainsi que chez celles accouplées une fois avec un mâle expérimenté du morphe rouge (n=12) ou sauvage (n=12).

2. Quantification des spermatozoïdes dans la spermathèque des femelles inséminées par un mâle et chez le mâle après des accouplements multiples

2.1 Femelles présentées successivement à un mâle

Toutes les femelles successivement inséminées par un mâle vierge R (n=15) ou W (n=15) pendant une période de 2 heures sont mises en rétention individuellement durant 24 heures avant d'être disséquées. Quant aux mâles, ils sont disséqués immédiatement après la

série d'accouplements. On quantifie le nombre de spermatozoïdes stockés chez toutes les femelles accouplées et le nombre de spermatozoïdes restant dans les vésicules séminales des mâles. Le rang d'accouplement de chaque femelle est également noté.

2.2 Groupe de femelles mises en présence d'un mâle

A l'issue d'une période de 24 heures de mise en présence d'un mâle R (n=15) ou W (n=15) avec 10 femelles vierges, le mâle et l'ensemble des femelles sont disséqués. D'une part, cela permet de quantifier le nombre de femelles inséminées et de compter le nombre de spermatozoïdes stockés par l'ensemble des femelles accouplées. D'autre part, le nombre de spermatozoïdes dans leurs vésicules séminales après une période de 24 heures en présence de 10 femelles a été quantifié.

3. Quantification des spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelle inséminée après une compétition entre mâles

24 heures après les accouplements lors d'une compétition entre deux mâles vierges de 1 jour de morphes différents (un R et un W), les femelles accouplées R (n=65) ou W (n=48) sont disséquées. Le nombre de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque de la femelle est déterminé après une coloration au DAPI. De la même manière, nous avons quantifié les spermatozoïdes stockés chez les femelles R inséminées après une compétition entre deux ou trois mâles vierges R de 1 jour.

4. Analyses statistiques des données

Les résultats sont également présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard ($M \pm ES$). Les mêmes logiciels que précédemment (l'utilitaire d'analyse d'Excel, R 1.9.1 et StatBox© 2.5) sont utilisés pour les traitements statistiques. La signification retenue est toujours $p < 0,05$.

Les différences entre les nombres moyens de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque après un accouplement simple (avec un mâle R ou W, un mâle de 1 jour ou de 21 jours, un mâle vierge ou accouplé) sont comparées par une ANOVA à trois facteurs (morphe, âge et expérience sexuelle). Une ANOVA à un facteur est utilisée pour les comparaisons entre les nombres moyens de spermatozoïdes stockés chez la femelle après différentes combinaisons d'accouplements en situation de compétition entre deux mâles de

morphes différents ou ayant des traits d'histoire de vie différents. Après accouplements multiples du mâle, les comparaisons sont également réalisées entre les nombres moyens de spermatozoïdes stockés chez chaque femelle inséminée (en fonction du rang d'accouplement ou de l'importance du stockage spermatique) à l'aide d'une ANOVA à un facteur.

Un test-t Student bilatéral est utilisé lors de la comparaison entre deux nombres moyens de spermatozoïdes dans les vésicules séminales des mâles et dans la spermathèque de l'ensemble des femelles inséminées.

A l'aide d'un test exact de Fisher, les comparaisons sont effectuées entre les taux de diminution en spermatozoïdes chez le mâle après accouplements multiples.

Tableau 7 : Nombre moyen de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque d'une femelle R après différentes combinaisons d'accouplements simples : avec un mâle vierge de 1 jour ou de 21 jours ou avec un mâle expérimenté. Les mâles des deux morphes sont étudiés. Une ANOVA à trois facteurs est utilisée pour les comparaisons de l'ensemble des données.

Nombre moyen de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque			
Combinaisons Mâles			
	♂R x ♀R	♂W x ♀R	
♂v1j	167,4 ± 11,4 (n=39)	156,1 ± 15,6 (n=36)	
♂v21j	131,6 ± 17,8 (n=15)	138,5 ± 17,4 (n=15)	
♂exp	146,4 ± 26,2 (n=12)	119,0 ± 21,6 (n=12)	
Test de comparaison			
	ANOVA	ddl	P
Morphe	F=0,5	1	0,49
Age	F=2,3	1	0,14
Expérience sexuelle	F=1,3	1	0,25
Morphe - âge	F=0,3	1	0,61
Morphe - expérience sexuelle	F=0,3	1	0,57

C - RÉSULTATS

1. Nombre de spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelle après un accouplement simple

1.1 Avec un mâle vierge de 1 jour

Une femelle rouge (R) accouplée avec un mâle R ou un mâle W stocke en moyenne la même quantité de spermatozoïdes (tableau 7).

Lorsque la femelle W s'est accouplée avec un mâle W, elle stocke en moyenne $130,9 \pm 9,9$ spermatozoïdes dans sa spermathèque. Ce stockage spermatique est significativement moins important que celui de la combinaison [σ^{vR1j} x ♀R] (test-t $t=2,23$ $df=85$ $p < 0,05$).

1.2 Avec un mâle vierge de 21 jours

Une femelle R accouplée avec un mâle vierge R de 21 jours ou un mâle vierge W de 21 jours stocke en moyenne la même quantité de spermatozoïdes (tableau 7).

1.3 Avec un mâle expérimenté

Une femelle R accouplée avec un mâle R expérimenté stocke en moyenne plus de spermatozoïdes que si elle s'est accouplée avec un mâle W expérimenté. Cependant, cette différence n'est pas significative (tableau 7).

En résumé, après un accouplement simple aucune différence significative n'est observée dans la quantité de spermatozoïdes stockés chez une femelle R quels que soient le morphe du mâle (R ou W), l'âge de celui-ci (1 jour ou 21 jours) ou son expérience sexuelle (vierge ou accouplé).

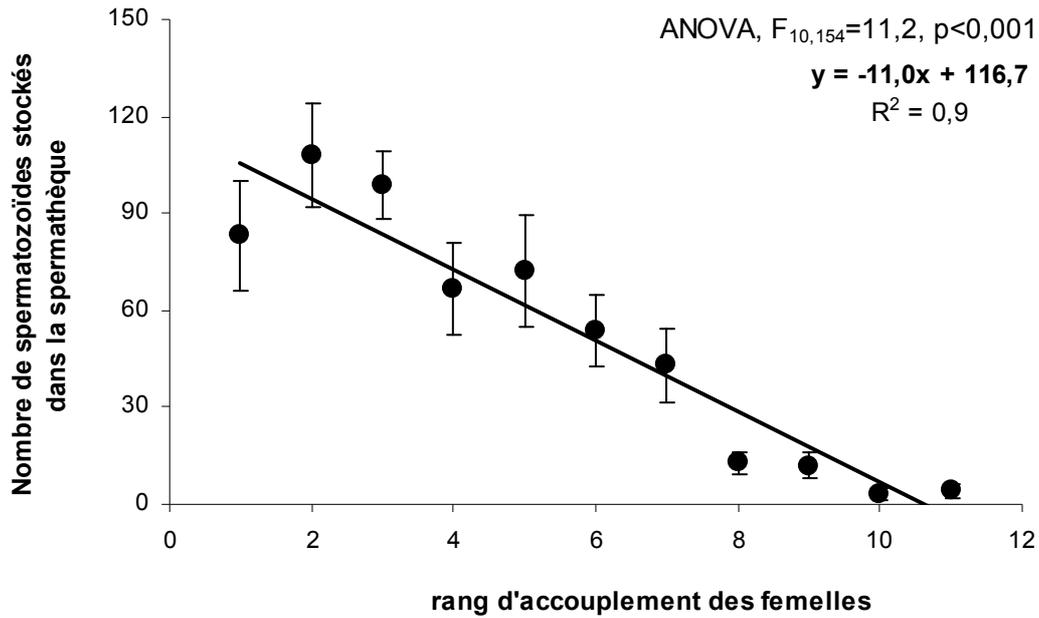


Figure 19 : Nombre moyen de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque de chaque femelle en fonction de son rang d'accouplement avec un mâle vierge R de 1 jour. Les accouplements ont été réalisés sur une période de 2 heures. Les cercles représentent le nombre moyen de spermatozoïdes stockés par les femelles en fonction du rang d'accouplement. Les barres correspondent à l'erreur standard. Les comparaisons entre les nombres de spermatozoïdes sont effectuées par une ANOVA.

Tableau 8 : Nombre moyen de spermatozoïdes dans les vésicules séminales du mâle avant et après les accouplements successifs, ainsi que nombre moyen de spermatozoïdes stockés par l'ensemble des femelles inséminées. Un test-t Student est utilisé pour les comparaisons entre les moyennes et un test exact de Fisher pour les comparaisons entre les proportions indépendantes.

Accouplements successifs du mâle durant 2 heures	Nombre moyen de spermatozoïdes		
	♂R1j	♂W1j	Test de comparaison
Dans les vésicules séminales du mâle vierge	4545,2 ± 188,8 (n=30)	3115,7 ± 201,7 (n=30)	t=5,2 ddl=58 p < 0,001
Dans la spermathèque de l'ensemble des femelles inséminées	556,8 ± 28,6 (n=15)	523,0 ± 20,1 (n=15)	t=0,1 ddl=28 p=0,34
Dans les vésicules séminales du mâle après les accouplements successifs	174,7 ± 42,4 (n=15)	181,3 ± 19,2 (n=15)	t=-0,1 ddl=28 p=0,89
Taux de perte en spermatozoïdes (%) lors des accouplements successifs	83,9 %	77,4 %	test exact de Fisher ddl=1 p=0,01

2. Nombre de spermatozoïdes dans la spermathèque des femelles inséminées par un mâle et chez le mâle après des accouplements multiples

2.1 Femelles présentées successivement à un mâle

Durant une période d'observation de 2 heures, un mâle vierge de 1 jour du morphe rouge (R) ou sauvage (W) est capable de s'accoupler successivement avec 11 femelles. Le nombre de femelles inséminées varie entre 7 et 11, mais seulement 5 ou 6 femelles sont bien inséminées (plus de 50 spermatozoïdes stockés dans leur spermathèque, figure 19). Concernant les accouplements successifs d'un mâle R avec des femelles individuelles, la figure 19 montre la quantité de spermatozoïdes stockés chez une femelle en fonction de son rang d'accouplement. Les stockages spermatiques des trois premières femelles inséminées par le mâle R (environ 97 spermatozoïdes) ne sont pas significativement différents. Il en est de même pour le mâle W.

Après ces accouplements successifs, le nombre de spermatozoïdes restant dans les vésicules séminales des mâles R ne représente qu'environ 3,8% du stock initial et 5,7% pour le morphe W (tableau 8). L'ensemble des femelles accouplées successivement avec un mâle R stocke une quantité de spermatozoïdes qui corespond à environ 12,5% du stock initial du mâle (tableau 8). Ce rapport est de 16,8% pour le morphe W.

Le taux de perte en spermatozoïdes chez le mâle R au cours des accouplements successifs est plus grand que chez le mâle W (tableau 8).

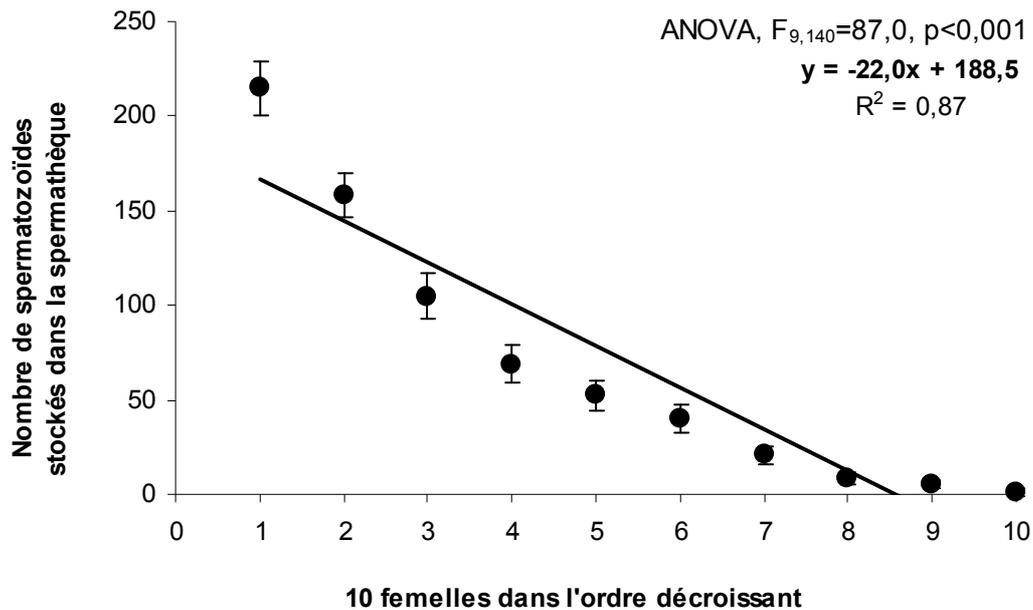


Figure 20 : Nombre de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque des 10 femelles mises ensemble avec un mâle vierge R de 1 jour. L'ordre des accouplements du mâle n'est pas pris en compte. Les accouplements ont été réalisés sur une période de 24 heures. Les cercles représentent le nombre moyen de spermatozoïdes stockés par les femelles. Les barres correspondent à l'erreur standard. Les comparaisons entre les nombres de spermatozoïdes sont effectuées par une ANOVA.

Tableau 9 : Nombre moyen de spermatozoïdes dans les vésicules séminales du mâle avant et après une période de 24 heures en présence d'un groupe de 10 femelles, ainsi que nombre moyen de spermatozoïdes stockés par l'ensemble des femelles inséminées. Un test-t Student est utilisé pour les comparaisons entre les moyennes et un test exact de Fisher pour les comparaisons entre les proportions indépendantes.

Accouplements multiples du mâle durant 24 heures en présence d'un groupe de 10 femelles	Nombre moyen de spermatozoïdes		
	♂R1j	♂W1j	Test de comparaison
Dans les vésicules séminales du mâle vierge	4545,2 ± 188,8 (n=30)	3115,7 ± 201,7 (n=30)	t=5,2 ddl=58 p < 0,001
Dans la spermathèque de l'ensemble des femelles inséminées	674,3 ± 48,2 (n=15)	636,7 ± 53,2 (n=15)	t=0,52 ddl=28 p=0,60
Dans les vésicules séminales du mâle après les accouplements multiples	629,5 ± 136,1 (n=15)	716,5 ± 114,8 (n=15)	test-t, t=-0,49 ddl=28 p=0,63
Diminution en spermatozoïdes (%) lors des accouplements multiples	71,3 ± 3,1 %	56,6 ± 4,4 %	test exact de Fisher ddl=1 p=0,0

2.2 Groupe de femelles mises en présence d'un mâle

Quand un mâle vierge est mis en présence de 10 femelles pendant 24 heures, environ 6 femelles sur 10 sont bien inséminées par le mâle R ou W (environ 50 spermatozoïdes, figure 20). Le nombre moyen de spermatozoïdes stockés par l'ensemble des femelles mises avec un mâle R représente en moyenne 14,8% du stock initial du mâle (tableau 9). Ce rapport est d'environ 20,4% pour le mâle W.

Après la période de 24 heures en présence de 10 femelles, le nombre moyen de spermatozoïdes présents dans les vésicules séminales d'un mâle R et W sont semblablement équivalents (tableau 9). Un mâle R présente une diminution en spermatozoïdes plus importante que celui d'un mâle W lors d'accouplements multiples (tableau 9). Comme les mâles sont disséqués au bout de 24 heures, cette diminution en spermatozoïdes tient compte d'une éventuelle reconstitution partielle de leur stock de spermatozoïdes.

Tableau 10 : Nombre moyen de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque d'une femelle R ou W mise en présence simultanée d'un mâle vierge R de 1 jour et d'un mâle vierge W de 1 jour (♂vR1j vs ♂vW1j) lors de différentes combinaisons d'accouplements. Le nombre d'accouplements pour une femelle est limité à 2.

Morphes différents	Nombre moyen de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque de la femelle					
	1 accouplement			2 accouplements		
	R	W	R - W	W - R	R - R	W - W
♂vR1j vs ♂vW1j						
♀R (n=65)	160,9 ± 27,7 (n=13)	183,2 ± 41,9 (n=6)	199,1 ± 22,5 (n=22)	201,1 ± 23,5 (n=15)	225,0 ± 55,3 (n=6)	190,0 ± 67,6 (n=3)
	ANOVA, $F_{5,59}=0,40$ $p=0,84$					
♀W (n=48)	136,8 ± 11,1 (n=8)	149,2 ± 6,8 (n=14)	203,8 ± 6,4 (n=13)	117,5 ± 13,6 (n=6)	229,0 ± 0,0 (n=1)	144,0 ± 15,2 (n=6)
	ANOVA, $F_{5,42}=0,97$ $p=0,44$					

3. Nombre de spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelle inséminée après une compétition entre deux mâles de morphes différents

3.1 Compétition mâle vierge de 1 jour R vs W pour l'accès à une femelle R

En présence simultanée de deux mâles vierges de 1 jour (un R et un W), la femelle R stocke en moyenne $192,4 \pm 12,6$ spermatozoïdes dans sa spermathèque pour toutes les combinaisons confondues. Le nombre moyen de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque de la femelle est sensiblement le même (tableau 10) quelle que soit la combinaison d'accouplement (un ou deux accouplements, ♂_{vR1j} ou ♂_{vW1j} en premier).

3.2 Compétition mâle vierge de 1 jour R vs W pour l'accès à une femelle W

Après une compétition entre deux mâles vierges de 1 jour (un R et un W), la femelle W stocke dans sa spermathèque en moyenne $146,4 \pm 11,0$ spermatozoïdes pour toutes combinaisons confondues (tableau 10). Ce stockage spermatique est moins important que celui observé chez la femelle R (test-t, $t=-2,25$ ddl=111 $p=0,01$). En présence des deux mâles de morphes différents et quelle que soit la combinaison d'accouplement (un ou deux accouplements, ♂_{vR1j} ou ♂_{vW1j} en premier), il n'y a pas de différence significative dans les quantités de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque de la femelle W (tableau 10).

Tableau 11 : Nombre moyen de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque d'une femelle R mise en présence simultanée (1) de deux mâles vierges R de 1 jour (le nombre d'accouplements est limité à 2) ou (2) de trois mâles vierges R de 1 jour (le nombre d'accouplements n'est pas limité).

Même morphe		Nombre moyen de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque de la femelle					
		1 accouplement			2 accouplements		
2♂vR1j x ♀R (n=28)		188,7 ± 27,8 (n=11)			173,5 ± 25,9 (n=17)		
		t=0,39 ddl=26 p=0,70					
		Nombre d'accouplements					
		1	2	3	4	5	6
3♂vR1j x ♀R (n=54)		149,2 ± 24,2 (n=11)	142,4 ± 18,7 (n=21)	172,9 ± 35,6 (n=10)	142,3 ± 11,9 (n=3)	202,7 ± 49,1 (n=6)	233,3 ± 78,9 (n=3)
		ANOVA, F _{5,48} =0,82 p=0,54					

4. Nombre de spermatozoïdes dans la spermathèque d'une femelle inséminée après une compétition entre mâles du même morphe

4.1 Compétition entre deux mâles vierges R de 1 jour pour l'accès à une femelle R

En présence simultanée de deux mâles vierges R de 1 jour, une femelle R stocke en moyenne $179,5 \pm 18,9$ spermatozoïdes dans sa spermathèque après un ou deux accouplements. Ces stockages spermatiques ne sont pas significativement différents entre eux (tableau 11).

4.2 Compétition entre trois mâles vierges R de 1 jour pour l'accès à une femelle R

Après une compétition entre trois mâles vierges R de 1 jour, la quantité de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque d'une femelle R est d'environ $161,2 \pm 12,9$ spermatozoïdes (tableau 11). Dans ce cas de figure, la femelle réalise jusqu'à six accouplements. Cependant, aucune différence significative n'est observée dans le stockage spermatique de la femelle R quel que soit son nombre d'accouplements (tableau 11).

En résumé, une femelle R stocke autant de spermatozoïdes dans toutes les combinaisons d'accouplements étudiées (accouplements simples, doubles ou multiples de la femelle ; ANOVA, $F_{19,256}=1,08$ $p=0,37$).

D - DISCUSSION

Chez *Anisopteromalus calandrae*, **nos résultats** ont montré que **la quantité de spermatozoïdes stockés chez la femelle** après un accouplement **ne variait pas** en fonction du **phénotype du mâle** ou de **différents traits de son histoire de vie**. Il a été montré **chez d'autres espèces** que la **quantité de spermatozoïdes stockés chez la femelle** pouvait **varier selon les caractéristiques du mâle** avec lequel elle s'est accouplée. Ces caractéristiques peuvent être **le génotype du mâle** comme dans le cas de la mouche *Drosophila melanogaster* (Gromko *et al.*, 1984). Chez d'autres espèces, la femelle stocke préférentiellement les spermatozoïdes du **mâle de grande taille** comme dans le cas de la mouche *Scathophaga stercoraria* (Ward, 1993). D'autre part, chez certaines espèces, **l'âge du mâle** peut également avoir un effet négatif sur le stockage spermatique de la femelle comme par exemple chez les papillons nocturnes *Heliothis virescens* (Lamunyon, 2000; Lamunyon, 2001) ou chez les mouches de fruits de la Méditerranée *Ceratitis capitata* (Taylor *et al.*, 2001). De plus, chez de nombreuses espèces d'insectes, **l'expérience sexuelle du mâle** entraîne l'épuisement de son stock de spermatozoïdes disponibles (Cook, 1999; Savalli & Fox, 1999; Hughes *et al.*, 2000; Lamunyon, 2001). Par conséquent, le mâle expérimenté transfère moins de spermatozoïdes à la femelle et cela entraîne donc une diminution de la quantité de spermatozoïdes stockés chez la femelle.

Notre étude a également montré qu'**après deux accouplements** avec deux mâles vierges de 1 jour de morphes différents, **la femelle *Anisopteromalus calandrae* ne stockait pas plus de spermatozoïdes** qu'après un seul accouplement. Il en est de même chez les fourmis *Acromyrmex versicolor* où un seul accouplement est suffisant pour la fécondation des œufs durant toute la vie reproductive d'une femelle (Reichardt & Wheeler, 1996). Cependant, **chez d'autres espèces, les accouplements multiples peuvent permettre une augmentation du nombre de spermatozoïdes stockés** dans la spermathèque de la femelle comme c'est le cas chez le Pteromalidae *Dinarmus basalis* (Chevrier & Bressac, 2002) ou chez de nombreuses abeilles et fourmis (Thornhill & Alcock, 1983; Fjerdingstad & Boomsma, 1998; Oldroyd *et al.*, 1997; Santolamazza Carbone & Cordero Rivera, 2003). Cette augmentation du stockage spermatique permet aux femelles de ces espèces d'assurer une descendance fille durant toute leur vie reproductive. **Nos résultats suggèrent** que (1) **la capacité de stockage de la femelle est limitée**. Ce phénomène est observé chez l'abeille *Apis mellifera* (Kraus *et al.*, 2004) où un seul accouplement remplit la spermathèque. Mais

aussi (2) qu'il peut y avoir un déplacement des spermatozoïdes du premier mâle par le deuxième mâle comme cela a été observé chez d'autres espèces (Thornhill & Alcock, 1983), voire un rejet des spermatozoïdes du premier mâle par la femelle (Thornhill & Alcock, 1983; Parker, 1984). Si la seconde hypothèse se trouvait vérifiée, il y aurait une dominance du deuxième mâle par rapport au premier. Pour savoir si en situation de compétition il y a un déplacement du sperme du premier mâle par le deuxième mâle, seule l'étude des descendants nous permet de répondre. D'autre part, en regardant comment chaque mâle est représenté dans la descendance de la femelle, nous pourrions savoir si en situation de compétition un trait d'histoire de vie du mâle est favorisé.

Quant aux **accouplements multiples des mâles vierges de 1 jour** chez *Anisopteromalus calandrae*, **notre étude** a montré qu'**un mâle pouvait s'accoupler avec environ 10 femelles durant une période de 2 heures** et permettait aux 6 premières femelles de stocker au moins environ 50 spermatozoïdes chacune. Les trois premiers accouplements du mâle permettaient à la femelle d'avoir un stockage spermatique suffisant (en moyenne 100 spermatozoïdes). Lors des accouplements suivants du mâle, la quantité de spermatozoïdes stockés chez la femelle diminue. Bien que les mâles R aient 50% plus de spermatozoïdes que les mâles W, ils n'inséminent pas plus de femelles et ils ne permettent pas non plus à l'ensemble des femelles de stocker plus de spermatozoïdes.

Nous observons une **distribution des spermatozoïdes du mâle en fonction de sa réserve spermatique**. Garcia Saez (1988) (cité par King, 2000) a montré que les **mâles** *Anisopteromalus calandrae* pouvaient **inséminer de 2 à 23 femelles au total**. D'autre part, chez cette espèce lorsqu'un mâle a la possibilité de s'accoupler avec 10 femelles pendant 12 heures, il produit environ 600 à 1000 descendants (Garcia Saez, 1988). Le phénomène de distribution parcimonieuse des spermatozoïdes du mâle est également observé chez *Dinarmus basalis* (Damiens, 2001) où pendant une période de 3 heures, un mâle peut s'accoupler successivement avec 13 à 27 femelles, mais dans ce cas seulement les 8 premières femelles stockent une quantité suffisante de spermatozoïdes. Chez un autre parasitoïde, *Trichogramma evanescens*, un mâle insémine successivement une vingtaine de femelles dont les 10 premières stockent une quantité égale de spermatozoïdes puis les 10 dernières en stockent de moins en moins (Damiens & Boivin, 2005). Selon Dewsbury (1982), **les mâles sont limités par le nombre d'éjaculats** qu'ils peuvent fournir et **le temps requis pour renouveler leur réserve de spermatozoïdes**. En raison de cette limitation en éjaculats, on peut s'attendre à une certaine stratégie optimale mise en place par un mâle dans la distribution de ses éjaculats aux femelles. **La distribution des**

spermatozoïdes disponibles pour plusieurs femelles chez le mâle *Anisopteromalus calandrae* **correspond à cette logique**. Chez la papillon *Pieris rapae*, en fonction de ses accouplements, le mâle présente des stratégies différentes dans la distribution de ses spermatozoïdes. Lors du 2^e accouplement, plus de spermatozoïdes efficaces sont transférés par le mâle de ce papillon que lors du 1^{er} accouplement malgré une plus petite taille du spermatophore (Wedell & Cook, 1999). Nos résultats expérimentaux chez *Anisopteromalus calandrae* sont également en adéquation avec le modèle mathématique proposé par Galvani et Johnstone (1998) sur une distribution optimale des spermatozoïdes. Ces auteurs suggèrent que la quantité de spermatozoïdes disponible chez le mâle influence la relation entre la qualité d'un accouplement et le niveau de distribution des spermatozoïdes.

Concernant **la perte en spermatozoïdes** des mâles après les accouplements multiples, nos résultats ont montré que plus de 75% du stock initial de spermatozoïdes du mâle ne sont retrouvés ni dans les vésicules séminales des mâles ni dans la spermathèque des femelles. Les résultats similaires sont obtenus chez un autre Pteromalidae *Dinarmus basalis* (Damiens, 2001). De plus, au cours d'un accouplement, le mâle peut présenter une perte conséquente en spermatozoïdes. En effet, chez l'hyménoptère *Eupelmus orientalis*, seulement 21% des spermatozoïdes transférés à la femelle par un mâle lors d'un accouplement sont stockés chez celle-ci (Bressac & Chevrier, 1998). Cette perte en spermatozoïdes du mâle lors des accouplements peut être expliquée par **l'hypothèse** suivante : lors de la copulation, le mâle transfère des spermatozoïdes dans l'utérus de la femelle ; il serait possible que **l'éjaculat d'un mâle vierge remplisse tout le réceptacle génital** de la femelle et que **seulement les spermatozoïdes les plus mobiles soient stockés** dans la spermathèque. Ceci ne représente qu'une proportion de l'éjaculat du mâle. Par ailleurs, les pertes en spermatozoïdes au cours du stockage chez la femelle ont été mentionnées chez *Drosophila melanogaster* (Lefevre & Jonsson, 1962). Toujours chez *Drosophila melanogaster*, 50% de perte en spermatozoïdes survient au cours de la ponte de la femelle. L'explication serait le fait que tous les spermatozoïdes stockés ne sont pas fonctionnels (voir Olivieri *et al.*, 1970). Selon nos résultats, ce n'est visiblement pas le cas chez *Anisopteromalus calandrae* car cette perte en spermatozoïdes a lieu avant ou lors du remplissage de la spermathèque. Il faut noter que chez *Anisopteromalus calandrae*, le stockage est très efficace et 80% de pertes est très faible par rapport à la plupart des espèces. Par exemple, les pertes en spermatozoïdes sont extrêmement importantes chez les vertébrés. Chez les espèces avec spermatophore, les spermatozoïdes peuvent être éjectés par la femelle avant la fin du transfert (Arnaud, 1999 ; Simmons, 2001). Dans d'autres cas,

il peut s'agir du spermicide de la femelle qui pourrait potentiellement procurer des bénéfices nutritionnels ou éliminer des spermatozoïdes porteurs de mutants somatiques qui ne seraient pas bénéfiques pour le développement des zygotes (Bernasconi *et al.*, 2002).

En résumé, après un accouplement simple ou après une compétition entre deux mâles chez *Anisopteromalus calandrae*, **notre travail** a montré que **(1) le nombre de spermatozoïdes stockés** chez la femelle **n'était affecté** ni par **le morphe du mâle**, ni par **son âge**, ni par **son expérience sexuelle**. De plus, **(2) le stock de spermatozoïdes dans les vésicules séminales** des mâles au moment de l'accouplement **n'a aucun effet** sur la capacité d'accouplement du mâle et le stockage spermatique chez la femelle. En outre, **(3) les mâles distribuent leur stock de spermatozoïdes entre plusieurs femelles**. La question qui en découle est de connaître l'influence de ces paramètres sur la descendance (quantité, sex-ratio et paternité). Le chapitre IV présente des résultats qui permettent de répondre à cette question.

CHAPITRE IV

ÉTUDE DE LA DESCENDANCE

A - QUESTION BIOLOGIQUE	89
B - MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	92
1. Obtention des graines parasitées	92
2. Mise en ponte des femelles accouplées	92
3. Étude de la paternité des descendants	93
4. Analyses statistiques des données	94
C - RÉSULTATS.....	96
1. Descendance issue d'un accouplement simple.....	96
1.1 <i>Descendance des mâles vierges de 1 jour</i>	96
1.2 <i>Descendance des mâles vierges de 21 jours</i>	96
1.3 <i>Comparaison entre la descendance après un accouplement simple des mâles vierges de 1 jour et de 21 jours</i>	97
2. Descendance issue d'une compétition entre deux mâles vierges de morphes différents ..	99
2.1 <i>Descendance d'une femelle rouge (R) accouplée deux fois avec deux mâles vierges de 1 jour en situation de compétition</i>	99
2.2 <i>Descendance d'une femelle sauvage (W) accouplée deux fois avec deux mâles vierges de 1 jour en situation de compétition</i>	103
2.3 <i>Descendance d'une femelle hétérozygote (Aa) accouplée deux fois avec deux mâles vierges de 1 jour en situation de compétition</i>	103
3. Descendance issue d'une compétition entre deux mâles vierges d'âges différents	104
3.1 <i>Descendance d'une femelle accouplée deux fois avec un mâle vierge R de 21 jours et un mâle vierge W de 1 jour en situation de compétition</i>	106
3.2 <i>Descendance d'une femelle accouplée deux fois avec un mâle vierge W de 21 jours et un mâle vierge R de 1 jour en situation de compétition</i>	109
3.3 <i>Tableau récapitulatif pour la descendance issue de la compétition entre un mâle vierge de 21 jours et un mâle vierge de 1 jour</i>	111
4. Descendance issue d'une compétition entre deux mâles ayant des expériences sexuelles différentes	113
4.1 <i>Descendance d'une femelle accouplée deux fois avec un mâle R expérimenté et un mâle vierge W en situation de compétition</i>	113
4.2 <i>Descendance d'une femelle accouplée deux fois avec un mâle W expérimenté et un mâle vierge R en situation de compétition</i>	116
4.3 <i>Tableau récapitulatif pour la descendance issue de la compétition entre un mâle expérimenté et un mâle vierge</i>	117
5. Bilan des résultats concernant la descendance issue d'une compétition entre deux mâles.....	118
D - DISCUSSION	119
1. Descendance issue d'un accouplement simple.....	119
2. Descendance issue d'une compétition entre deux mâles.....	122

CHAPITRE IV : **ÉTUDE DE LA DESCENDANCE**

Chez les insectes, **l'âge du mâle** peut avoir **un effet** sur la quantité et la qualité de **la descendance produite** (Hansen & Price, 1995). Par exemple, les mâles d'un âge intermédiaire permettent aux femelles d'avoir plus de descendants que les mâles plus jeunes ou plus âgés comme c'est le cas chez la coccinelle *Coccinella septempunctata* (Srivastava & Omkar, 2004) et chez le coléoptère du cuir *Dermestes maculatus* (Jones & Elgar, 2004). Cela est aussi observé chez le papillon nocturne *Spodoptera exigua* (Rogers & Marti, 1997) et chez la mineuse blanche de la feuille du caféier *Leucoptera coffeella* (Michereff et al., 2004). Cet effet d'âge peut être dû d'une part à une dégénérescence physiologique du mâle et d'autre part à une augmentation du taux de mutations des cellules germinales lorsque les mâles sont plus âgés (Hansen & Price, 1999; Radwan, 2003). De plus, une diminution de la quantité et de la qualité des spermatozoïdes peut avoir lieu (Kidd *et al.*, 2001). Chez d'autres espèces, la quantité et la qualité des descendants peuvent varier en fonction **du phénotype du mâle** (Thornhill & Alcock, 1983; Sivinski, 1997). Un troisième facteur qui affecte la quantité et la qualité des descendants est **l'expérience sexuelle du mâle**. Par exemple, dans le cas du Pteromalidae *Pachycrepoideus vindemiae* (Nadel & Luck, 1985) ou d'un autre hyménoptère *Aphytis lingnanensis* (Gordh & De Bach, 1976), le mâle a de moins en moins de descendants au cours de ses accouplements successifs dans une journée. Chez d'autres espèces, un mâle vierge permet à la femelle d'avoir une meilleure descendance qu'un mâle expérimenté comme dans le cas du coléoptère *Callosobruchus maculatus* (Savalli & Fox, 1999), du cafard *Nauphoeta cinerea* (Montrose *et al.*, 2004) ou de la mineuse blanche de la feuille du caféier *Leucoptera coffeella* (Michereff *et al.*, 2004). Il en est de même chez la libellule *Colias eurytheme* (Rutowski *et al.*, 1987) et chez les noctuelles *Helicoverpa armigera* (Hou & Sheng, 1999) et *Helicoverpa littoralis* (Sadek, 2001). Les femelles noctuelles *Spodoptera littoralis* ont une meilleure ponte quand elles se sont accouplées avec des mâles vierges ou avec des mâles ayant effectué un seul accouplement (Sadek, 2001). Un autre exemple, chez le crustacé *Lirceus fontinalis*, une diminution de 18% de fécondité est observée chez les femelles accouplées avec les mâles ayant déjà eu une expérience sexuelle (Sparkes *et al.*, 2002).

Chez les insectes, lorsque les femelles pratiquent les **accouplements multiples**, c'est-à-dire plus d'un accouplement avec des mâles différents, il peut y avoir une compétition entre les éjaculats de différents mâles pour la fécondation des œufs d'une même femelle, c'est la **compétition spermatique** (Parker, 1970). Ce phénomène est encore plus important chez les espèces où les femelles possèdent des **structures de stockage spermatique** qui maintiennent les spermatozoïdes en vie sur une longue période comme chez de nombreux insectes (Fjerdingstad & Boomsma, 1998 ; Damiens *et al.*, 2003 ; Collins *et al.*, 2004), chez des oiseaux (Bressac *et al.*, 2000) ou chez certains reptiles (Sever, 1992; Sever *et al.*, 2004). En effet, le fait que les spermatozoïdes soient viables longtemps donne plus de possibilités de « chevauchements » spatial et temporel des éjaculats (Parker, 1982; Parker, 1984). Cette compétition au niveau des éjaculats peut fortement influencer la descendance finale de chaque mâle. En général, la **proportion des descendants de chaque mâle en compétition** peut être différente. Chez les insectes, c'est souvent le dernier mâle accouplé avec la femelle qui aura le plus de descendants (Parker, 1984; Price *et al.*, 1999; Hosken & Ward, 2000; Simmons, 2001). Dans ce cas, la **priorité de paternité** appartient au **dernier mâle** (symbolisé P_2) mais dans d'autres cas, c'est le **premier mâle** qui remporte la compétition (P_1). En effet, chez la plupart des **hyménoptères parasitoïdes** étudiés, c'est le premier mâle qui est le plus représenté dans la descendance après une compétition (Quicke, 1997; Simmons, 2001).

En situation de compétition entre mâles, un mécanisme fondamental de la compétition spermatique appelé le principe de la **loterie**, « *the raffle* » est proposé par Parker (1990). Lorsqu'il s'agit d'une **loterie honnête**, « *fair raffle* », la **proportion de descendants de chaque mâle** en compétition correspond à la **proportion de ses spermatozoïdes transférés** à la femelle. Depuis 1990, Parker et collaborateurs ont également développé le principe de la loterie sur l'**investissement en spermatozoïdes du mâle**. Ainsi, en fonction des **risques de compétition spermatique** et de l'**ordre des accouplements**, le mâle peut investir plus ou moins de spermatozoïdes (Parker, 1990a; Parker, 1990b; Parker *et al.*, 1997; Parker, 1998; Mesterton-Gibbons, 1999). Lors d'une compétition entre deux mâles *Anisopteromalus calandrae* pour l'accès à une femelle, on peut penser que le **risque de compétition spermatique** n'est **pas égal** entre le **premier mâle** et le **deuxième mâle**. En effet, comme la femelle s'est déjà accouplée, le deuxième mâle est face à un risque de compétition spermatique permanent, *risque acquis* (Parker *et al.*, 1997), tandis que pour le premier mâle, la femelle vierge ne représenterait qu'un *risque futur* (Parker *et al.*, 1997) si elle s'accouplait avec un deuxième mâle. Parfois, ce risque

futur de compétition spermatique est évitable lorsque le premier mâle réussit à protéger sa femelle. Un **modèle** mathématique de Parker et collaborateurs (1997) **prédit** que les mâles **investissent plus de spermatozoïdes** chez les **femelles déjà accouplées**.

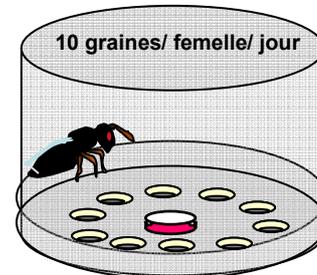
A - QUESTION BIOLOGIQUE

- Tout d'abord, nous nous sommes intéressés à **l'effet de l'âge** et à **l'effet du morphe** des mâles sur la **descendance** produite (**sex-ratio et quantité**) lors d'**accouplements simples**. De plus, les mâles expérimentaux *Anisopteromalus calandrae* d'âges différents et de morphes différents n'ont pas les mêmes stocks de spermatozoïdes. Les conséquences de cette **différence dans le nombre de spermatozoïdes** stockés dans les vésicules séminales des mâles ont été étudiées indirectement au travers de la **descendance** des femelles (**sex-ratio et quantité**) lors d'**accouplements simples**.
- Ensuite, il est communément connu qu'un récent **passé reproducteur** du mâle a un **effet négatif sur la descendance** chez de nombreuses espèces d'insectes. Néanmoins, **il existe peu d'études sur la paternité des descendants** après une compétition entre **les mâles ayant des expériences sexuelles différentes**. Dans **ce travail**, nous avons étudié la **paternité des descendants** après **compétition entre deux mâles** qui avaient des **stocks de spermatozoïdes différents**. Nous avons voulu savoir si la quantité de spermatozoïdes disponible du mâle influençait la paternité de sa descendance lorsque la femelle s'accouplait avec les deux mâles. De plus, comme nous vous l'avons présenté précédemment, les mâles expérimentaux utilisés sont différents par leur **phénotype**, leur **âge** et leur **expérience sexuelle**. En situation de **compétition** entre deux mâles, l'étude de la paternité des descendants nous a également permis de voir si ces paramètres avaient un effet sur la **sex-ratio** et sur la **paternité** des descendants.
- Dans notre étude, à partir des paternités des descendants obtenus, nous avons **vérifié le principe de loterie honnête**, « *fair raffle* », proposé par Parker (1990). Si nos résultats confirment le modèle de loterie honnête, le mâle ayant plus de spermatozoïdes disponibles aurait toujours plus de descendants après une compétition entre deux mâles. De plus, la paternité des descendants nous permettra de **vérifier** s'il existe un effet de **l'ordre des accouplements** (premier ou deuxième) ou d'autres **contraintes post-copulatoires** comme le **déplacement spermatique** ou la **sélection cryptique** de la femelle.

- Selon les théories concernant le risque de compétition spermatique, le deuxième mâle pourrait fournir plus de spermatozoïdes à la femelle dans nos conditions expérimentales. De ce fait, par l'étude de la paternité des descendants, nous aurons également la possibilité d'observer si une **différence** existe entre **l'investissement en spermatozoïdes** du **premier mâle** et celui du **deuxième mâle**.

ÉTUDE DE LA DESCENDANCE

<1> Mise en ponte des femelles accouplées



<2> Quantification de la descendance totale

$$\text{Sex-ratio} = \frac{\Sigma_{\text{♀}}}{\Sigma_{\text{♂}} + \Sigma_{\text{♀}}}$$



<3> En compétition : Identification de la paternité

Morphe W (allèle dominant)

Morphe R (allèle récessif)

En P :

♂W + ♀R

♂R + ♀R



En F₁ :

femelles W

femelles R

Figure 21 : Protocole expérimental pour l'étude de la descendance après un accouplement simple ou après une compétition entre deux mâles différents par leur morphe, leur âge ou leur expérience sexuelle.

B - MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Obtention des graines parasitées

Deux mâles et huit femelles de *Callosobruchus malucatus* sont mis dans une boîte de Pétri contenant une centaine de graines de niébé. Cette boîte est placée dans la chambre climatisée (40°C : 25°C) pendant 8 heures. On enlève ensuite les insectes avec des pinces souples ou un aspirateur et on remet la boîte dans la chambre climatisée pendant 18 jours. Pour standardiser la densité en hôtes à l'intérieur des graines et assurer une distribution régulière des hôtes par patch de ponte, seules les graines contenant 1 ou 2 hôtes sont sélectionnées (Bressac & Chevrier, 1998). Au bout de 18 jours, on obtient des larves de bruches de stade L₄ ou pré-nymphe (Gauthier, 1996). Les graines sont alors placées au réfrigérateur à 4°C pour stopper la croissance des larves et sont conservées au maximum pendant 7 jours.

2. Mise en ponte des femelles accouplées

Les femelles sont mises en ponte séparément dans un patch contenant 10 graines de niébé collées en cercle au fond du patch à l'aide de patafix (figure 21). Chaque graine contient une ou deux larves de *Callosobruchus maculatus* de 18 jours au stade larvaire L₄ (stade où l'intensité de ponte des parasitoïdes est importante (van den Assem *et al.*, 1984 ; Choi *et al.*, 2001)). D'autre part, en calibrant les hôtes, on évite une variation de la sex-ratio (Charnov, 1982). L'existence de bruches non parasitées qui parviennent au stade adulte montre que la ressource de ponte proposée n'est pas un facteur limitant pour les femelles. Les graines sont renouvelées chaque jour (10 graines par femelle par jour) et stockées dans des boîtes de Pétri sur lesquelles sont notés le numéro de la femelle et la date de ponte. Les femelles en ponte et les graines récupérées après chaque journée de ponte sont placées dans la chambre climatisée (33°C : 23°C).

A l'émergence, on enlève les bruches non parasitées qui sont parvenues au stade imago, puis on recense et on sexe les descendants de chaque femelle. Les résultats sont reportés sur des fiches de suivi quotidien jusqu'à la fin de la période étudiée.

Les paramètres mesurés sont (1) la quantité des descendants, (2) la sex-ratio calculée comme étant la proportion de descendants filles sur la descendance totale et (3) la paternité des descendants après une compétition entre deux mâles différents (figure 21).

3. Étude de la paternité des descendants

La relation entre le stock de spermatozoïdes dans les vésicules séminales et la paternité des descendants après accouplement double de la femelle avec deux mâles en compétition est testée selon le **principe de loterie**, « *the raffle* » proposé par Parker (1990) où :

$$P_2 = \frac{N_2}{N_1 + N_2} = \frac{rS_2}{S_1 + rS_2} \quad (\text{Équation 1})$$

Avec :

P_2 : la proportion de descendants du 2^e mâle

N : le nombre de descendants engendrés par chaque mâle

S : le nombre de spermatozoïdes transférés par chaque mâle

r : le coefficient du degré de biais de la loterie

Concernant la proportion des descendants du mâle R après une compétition avec un mâle W chez *Anisopteromalus calandrae*, cette équation est adaptée ici :

$$P_R = \frac{N_R}{N_R + N_W} = \frac{rS_R}{rS_R + S_W} \quad (\text{Équation 2})$$

Avec :

P_R : la proportion de descendants du mâle R en compétition avec un mâle W

N_R et N_W : le nombre de descendants engendrés par le mâle R et W respectivement

S_R et S_W : le nombre de spermatozoïdes dans les vésicules séminales du mâle R et W respectivement (en supposant que le nombre de spermatozoïdes transférés par chaque mâle est corrélé à son stock initial de spermatozoïdes)

r : le coefficient du degré de biais de la loterie. Dans une **loterie honnête**, « *fair raffle* », r est égal à **1** (Neff & Wahl, 2004). Les ratios de spermatozoïdes et de descendants seront présentés dans un graphe XY avec une courbe de tendance et une corrélation Spearman (coefficient R_s).

De la même manière, l'équation 2 peut aussi être adaptée pour le morphe W :

$$P_W = \frac{N_W}{N_W + N_R} = \frac{rS_W}{rS_W + S_R} \quad (\text{Équation 3})$$

De l'équation 2, nous avons l'équation suivante :

$$\frac{1}{P_R} = \frac{1}{r} x \frac{S_W}{S_R} + 1 \quad (\text{Équation 4})$$

Ainsi, le coefficient r est calculé de la manière suivante :

$$r = \frac{P_R}{P_W} x \frac{S_W}{S_R} \quad (\text{Équation 5})$$

4. Analyses statistiques des données

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard ($M \pm ES$). Les mêmes logiciels que précédemment (l'utilitaire d'analyse d'Excel, R 1.9.1 et StatBox© 2.5) sont utilisés pour les traitements statistiques. La signification retenue est toujours $p < 0,05$.

Pour la comparaison entre les nombres moyens quotidiens de descendants d'une femelle R après accouplements simples avec un mâle R ou W de 1 jour ou de 21 jours, une ANOVA à deux facteurs (morphe et âge) est utilisée.

Un test G est utilisé lors des comparaisons entre les ratios de descendants femelles engendrés par un mâle *vs* l'autre mâle (*vs* un taux théorique 0,5 : 0,5) après des accouplements doubles de la femelle en situation de compétition entre deux mâles.

A l'aide d'un test exact de Fisher, les comparaisons entre les sex-ratios ou entre les proportions indépendants sont effectuées. Un test-t Student bilatéral est utilisé lors de la comparaison entre deux nombres moyens de descendants.

Tableau 12 : Nombre moyen quotidien de descendants produits par femelle après un accouplement simple des mâles vierges du morphe rouge ou sauvage de 1 jour et de 21 jours. Les comparaisons entre les nombres de descendants sont effectuées par une ANOVA à deux facteurs.

7 jours de ponte		Nombre moyen de descendants par femelle et par jour	
Combinaison Mâle		♂R x ♀R	♂W x ♀R
	♂v1j	7,3 ± 1,3 (n=18)	7,3 ± 1,1 (n=18)
		Sex-ratio= 0,74	Sex-ratio= 0,80
♂v21j	10,4 ± 1,4 (n=10)	14,7 ± 0,3 (n=10)	
		Sex-ratio= 0,72	Sex-ratio= 0,82
Test de comparaison			
	ANOVA	ddl	P
Morphe	F=8,7	1	< 0,05
Age	F=23,1	1	< 0,001
Morphe - âge	F=1,3	1	< 0,05

C - RÉSULTATS

1. Descendance issue d'un accouplement simple

1.1 Descendance des mâles vierges de 1 jour

L'étude de la descendance des mâles de 1 jour du morphe R ou W après un accouplement avec une femelle R est effectuée. La mise en ponte de ces femelles accouplées ainsi que le suivi des descendants sont réalisés dans l'étuve climatisée (33°C : 23°C) comme décrit précédemment. On arrête le suivi des descendants lorsque moins de 25 % des femelles restent en vie, ce qui correspond au 23^e jour de ponte dans nos conditions expérimentales, afin d'éviter les biais dus aux petits effectifs dans le calcul des moyennes.

Les femelles R donnent des descendants mâles R et des descendants femelles dont la couleur des yeux est celle de leur père. La sex-ratio de la descendance totale n'est pas significativement différente entre les deux combinaisons (test exact de Fisher, ddl=1 p=0,21).

Lorsqu'on observe la descendance des 7 premiers jours de ponte pour les deux combinaisons, leur sex-ratio est similaire (test exact de Fisher, ddl=1 p=0,15). En moyenne, nous obtenons autant de descendants produits par femelle et par jour durant ces 7 jours de ponte entre les combinaisons [σ^{Rv1j} x ♀R] et [σ^{Wv1j} x ♀R] (tableau 12).

1.2 Descendance des mâles vierges de 21 jours

Les femelles R accouplées une fois avec un mâle de 21 jours du morphe R ou W sont mises en ponte comme décrit précédemment. Les paramètres mesurés sont la quantité et la sex-ratio de la descendance des mâles de 21 jours.

La sex-ratio de la descendance obtenue dans la période étudiée n'est pas significativement différente entre la combinaison [σ^{Rv21j} x ♀R] et [σ^{Wv21j} x ♀R] (test exact de Fisher, ddl=1 p=0,13).

Le nombre moyen de descendants produits par femelle par jour durant ces 7 jours est différent entre les combinaisons [σ^{Rv21j} x ♀R] et [σ^{Wv21j} x ♀R] (tableau 12). En

effet, après un accouplement simple avec un mâle vierge R de 21 jours, une femelle R produit significativement moins de descendants que celle accouplée avec un mâle vierge W de 21 jours.

1.3 Comparaison entre la descendance issue d'un accouplement simple des mâles vierges de 1 jour et de 21 jours

Après un accouplement simple d'un mâle vierge de 1 jour ou de 21 jours, la sex-ratio de la descendance produite est biaisée en faveur des descendants femelles et elle n'est pas significativement différente dans les deux cas (test exact de Fisher, ddl=1 $p=0,35$).

Au total, les mâles vierges R de 21 jours n'ont pas significativement plus de descendants que les mâles vierges de 1 jour dans les deux morphes (tableau 12).

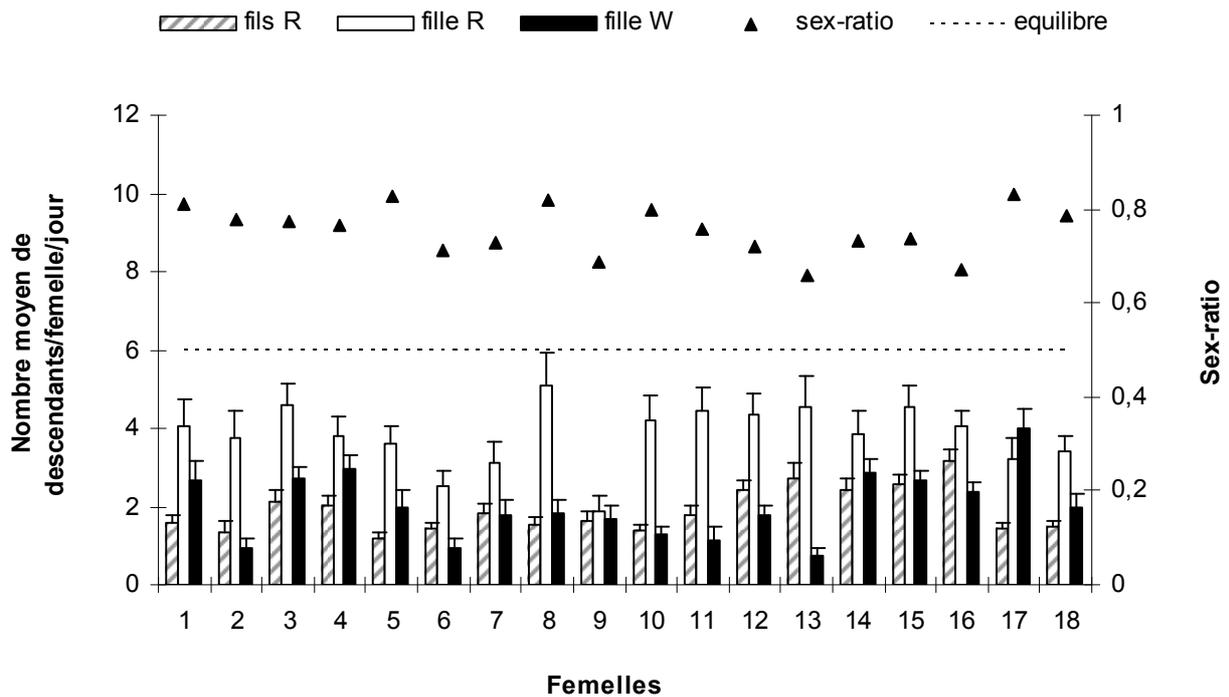


Figure 22 : Nombre moyen quotidien de descendants et sex-ratio de la descendance de femelles R (n=18) qui se sont accouplées avec deux mâles vierges de 1 jour de morphes différents : un R en premier et un W en second. La période étudiée dure 23 jours. Les histogrammes représentent le nombre moyen de descendants ; les barres verticales représentent l'erreur standard ; les triangles, la sex-ratio de la descendance et les pointillés, la sex-ratio à l'équilibre.

2. Descendance issue d'une compétition entre deux mâles vierges de morphes différents

2.1 Descendance d'une femelle rouge (R) accouplée deux fois avec deux mâles vierges de 1 jour en situation de compétition

Cette expérience concerne la mise en ponte des **femelles R accouplées deux fois avec deux mâles vierges de 1 jour de morphes différents (un R et un W)** dans les deux combinaisons d'accouplements (♂Rv1j en premier, n=18 et ♂Wv1j en premier, n=17). L'expérimentation s'arrête quand moins de 25 % des femelle restent en vie, *ie* 23 jours, pour éviter le biais dû aux petits effectifs dans le calcul des moyennes. Nous effectuons le suivi des descendants et l'identification de leur paternité. La sex-ratio de la descendance totale est calculée comme décrite antérieurement.

a) Descendance par femelle

Sur la figure 22 est représentée la descendance moyenne des femelles R accouplées d'abord avec un mâle vierge R de 1 jour et ensuite avec un mâle vierge W de 1 jour. Dans cette situation expérimentale, toutes les femelles R étudiées donnent des descendants mâles R et les deux catégories de descendants femelles durant la période étudiée.

La plupart des femelles accouplées avec deux mâles vierges de morphes différents de 1 jour produisent significativement plus de descendants femelles R que de descendants femelles W, donc plus de descendants femelles du mâle vierge R que du mâle vierge W. La sex-ratio de la descendance pour chaque femelle est biaisée en faveur des descendants femelles.

Quand le mâle W s'accouple en premier, nous obtenons le même profil de descendance avec toujours plus de descendants femelles R que de descendants femelles W produits pour chaque femelle.

Tableau 13 : Nombres moyens de descendants produits durant 7 jours ou 23 jours de ponte dans nos conditions expérimentales par une femelle R (n=35) qui s'est accouplée deux fois avec deux mâles vierges de 1 jour de morphes différents : un R en premier et un W en second (R1j-W1j) et vice versa (W1j-R1j). Le test-t Student bilatéral concerne la comparaison entre les moyennes, les tests G entre les proportions dépendantes et les tests exacts de Fisher entre les proportions indépendantes.

		Descendance totale	Sex-ratio	Ratio de ♀R	Ratio de ♀W	Comparaison ♀R vs ♀W
Femelle R	R1j-W1j (n=18)	56,4 ± 1,9	0,78 ± 0,01	0,53 ± 0,02	0,26 ± 0,02	G=102,4 ddl=1 p < 0,001
	W1j-R1j (n=17)	53,4 ± 2,3	0,80 ± 0,00	0,45 ± 0,03	0,34 ± 0,03	G=14,0 ddl=1 p < 0,001
		t=1,0, ddl=33 p=0,33	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,42	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,02	Test exact de Fisher, ddl=1 p < 0,01	
Femelle R	R1j-W1j (n=18)	149,2 ± 13,3	0,76 ± 0,01	0,49 ± 0,02	0,26 ± 0,02	G=186,8 ddl=1 p < 0,001
	W1j-R1j (n=17)	112,3 ± 11,8	0,76 ± 0,01	0,45 ± 0,02	0,31 ± 0,02	G=50,1 ddl=1 p < 0,001
		t=2,0 ddl=33 p=0,05	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,33	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,04	Test exact de Fisher, ddl=1 p < 0,01	

b) Descendance sur les 7 premiers jours de ponte

En ce qui concerne les 7 premiers jours de ponte de ces femelles R accouplées avec deux mâles vierges de morphes différents de 1 jour, la sex-ratio est aussi fortement biaisée en faveur des descendants femelles pour les deux combinaisons d'accouplements et elles ne sont pas significativement différentes (tableau 13). Chaque femelle produit également significativement plus de descendants femelles R que de descendants femelles W dans les deux combinaisons d'accouplements. Lorsque le mâle R est en premier, il y a 2,0 fois plus de descendants femelles R que de descendants femelles W produits et 1,3 fois plus de descendants femelles R quand le mâle W est en première position (tableau 13). La différence est significative entre les deux combinaisons tant pour les proportions de descendants femelles R que pour les proportions de descendants femelles W (tableau 13).

c) Descendance sur la durée totale de ponte

Les descendance des deux combinaisons d'accouplements doubles avec deux mâles vierges de 1 jour de morphes différents (♂Rv1j en premier ou ♂Wv1j en premier) sont présentées dans le tableau 13. Ni les nombres moyens de descendants ni les sex-ratios ne sont significativement différents entre ces deux combinaisons d'accouplements (tableau 13). La sex-ratio est biaisée en faveur des descendants femelles durant la période étudiée. Il y a significativement plus de descendants femelles R produits que de descendants femelles W dans les deux combinaisons d'accouplement : mâle R en premier (1,88 fois plus ; tableau 13) ou mâle W en premier (1,45 fois plus ; tableau 13). Les proportions de descendants femelles R sont différentes entre les deux combinaisons, ainsi que les proportions des descendants femelles W (tableau 13).

Tableau 14 : Nombres moyens de descendants produits (1) par une femelle W durant 3 jours de ponte (5^e au 7^e jour) (n=38) ou (2) par une femelle hétérozygote durant 7 jours de ponte (n=36), qui se sont chacune accouplée deux fois avec deux mâles vierges de 1 jour de morphes différents : un R en premier et un W en second (R1j-W1j) et vice versa (W1j-R1j) ;. Le test-t Student bilatéral concerne la comparaison entre les moyennes, les tests G entre les proportions dépendantes et les tests exacts de Fisher entre les proportions indépendantes.

		Descendance totale	Sex-ratio	Ratio de ♀R	Ratio de ♀W	Comparaison ♀R vs ♀W
Femelle W	R1j-W1j (n=18)	32,7 ± 2,0	0,82 ± 0,01	0,52 ± 0,06	0,25 ± 0,02	G=45,4 ddl=1 p <0,001
	W1j-R1j (n=20)	36,1 ± 2,2	0,81 ± 0,02	0,48 ± 0,07	0,27 ± 0,02	G=30,9 ddl=1 p <0,001
		t=-0,7 ddl=36 p=0,52	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,42	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,33	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,26	
Femelle hétérozygote	R1j-W1j (n=18)	51,2 ± 5,1	0,69 ± 0,06	0,38 ± 0,04	0,31 ± 0,05	G=8,5 ddl=1 p <0,05
	W1j-R1j (n=18)	55,9 ± 4,7	0,77 ± 0,03	0,55 ± 0,10	0,39 ± 0,05	G=46,7 ddl=1 p <0,001
		t=-0,6 ddl=34 p=0,52	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,21	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,11	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,10	

2.2 Descendance d'une femelle sauvage (W) accouplée deux fois avec deux mâles vierges de 1 jour en situation de compétition

Chez les femelles W accouplées deux fois avec deux mâles vierges de 1 jour de morphes différents, la quantification des descendants en F₁ et de la sex-ratio a été réalisée. Par la suite, l'identification de la paternité des descendants femelles a été effectuée comme décrite antérieurement (*cf.* Outils expérimentaux).

La descendance dans les deux combinaisons d'accouplements doubles chez les femelles W (♂Rv1j en premier ou ♂Wv1j en premier) est présentée dans le tableau 14. Pour toute la période étudiée (7 jours), les sex-ratios de la descendance sont variés entre 0,81 et 0,82 biaisés en faveur des descendants femelles. Au cours du 5^e, 6^e et 7^e jour de ponte, la présence des descendants femelles hétérozygotes (Aa) et des descendants femelles W a mis en évidence l'existence des accouplements doubles chez les femelles W. La proportion des descendants femelles hétérozygotes (Aa) produites (du père R) est significativement plus grande que celle des descendants femelles W (du père W) dans les deux combinaisons d'accouplements (♂Rv1j en premier ou ♂Wv1j en premier, tableau 14). Cependant, dans les deux cas, il n'y a ni différence significative pour les proportions de descendants femelles W ou hétérozygotes, ni pour les sex-ratios (tableau 14).

2.3 Descendance d'une femelle hétérozygote (Aa) accouplée deux fois avec deux mâles vierges de 1 jour en situation de compétition

Les femelles hétérozygotes (Aa) accouplées deux fois avec des mâles vierges de 1 jour de morphes différents dans les deux combinaisons d'accouplements (♂Rv1j en premier ou ♂Wv1j en premier) ont été mises en ponte. Le nombre de descendants et la sex-ratio ont été quantifiés. La paternité des descendants femelles en F₁ a été identifiée comme décrit précédemment (*cf.* Outils expérimentaux). Parmi les deux types de descendants femelles produits, il y a significativement plus de descendants du mâle R que du mâle W dans les deux combinaisons d'accouplements (♂Rv1j en premier ou ♂Wv1j en premier, tableau 14). Les sex-ratios biaisés en faveur des descendants femelles dans les deux combinaisons ne sont pas significativement différentes entre elles (tableau 14). Les proportions de descendants femelles R sont similaires dans les deux combinaisons, ainsi que les proportions de descendants femelles W (tableau 14).

3. Descendance issue d'une compétition entre deux mâles vierges d'âges différents

Nous avons étudié deux situations de compétition entre les mâles vierges des deux morphes ayant des âges différents pour l'accès à une femelle R. (1) La première situation a porté sur **la compétition entre un mâle vierge R de 21 jours et un mâle vierge W de 1 jour**. Les femelles R accouplées avec les deux mâles (n=37) ont été mises en ponte pour les deux combinaisons d'accouplements (♂Rv21j en premier, n=19 ou ♂Wv1j en premier, n=18). (2) La deuxième situation a concerné le cas inverse : **compétition entre un mâle vierge W de 21 jours et un mâle vierge R de 1 jour**. Dans ce dernier cas, 40 femelles R accouplées avec les deux mâles ont été mises en ponte pour les deux combinaisons d'accouplement (♂Wv21j en premier, n=20 ou ♂Rv1j en premier, n=20).

Les paramètres mesurés ont été la **quantité totale**, la **sex-ratio** et la **paternité des descendants** lors de ces compétitions entre deux mâles vierges d'âges différents.

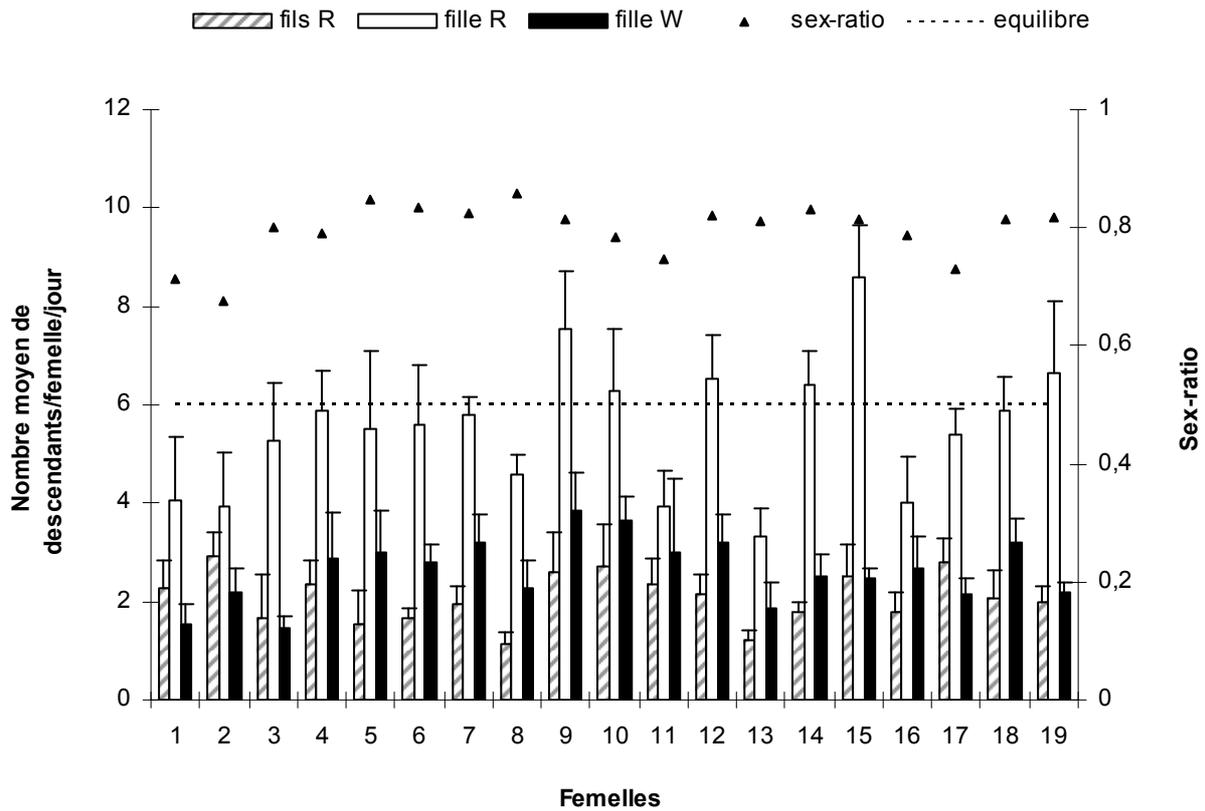


Figure 23 : Nombre moyen quotidien de descendants et sex-ratio de la descendance durant 7 jours de ponte de femelles R (n=19) qui se sont accouplées avec deux mâles vierges d'âges différents : un R de 21 jours en premier et un W de 1 jour en second. Les histogrammes représentent le nombre moyen de descendants ; les barres verticales représentent l'erreur standard ; les triangles, la sex-ratio de la descendance et les pointillés, la sex-ratio à l'équilibre.

3.1 Descendance d'une femelle accouplée deux fois avec un mâle vierge R de 21 jours et un mâle vierge W de 1 jour en situation de compétition

Quotidiennement, les femelles R donnent des descendants de chaque catégorie. Les résultats bruts montrent que les femelles produisent chaque jour significativement plus de descendants femelles du mâle vierge R de 21 jours dans les deux combinaisons d'accouplements : ♂Rv21j en premier (test-t, $t=3,5$ ddl=8 $P<0,05$) ou ♂Wv1j en premier (test-t, $t=2,6$ ddl=8 $P<0,05$). Globalement, chaque femelle donne des descendants femelles R et W, ce qui montre bien que les femelles ont reçu et stocké des spermatozoïdes des deux mâles.

Pour la première combinaison d'accouplement : mâle vierge R de 21 jours en premier et mâle vierge W de 1 jour en second, le nombre moyen de descendants produits par jour et par femelle est présenté figure 23. Sur cette figure se trouve également la sex-ratio moyenne de chaque femelle durant la période étudiée. Chacune des femelles produit significativement plus de descendants femelles du mâle vierge R de 21 jours que du mâle vierge W de 1 jour (test-t, $t=8,5$ ddl=36 $P<0,001$). Pour toutes les femelles observées, la sex-ratio moyenne reste toujours en faveur des descendants femelles et la descendance moyenne est de $9,2 \pm 0,4$ descendants par femelle et par jour.

Pour la deuxième combinaison d'accouplement, lorsque le mâle vierge W de 1 jour s'accouple en premier, le même profil de résultats est observé : chaque femelle produit plus de descendants femelles R que de descendants femelles W (test-t $t=7,9$ ddl=34 $P<0,001$).

La descendance des deux combinaisons d'accouplements (♂Rv21j en premier ou ♂Wv1j en premier) est présentée dans le tableau 15. Quel que soit l'ordre des accouplements, le nombre moyen de descendants produits et la sex-ratio sont les mêmes. Cependant, le nombre de descendants femelles R produits (du mâle R de 21 jours) est 2 fois plus important que celui de descendants femelles W (tableau 15).

Tableau 15 : Nombres moyens de descendants produits durant 7 jours de ponte dans nos conditions expérimentales par une femelle R (n=37) qui s'est accouplée deux fois avec deux mâles vierges d'âges différents : un R de 21 jours en premier et un W de 1 jour en second (R21j-W1j) et vice versa (W1j-R21j). Le test-t Student bilatéral concerne la comparaison entre les moyennes, les tests G entre les proportions dépendantes et les tests exacts de Fisher entre les proportions indépendantes.

Femelle R 7 jours de ponte	Descendance totale	Sex-ratio	Ratio de ♀R	Ratio de ♀W	Comparaison ♀R vs ♀W
R21j-W1j (n=19)	64,2 ± 2,9	0,79 ± 0,01	0,54 ± 0,01	0,26 ± 0,01	G=9,0 ddl=1 p < 0,01
W1j-R21j (n=18)	58,7 ± 2,7	0,79 ± 0,01	0,53 ± 0,01	0,26 ± 0,01	G=10,1 ddl=1 p < 0,01
Test de comparaison	t=1,39 ddl=35 p=0,17	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,49	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,43	Test exact de Fisher, ddl=1 p < 0,39	

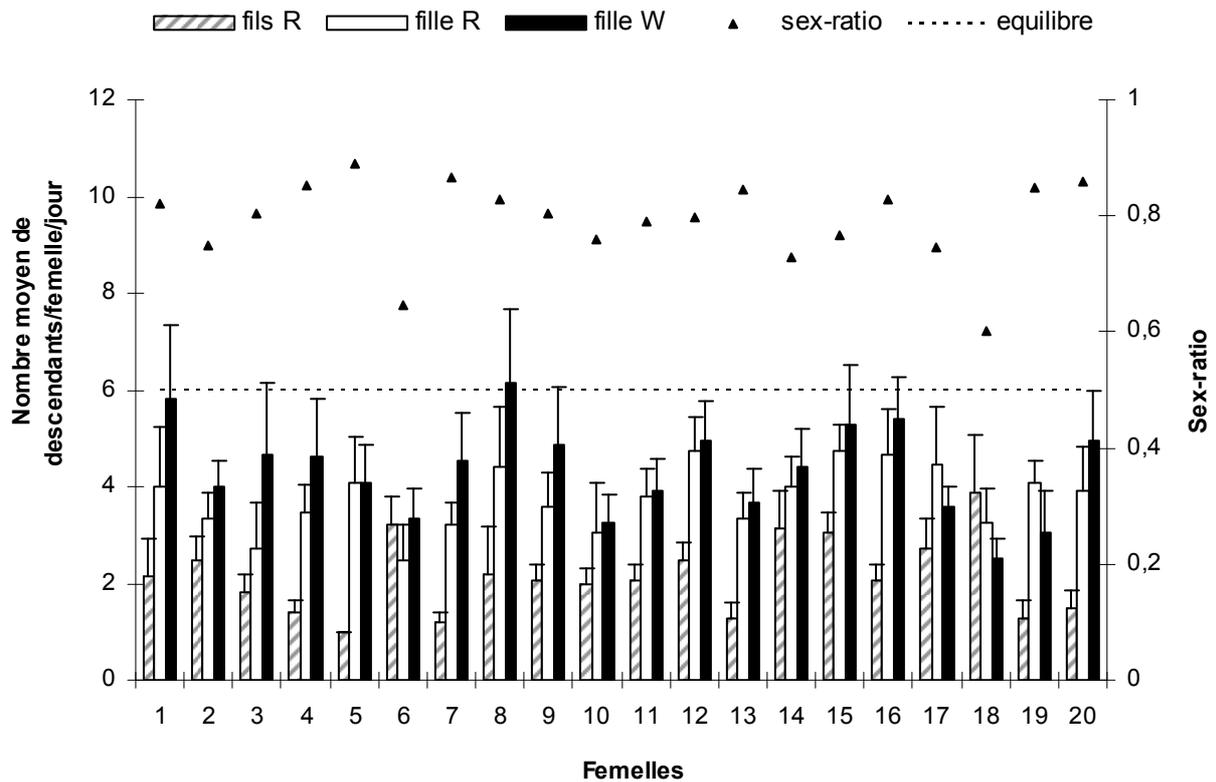


Figure 24 : Nombre moyen quotidien de descendants et sex-ratio de la descendance durant 7 jours de ponte de femelles R (n=20) qui se sont accouplées deux fois avec deux mâles vierges d'âges différents : un W de 21 jours en premier et un R de 1 jour en second. Les histogrammes représentent le nombre moyen de descendants ; les barres verticales représentent l'erreur standard ; les triangles, la sex-ratio de la descendance et les pointillés, la sex-ratio à l'équilibre.

3.2 Descendance d'une femelle accouplée deux fois avec un mâle vierge W de 21 jours et un mâle vierge R de 1 jour en situation de compétition

Dans cette étude, les descendants de chaque catégorie sont produits quotidiennement par une femelle R. La présence des deux types de descendants femelles montre également que les spermatozoïdes des deux mâles sont utilisés.

Concernant la première combinaison d'accouplement, la descendance moyenne de chaque femelle R accouplée d'abord avec un mâle W de 21 jours et ensuite avec un mâle R de 1 jour est présentée dans la figure 24. Sur cette figure se trouve également la sex-ratio moyenne de la descendance. La descendance moyenne est de $9,2 \pm 0,3$ descendants par femelle et par jour. La sex-ratio moyenne reste toujours en faveur des descendants femelles.

Pour la combinaison d'accouplement inverse, lorsque le mâle R de 1 jour s'est accouplé en premier, nous obtenons le même profil de descendance (quantité et sex-ratio). Cependant, la différence entre le nombre de descendants femelles R et W produits par chaque femelle n'est pas significative (test-t, $t=-1,9$ ddl=38 $p>0,05$).

Le nombre moyen de descendants sur la durée de ponte et la sex-ratio sont similaires dans les deux combinaisons d'accouplements (♂Wv21j en premier ou ♂Rv1j en premier). Néanmoins, les descendants femelles W produits (du mâle vierge W de 21 jours) sont 1,2 fois plus nombreux que les descendants femelles R (tableau 16).

Tableau 16 : Nombre moyen de descendants et sex-ratio de la descendance durant 7 jours de ponte par une femelle R (n=40) qui s'est accouplée deux fois avec deux mâles vierges d'âges différents : un W de 21 jours en premier et un R de 1 jour en second (W21j-R1j) et vice versa (R1j-W21j). Le test-t Student bilatéral concerne la comparaison entre les moyennes, les tests G entre les proportions dépendantes et les tests exacts de Fisher entre les proportions indépendantes.

Femelle R 7 jours de ponte	Descendance totale	Sex-ratio	Ratio de ♀R	Ratio de ♀W	Comparaison ♀R vs ♀W
W21j-R1j (n=20)	64,4 ± 2,4	0,78 ± 0,01	0,35 ± 0,01	0,43 ± 0,01	G=341,3 ddl=1 p <0,001
R1j-W21j (n=20)	58,8 ± 3,8	0,78 ± 0,01	0,35 ± 0,01	0,43 ± 0,01	G=361,9 ddl=1 p <0,001
Test de comparaison	t=-1,28 ddl=38 p=0,21	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,48	Test exact de Fisher, ddl=1 p=1,0	Test exact de Fisher, ddl=1 p=1,0	

3.3 Tableau récapitulatif pour la descendance issue de la compétition entre un mâle vierge de 21 jours et un mâle vierge de 1 jour

Dans le tableau 17 est présentée la descendance des femelles R accouplées deux fois avec deux mâles vierges d'âges différents et de morphes différents en situation de compétition.

Tableau 17 : Nombre moyen de descendants et sex-ratio de la descendance durant 7 jours de ponte par une femelle R qui s'est accouplée deux fois avec deux mâles vierges de morphes différents ayant des âges différents en situation de compétition (R21j vs W1j ou W21j vs R1j). Les test-t bilatéraux concernent les comparaisons entre les moyennes du nombre de descendants femelles R et W produits.

Femelle R 7 jours de ponte	♂R	♀R	♀W	♀R vs ♀W
R21j vs W1j (n=37)	12,5 ± 0,7	0,67 ± 0,01	0,33 ± 0,01	G=222,8 ddl=1, p<0,001
W21j vs R1j (n=40)	13,2 ± 0,9	0,45 ± 0,02	0,55 ± 0,02	G=19,1 ddl=1 p< 0,001

Après des accouplements doubles de la femelle *Anisopteromalus calandrae*, ces résultats montrent qu'en situation de compétition entre deux mâles vierges d'âges différents (21 jours et 1 jour par exemple), c'est le mâle vierge de 21 jours qui est le plus représenté dans la descendance quel que soit le morphe du mâle et la combinaison d'accouplement.

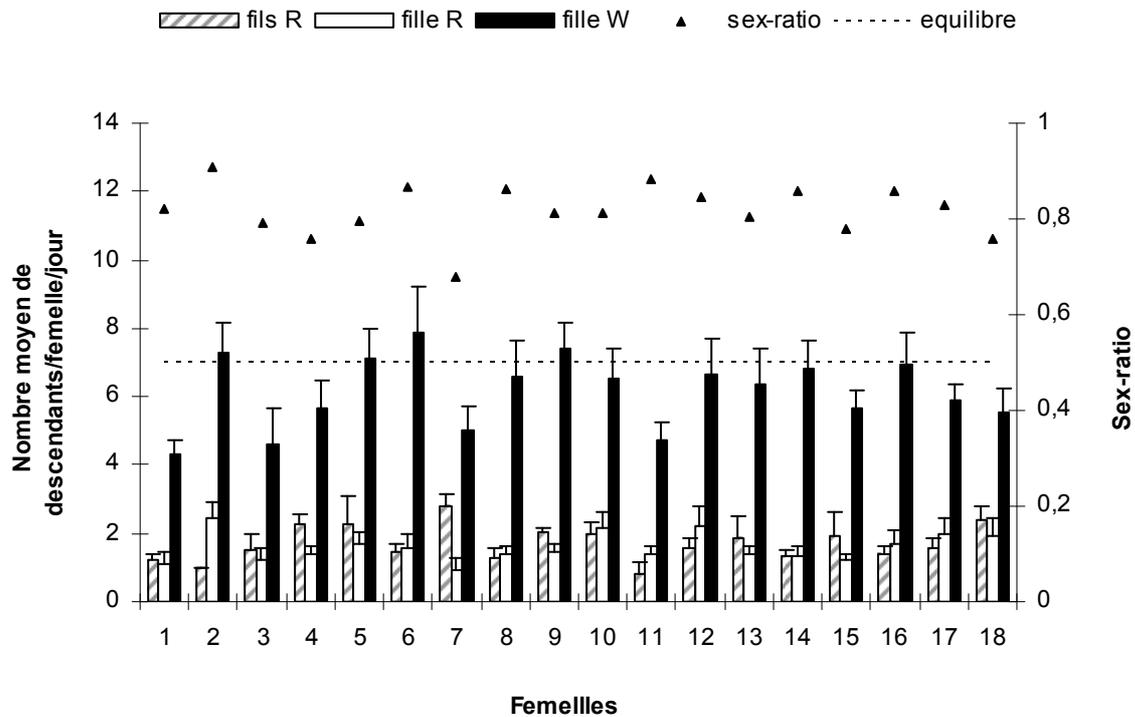


Figure 25 : Nombre moyen quotidien de descendants et sex-ratio de la descendance de femelles R (n=18) qui se sont accouplées avec deux mâles de 1 jour ayant des expériences sexuelles différentes : un mâle R expérimenté en premier et un mâle vierge W en second. Les histogrammes représentent le nombre moyen de descendants ; les barres verticales représentent l'erreur standard ; les triangles, la sex-ratio de la descendance et les pointillés, la sex-ratio à l'équilibre.

4. Descendance issue d'une compétition entre deux mâles ayant des expériences sexuelles différentes

L'étude des descendants des femelles accouplées deux fois avec deux mâles de morphes différents ayant des expériences sexuelles différentes est réalisée comme décrite précédemment. (1) La première situation a porté sur **la compétition entre un mâle R expérimenté de 1 jour et un mâle vierge W de 1 jour**. La mise en ponte des femelles R accouplées avec les deux mâles (n=36) pour les deux combinaisons d'accouplements (♂Rexp en premier, n=18 ou ♂Wv en premier, n=18) a été réalisée. (2) La deuxième situation a concerné **la compétition entre mâle vierge R de 1 jour et un mâle vierge W expérimenté du même âge**. Dans ce dernier cas, l'étude de la descendance a également été effectuée pour les deux combinaisons d'accouplement (♂Wexp en premier, n=18 ou ♂Rv en premier, n=18).

Les paramètres mesurés dans l'étude des descendants après une compétition entre deux mâles de 1 jour ayant des expériences sexuelles différentes ont également été **la quantité totale, la sex-ratio et la paternité des descendants**.

4.1 Descendance d'une femelle accouplée deux fois avec un mâle R expérimenté et un mâle vierge W en situation de compétition

Quotidiennement, les femelles produisent des descendants de chaque catégorie, mais plus de descendants femelles W que de descendants femelles R dans les deux combinaisons : ♂Rexp en premier (test-t $t=4,4$ ddl=8 $p<0,05$) ou ♂Wv en premier (test-t $t=-4,1$ ddl=8 $p<0,05$). Sur la figure 25 est présentée la descendance moyenne de chaque femelle et la sex-ratio. La sex-ratio est toujours biaisée en faveur des descendants femelles. Dans la première combinaison d'accouplement, lorsque le mâle R expérimenté s'est accouplé en premier, significativement plus de descendants femelles W que de descendants femelles R sont produits (test-t $t=-21,7$ ddl=34 $p<0,001$). La descendance moyenne est de $8,8 \pm 0,2$ descendants par femelle par jour, dont $7,1 \pm 0,2$ descendants femelles. Quant à la seconde combinaison d'accouplement, quand le mâle W vierge de 1 jour est en première position, on obtient le même profil de descendants avec toujours plus de descendants du mâle vierge W de 1 jour que du mâle R expérimenté.

La descendance totale issue de la compétition entre un mâle R expérimenté et un mâle vierge W du même âge est présentée dans le tableau 18. Le nombre de descendants femelles W produits est environ 4 fois plus important que celui de descendants femelles R. La descendance totale et la sex-ratio sont les mêmes dans les deux combinaisons d'accouplements (mâle R expérimenté en premier ou mâle W vierge en premier).

Tableau 18 : Nombre moyen de descendants produits durant 7 jours de ponte de femelles R (n=36) qui se sont accouplées avec deux mâles de 1 jour ayant des expériences sexuelles différentes : un mâle R expérimenté en premier et un mâle vierge W en second (Rxp-Wv) et vice versa (Wv-Rxp). Le test-t Student bilatéral concerne la comparaison entre les moyennes, les tests G entre les proportions dépendantes et les tests exacts de Fisher entre les proportions indépendantes.

Femelle R 7 jours de ponte	Descendance totale	Sex-ratio	Ratio de ♀R	Ratio de ♀W	Comparaison ♀R vs ♀W
Rxp-Wv (n=18)	61,3 ± 1,7	0,81 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,67 ± 0,01	G=341,3 ddl=1 p <0,001
Wv-Rxp (n=18)	61,7 ± 1,7	0,81 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,65 ± 0,01	G=361,9 ddl=1 p <0,001
Test de comparaison	t=0,16 ddl=34 p=0,88	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,48	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,39	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,39	

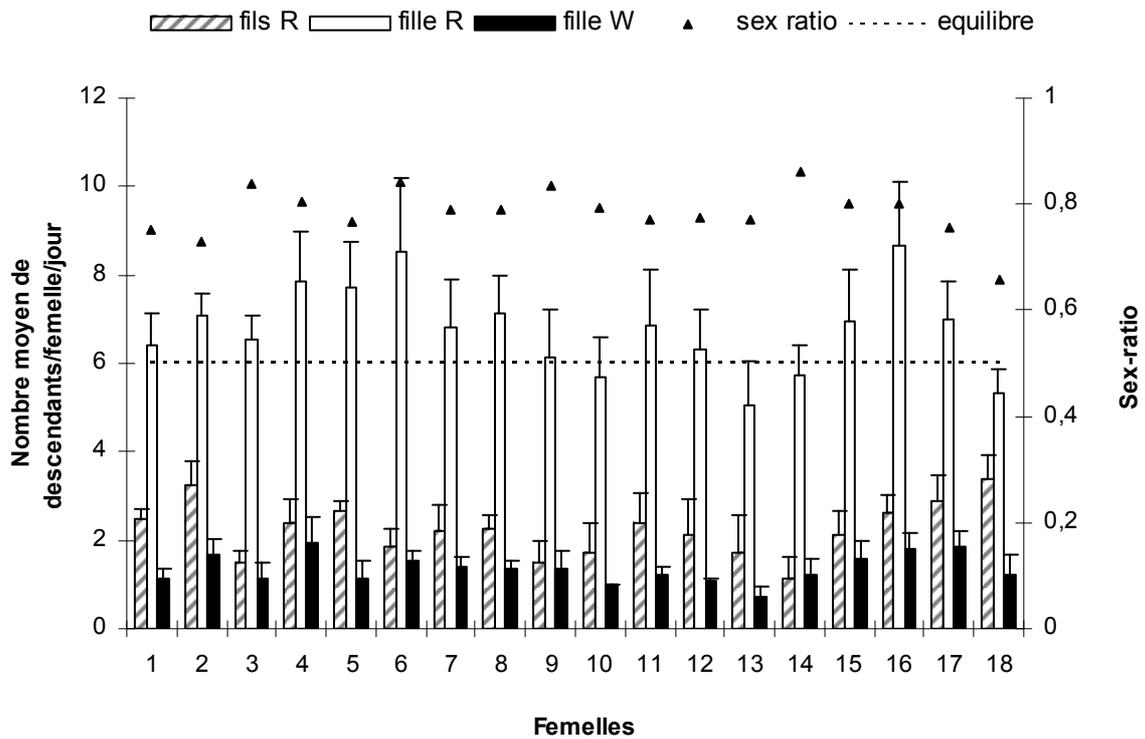


Figure 26 : Nombre moyen quotidien de descendants et sex-ratio de la descendance de femelles R (n=18) qui se sont accouplées avec deux mâles de 1 jour ayant des expériences sexuelles différentes : un mâle W expérimenté en premier et un mâle vierge R en second. Les histogrammes représentent le nombre moyen de descendants ; les barres verticales représentent l'erreur standard ; les triangles, la sex-ratio de la descendance et les pointillés, la sex-ratio à l'équilibre.

4.2 Descendance d'une femelle accouplée deux fois avec un mâle W expérimenté et un mâle vierge R en situation de compétition

La descendance moyenne individualisée de chaque femelle R est présentée sur la figure 26. Les femelles donnent quotidiennement des descendants de chaque catégorie. Lorsque le mâle W expérimenté s'accouple en premier, chaque femelle produit significativement plus de descendants femelles R que de descendants femelles W (test-t $t=25,3$ $ddl=34$ $P<0,001$). La descendance moyenne est de $9,5 \pm 0,3$ descendants par femelle et par jour, dont $7,4 \pm 0,2$ descendants femelles.

Le même profil de descendance est observé pour les femelles R accouplées d'abord avec un mâle R vierge et ensuite avec un mâle W expérimenté. La sex-ratio reste également biaisée en faveur des descendants femelles.

La descendance totale des femelles accouplées deux fois avec un mâle W expérimenté et un mâle R vierge est présentée dans le tableau 19. Les femelles produisent environ 5 fois plus de descendants femelles R que de descendants femelles W.

Tableau 19 : Nombre moyen de descendants et sex-ratio de la descendance de femelles R (n=36) qui se sont accouplées avec deux mâles de 1 jour ayant des expériences sexuelles différentes : un mâle W expérimenté en premier et un mâle vierge R en second (Wexp-Rv) et vice versa (Rv-Wexp). Le test-t Student bilatéral concerne la comparaison entre les moyennes, les tests G entre les proportions dépendantes et les tests exacts de Fisher entre les proportions indépendantes.

Femelle R 7 jours de ponte	Descendance totale	Sex-ratio	Ratio de ♀R	Ratio de ♀W	Comparaison ♀R vs ♀W
Wexp-Rv (n=18)	$67,9 \pm 2,0$	$0,78 \pm 0,01$	$0,65 \pm 0,01$	$0,13 \pm 0,01$	G=421,9 ddl=1 p <0,001
Rv-Wexp (n=18)	$67,9 \pm 2,0$	$0,78 \pm 0,01$	$0,64 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,01$	G=466,1 ddl=1 p <0,001
Test de comparaison	t=-0,41 ddl=34 p=0,68	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,46	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,44	Test exact de Fisher, ddl=1 p=0,32	

4.3 Tableau récapitulatif pour la descendance issue d'une compétition entre un mâle expérimenté et un mâle vierge

Dans le tableau 20 est présentée la descendance totale des femelles R accouplées deux fois avec deux mâles de morphes différents ayant des expériences sexuelles différentes en situation de compétition. Ces résultats chez *Anisopteromalus calandrae* montrent qu'en situation de compétition entre deux mâles de 1 jour ayant des expériences sexuelles différentes (vierge et sexuellement expérimenté), c'est toujours le mâle vierge qui est le plus représenté dans la descendance quels que soient le morphe du mâle et la combinaison d'accouplement.

Tableau 20 : Nombre moyen de descendants produits durant 7 jours de ponte dans nos conditions expérimentales par une femelle R qui s'est accouplée deux fois avec deux mâles de 1 jour de morphes différents ayant des expériences sexuelles différentes en situation de compétition (Rexp vs Wv ou Wexp vs Rv). Les test-t bilatéraux concernent les comparaisons entre les moyennes du nombre de descendants femelles R et W produites.

Femelle R 7 jours de ponte	♂R	♀R	♀W	♀R vs ♀W
Rexp vs Wv (n=36)	11,8 ± 0,8	0,20 ± 0,01	0,80 ± 0,01	G=703,0, ddl=1 p<0,001
Wexp vs Rv (n=36)	15,0 ± 0,8	0,83 ± 0,01	0,17 ± 0,01	G=887,5 ddl=1 p<0,001

5. Bilan des résultats concernant la descendance issue d'une compétition entre deux mâles

Dans le tableau 21 sont présentés tous les résultats obtenus chez *Anisopteromalus calandrae* dans l'étude de la descendance issue d'une compétition entre deux mâles différents par leur phénotype et leurs traits d'histoire de vie (âge et expérience sexuelle). Dans tous les cas, la sex-ratio est biaisée en faveur des descendants femelles.

Tableau 21 : Nombre moyen de descendants et sex-ratio de la descendance durant 7 jours de ponte de femelles R qui se sont accouplées avec deux mâles différents en situation de compétition. Les deux mâles en compétition sont différents par leur morphe, leur âge ou leur expérience sexuelle.

Différence entre mâles	Combinaison d'accouplement	Nombre de spermatozoïdes	♂R	♀R	♀W	Sex-ratio
Morphe	R1j vs W1j (n=35)	R1j 4545,2 ± 188,8	11,5 ± 0,8	27,1 ± 1,9	16,2 ± 1,5	0,79
		W1j 3115,7 ± 201,7				
Âge	R21j vs W1j (n=37)	R21j 8497,7 ± 258,6	12,5 ± 0,7	33,0 ± 1,9	16,0 ± 0,9	0,79
	R1j vs W21j (n=40)	W21j 5576,7 ± 196,5	13,2 ± 0,9	21,8 ± 1,4	26,6 ± 1,6	0,79
Expérience sexuelle	Rexp vs Wv (n=36)	Rexp 800,1 ± 60,7	11,8 ± 0,8	9,8 ± 0,6	39,9 ± 1,3	0,82
	Rv vs Wexp (n=36)	Wexp 779,4 ± 44,3	15,0 ± 0,8	43,4 ± 1,4	8,9 ± 0,5	0,79

En résumé, lorsqu'une femelle *Anisopteromalus calandrae* s'est accouplée avec deux mâles différents en situation de **compétition** c'est le mâle qui a le **plus de spermatozoïdes disponibles** au moment de l'accouplement qui est le **plus représenté** dans la descendance. Ce résultat est obtenu quels que soient le **morphe** du mâle (R ou W), l'**âge** du mâle (1 jour ou 21 jours), l'**expérience sexuelle** du mâle (vierge ou accouplé) et quelle que soit la **combinaison d'accouplement**.

D - DISCUSSION

1. Descendance issue d'un accouplement simple

Chez *Anisopteromalus calandrae*, après un accouplement simple des **mâles vierges de 1 jour de morphes différents** (rouge ou sauvage), nous obtenons la même **quantité de descendants** et la même **sex-ratio** quel que soit le morphe du mâle. Ainsi, les mâles permettent à la femelle d'avoir une **descendance similaire** dans les deux morphes. Ceci élimine des biais au niveau de la sex-ratio et de la quantité des descendants dans l'utilisation des morphes différents pour l'étude de la paternité des descendants. Chez d'autres espèces, ce biais existe et pose parfois des difficultés dans l'interprétation des résultats (Simmons, 2001).

Pour les accouplements simples des **mâles vierges de 21 jours**, on observe la même **sex-ratio** que lorsqu'il s'agit des mâles vierges de 1 jour. Cela indique que l'âge des mâles n'affecte pas la sex-ratio de la descendance chez *Anisopteromalus calandrae*. La quantité de descendants produits après un accouplement simple d'un mâle vierge R de 21 jours est la même que chez les mâles vierges de 1 jour. Ainsi, quand l'âge du mâle *Anisopteromalus calandrae* augmente, la quantité de descendants ne diminue pas voire augmente dans le cas du morphe W. A l'inverse, chez d'autres insectes comme la coccinelle *Coccinella septempunctata* (Srivastava & Omkar, 2004) ou le coléoptère du cuir *Dermestes maculatus* (Jones & Elgar, 2004), les mâles d'un âge intermédiaire permettent aux femelles d'avoir plus de descendants que les mâles plus jeunes ou plus âgés. Cela est aussi observé chez le papillon nocturne *Spodoptera exigua* (Rogers & Marti, 1997) et chez la mineuse blanche de la feuille du caféier *Leucoptera coffeella* (Futoda Michereff *et al.*, 2004). Chez *Anisopteromalus calandrae*, une durée de vie de 21 jours représente plus que la durée d'une génération car les mâles émergent au bout de 14 jours de développement. De plus, les mâles expérimentaux de 21 jours sont obtenus lorsque 50% des mâles de la population initiale restent en vie. On peut donc considérer que ces mâles de 21 jours sont des vieux mâles et non d'un âge intermédiaire. Alors, pourquoi les mâles de 21 jours permettent-ils à la femelle d'avoir une descendance adéquate ? L'explication pourrait être une qualité des spermatozoïdes stockés similaire à celle des mâles de 1 jour. Chez un autre Pteromalidae proche, *Dinarmus basilis*, la qualité des spermatozoïdes du mâle ne change

pas au cours des 30 premiers jours et on constate une diminution de la viabilité des spermatozoïdes à 60 jours (Damiens, 2001). Cependant, on peut supposer que seuls les spermatozoïdes les plus mobiles sont stockés dans la spermathèque. Dans ce cas, il serait possible de penser qu'après un seul accouplement avec un mâle de 21 jours, la qualité des spermatozoïdes stockés chez la femelle soit la même qu'avec un mâle de 1 jour.

Enfin, les mâles vierges R de 21 jours qui ont le plus de spermatozoïdes par rapport aux autres ne permettent pas à la femelle accouplée une seule fois d'avoir une meilleure descendance. Il ne s'agit donc **pas d'un effet du stock de spermatozoïdes** du mâle sur la **descendance (sex-ratio et quantité)** lors d'**accouplements simples**. D'une part, cela peut être dû au **stockage spermatique limité** chez la femelle *Anisopteromalus calandrae* (Do Thi Khanh *et al.*, 2005). D'autre part, avec le mécanisme de **distribution** des spermatozoïdes du mâle entre différentes femelles (chapitre III), on peut supposer que même si le stock spermatique du mâle était plus important, il ne transférerait pas plus de spermatozoïdes à la femelle. La femelle produirait par la suite une descendance similaire à celle produite avec des mâles ayant d'autres traits d'histoire de vie dans le cas d'**accouplements simples**.

Tableau 22 : Ratios de spermatozoïdes et de descendants pour deux mâles *Anisopteromalus calandrae* différents par leur morphe, leur âge ou leur expérience sexuelle, qui sont mis en situation de compétition. Le coefficient r du degré de biais de la loterie est calculé selon l'équation 5 (page 94).

	Ratio des spermatozoïdes	Ratio des descendants	Coefficient r
♂v1j vs ♂v1j	Rv1j : Wv1j 1,46 fois	Rv1j : Wv1j 1,68 fois	1,15
♂v21j vs ♂v1j	Rv21j : Wv1j 2,73 fois	Rv21j : Wv1j 2,06 fois	0,76
	Wv21j : Rv1j 1,23 fois	Wv21j : Rv1j 1,22 fois	
♂exp vs ♂v	Rv : Wexp 5,83 fois	Rv : Wexp 4,88 fois	0,84
	Wv : Rexp 3,89 fois	Wv : Rexp 4,07 fois	

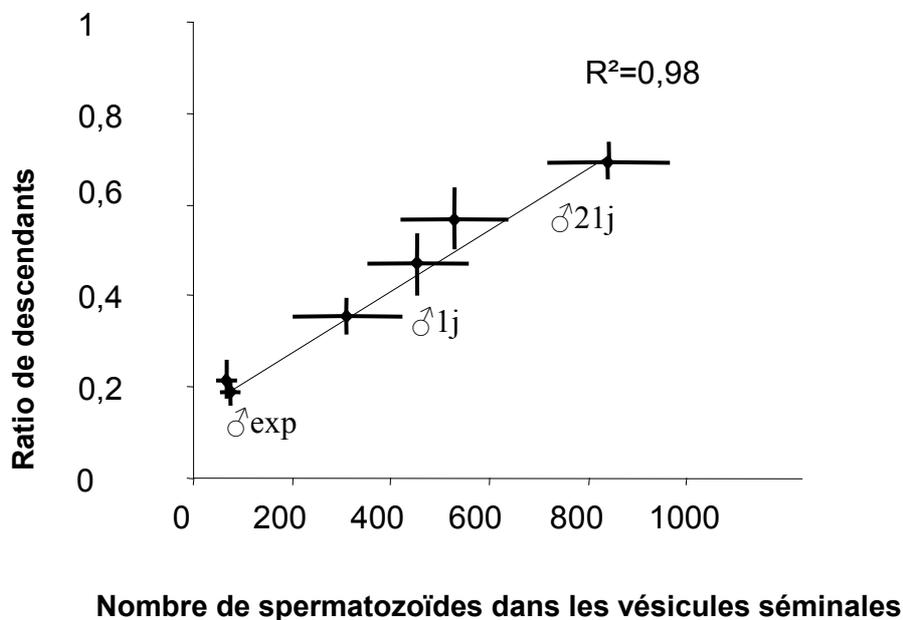


Figure 27 : Étude de la relation entre le nombre de spermatozoïdes stockés dans les vésicules séminales des mâles *Anisopteromalus calandrae* en fonction du morphe et des traits d'histoire de vie et la descendance de chaque mâle en situation de compétition. Ces ratios sont présentés ci-dessus avec une courbe de tendance et une corrélation Spearman (coefficient R_s).

2. Descendance issue d'une compétition entre deux mâles

Après une compétition entre deux mâles *Anisopteromalus calandrae* quels que soient leur morphe, leur âge ou leur expérience sexuelle, le coefficient r indiquant l'importance des biais dans la loterie varie **entre 0,76 et 1,15** (tableau 22). Nos données expérimentales chez *Anisopteromalus calandrae* (tableau 22) correspondent parfaitement à une **loterie honnête**, « *fair raffle* », entre la paternité des descendants des deux mâles en compétition et leur stock initial de spermatozoïdes dans les vésicules séminales. Le graphe présenté en figure 27 montre bien que les ratios de descendants de chaque mâle en compétition reflètent exactement celle de la quantité initiale de spermatozoïdes stockés dans les vésicules séminales du mâle.

Nos résultats montrent qu'après deux accouplements avec deux mâles en situation de compétition, la femelle *Anisopteromalus calandrae* produit quotidiennement les deux types de descendants femelles quelle que soit la combinaison d'accouplement. Cela indique un mélange des deux éjaculats dans la spermathèque. Ce mélange de spermatozoïdes a aussi été mis en évidence chez les fourmis *Acromyrmex versicolor* (Reichardt & Wheeler, 1996) ou encore chez les tritons *Triturus alpestris* (Rafinski & Osikowski, 2002). Ce phénomène est également observé chez un autre Pteromalidae *Nasonia vitripennis* (van den Assem & Feuth-De Bruijn, 1977; Beukeboom, 1994) où le deuxième mâle féconde une proportion constante d'ovocytes. A l'inverse, chez la plupart des insectes, c'est souvent le dernier mâle qui a le plus de descendants comme dans le cas des Drosophiles (Boorman & Parker, 1976; Civetta, 1999), des mouches d'excrément *Scathophaga stercoraria* (Ward, 1993; Stockley & Simmons, 1998; Simmons *et al.*, 1999b), des coléoptères *Callosobruchus maculatus* (Eady, 1994) ou encore des abeilles *Apis mellifera* (Franck *et al.*, 2002). Cette dominance du dernier mâle peut être due au déplacement ou enlèvement des spermatozoïdes transférés par le premier mâle (Eady, 1994; Stockley & Simmons, 1998; Simmons *et al.*, 1999b; Cordoba-Aguilar *et al.*, 2003). La dominance du dernier mâle peut également être due à un spermicide (Greeff & Parker, 2000) dans le site de stockage spermatique de la femelle, comme chez *Scathophaga stercoraria* (Bernasconi *et al.*, 2002). L'élimination ou le repositionnement des spermatozoïdes du mâle précédent peut également intervenir pour donner l'avantage au dernier mâle (Thornhill & Alcock, 1983; Parker, 1984; Cordoba-Aguilar *et al.*, 2003). Lorsqu'il existe un rejet des spermatozoïdes stockés dans la spermathèque de la femelle, le dernier mâle est aussi le plus représenté dans la descendance (Reinhardt & Meister, 2000;

Cordoba-Aguilar *et al.*, 2003). **Cependant, chez les hyménoptères** la plupart des études sur la paternité des descendants lors d'accouplements multiples de la femelle montrent qu'il existe **une priorité de paternité du premier mâle P₁** (Quicke, 1997). Par exemple, lors des accouplements multiples, le premier mâle a plus de descendants chez le Pteromalidae *Lariophagus distinguendus* (van den Assem *et al.*, 1989) et chez l'Ichneumonidae *Diadromus pulchellus* (El Agoze *et al.*, 1995). Ce phénomène est aussi mis en évidence chez l'Aphenilidae *Aphytis melinus* (Allen *et al.*, 1994). La priorité de paternité du premier mâle chez ces espèces serait due au fait que la spermathèque est pratiquement remplie par la première insémination, il ne resterait donc qu'un espace très limité pour la deuxième insémination (Holmes, 1974). Dans notre étude, nous n'avons montré **ni une prépondérance du premier mâle ni du second mâle**. En effet, chez *Anisopteromalus calandrae* le nombre des **descendants** de chaque mâle est **indépendant de l'ordre des accouplements** (Do Thi Khanh *et al.*, 2005). **Une des explications de ce phénomène serait due au fait que l'intervalle est très bref entre deux accouplements de la femelle**. Ceci entraînerait un mélange des éjaculats dans l'utérus de la femelle avant qu'ils ne soient stockés dans la spermathèque.

Notre étude montre également qu'**en situation de compétition** entre deux mâles *Anisopteromalus calandrae*, **le mâle ayant le plus de spermatozoïdes dans les vésicules séminales est le plus représenté dans la descendance** (Do Thi Khanh *et al.*, 2005). Ce phénomène se maintient quels que soient le phénotype, l'âge ou l'expérience sexuelle des mâles en compétition et quel que soit l'ordre d'accouplement. Nos résultats concernant la paternité des descendants après une compétition entre deux mâles nous ont permis de tester le principe de **la loterie, « the raffle »**, proposé par Parker (1990). **Ces résultats expérimentaux semblent s'accorder parfaitement à une loterie honnête, « the fair raffle »**, dans laquelle la proportion de descendants de chaque mâle en compétition correspond à celle des ses spermatozoïdes stockés chez la femelle. Ce phénomène pourrait être dû à la taille des éjaculats fournis à la femelle par chaque mâle au moment du transfert. Les éjaculats des deux mâles formeraient un mélange de spermatozoïdes dans l'utérus de la femelle. En supposant que seul un échantillon de cette population de spermatozoïdes soit stocké, le mâle fournissant le plus de spermatozoïdes serait le plus représenté dans la population de spermatozoïdes stockés chez la femelle. Par conséquent, les spermatozoïdes de ce mâle auraient plus de chance d'être utilisés par la femelle lors de la fécondation des œufs. Au final, le mâle qui transférerait le plus de spermatozoïdes à la femelle aurait plus de descendants. Chez d'autres insectes, une loterie honnête est également observée après des

accouplements doubles de la femelle dans le cas du grillon *Gryllus bimaculatus* (Simmons, 1986), de la sauterelle *Kawanaphila nartee* (Simmons, 1995c) et du coléoptère *Onthophagus taurus* (Tomkins & Simmons, 2000). Dans la descendance issue des accouplements doubles chez les femelles de ces trois espèces, on obtient $P_1 = P_2 = 0,5$ lorsque le nombre de spermatozoïdes des mâles est égal. Une loterie honnête est également observée chez le poisson Crapet Arlequin *Lepomis macrochirus* (Neff *et al.*, 2003) où le succès de fécondation de chaque mâle en compétition augmente linéairement avec le nombre de ses spermatozoïdes.

Enfin, **notre étude** souligne aussi qu'**en situation de compétition**, un mâle *Anisopteromalus calandrae* donne toujours la **même proportion** de son **stock de spermatozoïdes disponibles** quel que soit son statut reproducteur. Plusieurs auteurs prédisent que le mâle **investirait plus de spermatozoïdes** lorsque le **risque de compétition spermatique** (probabilité de réaccouplement de la femelle) est **élevé** (Parker, 1990a; Parker, 1990b; Parker *et al.*, 1997; Parker, 1998; Mesterton-Gibbons, 1999). De plus, un **modèle** mathématique de Parker et collaborateurs (1997) **prédit** que le mâle **investirait plus de spermatozoïdes** chez les **femelles déjà accouplées** (Parker *et al.*, 1997). Ce n'est pas le cas chez *Anisopteromalus calandrae* car nos résultats n'ont mis en évidence **ni une augmentation ni une diminution** de la **quantité de spermatozoïdes transférés** lorsqu'un risque de compétition spermatique se présentait (quand un compétiteur est présent pour l'accès à la même femelle ou quand la femelle est déjà accouplée). Ceci est inconnu chez les hyménoptères. Les hypothèses que nous avons émises pour comprendre ce phénomène étaient : (1) comme **chaque mâle est initialement face à un compétiteur** et en supposant qu'aucun des deux mâles n'est informé sur le statut reproducteur de la femelle, on pourrait estimer un **risque de compétition spermatique égal entre deux mâles**. Dans ce cas, l'investissement en spermatozoïdes serait aussi important par l'un que par l'autre. (2) Comme en présence de deux mâles une femelle *Anisopteromalus calandrae* se réaccouple rapidement et fréquemment, **il ne serait pas sélectivement avantageux** pour un mâle de **transférer tous ses spermatozoïdes** à cette seule femelle car ceux-ci seraient très probablement mélangés avec ceux de son compétiteur. Ainsi, sa descendance serait réduite en fonction du transfert de l'autre mâle. **A l'inverse, chez d'autres espèces, un mâle transfère plus de spermatozoïdes en présence d'un rival** que lorsqu'il est seul comme chez la mouche de fruit de la Méditerranée *Ceratitis capitata* (Gage, 1991) et chez le grillon *Gryllodes supplicans* (Gage & Barnard, 1996). Ce phénomène est également observé chez certains oiseaux comme dans le cas du

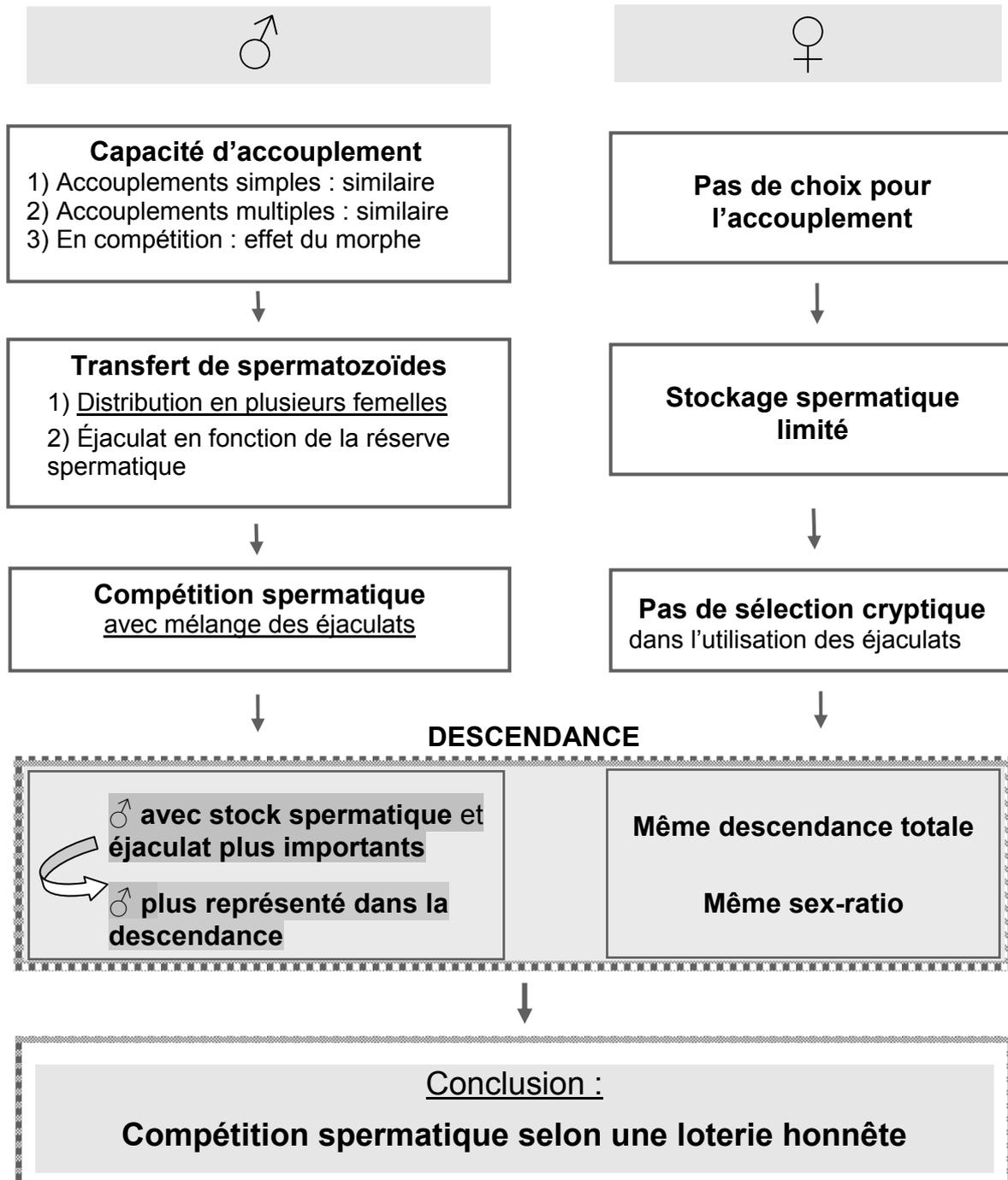
pingouin d'Adélie *Pygoscelis adeliae* (Hunter *et al.*, 2000) et de l'hirondelle de rivage *Riparia riparia* (Nicholls *et al.*, 2001) ou chez un poisson des récifs coralliens *Sparisoma radians* (Marconato & Shapiro, 1996). Chez ce dernier, le mâle augmente le nombre de spermatozoïdes transférés avec la taille des couvées et la taille de la femelle car la probabilité de compétition spermatique est plus élevée chez les grosses femelles. **Néanmoins, une diminution de la quantité de spermatozoïdes transférés** à la femelle peut être observée lorsqu'un **risque de compétition spermatique existe**. Par exemple, chez l'araignée *Gasteracantha cancriformi*, le don de sperme du mâle est plus important à une femelle vierge qu'à une femelle déjà accouplée (Bukowski *et al.*, 2001). De même, les mâles du crabe *Pagurus filholi* diminuent la quantité de spermatozoïdes transférés à la femelle lorsque le risque de compétition spermatique est élevé (Goshima *et al.*, 1998).

Toutefois, **une distribution des spermatozoïdes par les mâles en fonction du risque de compétition spermatique n'est pas toujours observée**. Par exemple chez le diamant mandarin *Taeniopygia guttata*, ce n'est pas le risque de compétition spermatique mais l'épuisement du stock spermatique du mâle qui est une contrainte majeure dans la quantité de spermatozoïdes transférés à la femelle chez cet oiseau (Birkhead & Fletcher, 1995).

RÉSULTATS PRINCIPAUX DU TRAVAIL DE THÈSE

Chez *Anisopteromalus calandrae*

Réserve spermatique différente chez le mâle
selon le morphe, l'âge ou l'expérience sexuelle



Sur la figure précédente sont présentés les résultats principaux obtenus chez *Anisopteromalus calandrae* dans notre étude. En résumé, chez *Anisopteromalus calandrae* **(1) la sex-ratio** de la descendance **ne varie pas** quels que soient le phénotype des mâles, l'âge des mâles, le nombre d'accouplements de la femelle et quelle que soit la combinaison d'accouplement. **(2) En situation de compétition** entre deux mâles après des accouplements doubles de la femelle, c'est **le mâle** qui a le **plus de spermatozoïdes disponibles** dans les vésicules séminales qui est le **plus représenté** dans la descendance. Ainsi, **(3) les mâles transfèrent** toujours une même **proportion** de leur **stock de spermatozoïdes** quels que soient leur statut reproducteur, le statut d'accouplement de la femelle ou le contexte dans lequel l'accouplement a lieu.

DISCUSSION GÉNÉRALE

Dans ce travail, en utilisant *Anisopteromalus calandrae* comme modèle biologique, nous avons voulu connaître si le **succès reproducteur des mâles** étaient différent en fonction de leur **morphe** ou de leurs **traits d'histoire de vie** (âge, expérience sexuelle). Ici, le succès reproducteur des mâles a été étudié à travers leur **capacité d'accouplement**, leur **production spermatique**, leur **distribution des spermatozoïdes** aux femelles et enfin leur **descendance**. Nous avons étudié ces différentes composantes du succès reproducteur des mâles en situation d'**accouplements simples**, d'**accouplements multiples** du mâle et en situation de **compétition entre deux mâles**.

A - ACCOUPLEMENTS SIMPLES

Lors d'**accouplements simples**, nos résultats ne montrent **aucune différence** dans la **capacité d'accouplement** des mâles *Anisopteromalus calandrae* **quels que soient leur âge** ou **leur expérience sexuelle**. De plus, **la femelle stocke autant de spermatozoïdes** quels que soient **le morphe, l'âge** ou **l'expérience sexuelle** des mâles. Ces résultats peuvent être expliqués par (1) **l'absence de choix pour l'accouplement** par la femelle et (2) par la capacité de **stockage spermatique limité** chez la femelle. A l'inverse, chez d'autres insectes, la capacité d'accouplement des mâles peut être différente selon leur âge ou leur expérience sexuelle. Par exemple, (1) **la maturité sexuelle des mâles** chez la coccinelle *Coccinella septempunctata* apparaît 4 jours après l'émergence (Srivastava & Omkar, 2004). Chez différents grillons, diptères et lépidoptères, **les mâles plus âgés s'accouplent plus** que les mâles jeunes (Zuk, 1988; Simmons & Zuk, 1992; Simmons, 1995a; Spurgeon *et al.*, 1995; Srivastava & Omkar, 2004). **En revanche**, chez d'autres espèces il a été montré que **les mâles âgés** pouvaient subir une **diminution de leur capacité d'accouplement** (Gordh & De Bach, 1976; Delisle, 1995; Ofuya, 1995; Jiménez-Pérez & Wang, 2003; Jones & Elgar, 2004; Srivastava & Omkar, 2004). En fait, **les mâles d'âges intermédiaires sont les plus performants** pour s'accoupler (Hansen & Price, 1995; Ofuya, 1995; Srivastava & Omkar, 2004). (2) **L'expérience sexuelle des mâles**, quant à elle, **peut diminuer la capacité d'accouplement** des mâles comme dans le cas des moustiques *Aedes aegypti* (Jones, 1973) où les mâles sont incapables de pénétrer la femelle après des accouplements multiples. A l'inverse, **les mâles sexuellement expérimentés** peuvent être les **plus performants** (Schlaepfer & McNeil, 2000). Toutefois, l'expérience sexuelle des mâles peut ne pas avoir

d'effet sur son succès d'accouplement comme chez le ver rouge de la farine, *Tribolium castaneum* (Lewis, 2004). Cependant, les mâles vierges W de 1 jour sont plus agressifs et obtiennent plus d'accouplements que les mâles vierges R de 1 jour lors d'une compétition pour l'accès à une femelle W.

Après un accouplement, nous avons obtenu chez *Anisopteromalus calandrae* **la même sex-ratio** de la descendance quels que soient le morphe ou l'âge du mâle. De plus, **la quantité de descendants produits** après un accouplement simple des mâles vierges de 21 jours est **la même** que celle des mâles vierges de 1 jour, voire augmente dans le cas du morphe W. En revanche, chez d'autres espèces, les mâles d'un âge intermédiaire permettent aux femelles d'avoir plus de descendants que les mâles plus jeunes ou plus âgés (Rogers & Marti, 1997; Jones & Elgar, 2004; Srivastava & Omkar, 2004). Ainsi, chez *Anisopteromalus calandrae*, **aucune diminution apparente de la qualité des spermatozoïdes** n'a été détectée chez les mâles de 21 jours dans les deux morphes. Ceci est conforté par le fait qu'en situation de compétition avec un mâle de 1 jour, le mâle vierge de 21 jours est toujours le plus représenté dans la descendance. L'explication de ce phénomène pourrait être la qualité des spermatozoïdes stockés dans la spermathèque de la femelle. Admettons qu'un mâle de 21 jours continue à produire des spermatozoïdes et que seuls les spermatozoïdes fonctionnels soient stockés afin d'assurer la fécondité des œufs, il ne serait pas illogique qu'un accouplement simple de ce mâle permette une descendance similaire à celle des mâles de 1 jour. De plus, chez un autre Pteromalidae (*Dinarmus basalis*), la quantité de spermatozoïdes stockés dans les vésicules séminales du mâle vierge augmente avec l'âge, tandis que la viabilité des spermatozoïdes n'est pas altérée durant les 30 premiers jours (Damiens, 2001). A l'inverse, les mâles de certaines espèces dites « prospermatiques » ont un stock de spermatozoïdes entièrement constitué à l'émergence et les testicules dégèrent après l'émergence du mâle (Boomsma *et al.*, 2005). Chez certaines guêpes, les mâles s'accouplent jusqu'à la fin de leur vie, indépendamment de leur âge ou de leur stock de spermatozoïdes (Jacob & Boivin, 2004).

B - ACCOUPLEMENTS MULTIPLES DU MÂLE

Concernant les **accouplements multiples** des mâles *Anisopteromalus calandrae*, nous avons montré qu'un mâle vierge de 1 jour était **capable de s'accoupler avec environ 10 femelles** durant une période de 2 heures quel que soit le morphe chez les mâles vierges de 1 jour. Une autre étude a montré qu'un mâle *Anisopteromalus calandrae* pouvait

inséminer entre 2 et 23 femelles ((Garcia Saez de Nanclares, 1988) cité par King (2000)). Lorsqu'on regarde le **nombre de spermatozoïdes stockés par l'ensemble des femelles**, une **distribution** du stock de spermatozoïdes du mâle à plusieurs femelles est observée. C'est également le cas chez un autre Pteromalidae, *Dinarmus basalis* (Damiens, 2001). Pour maximiser ses chances de se reproduire, un tel mâle aurait intérêt à **maximiser le nombre d'accouplements** plutôt qu'à maximiser l'insémination chez une seule femelle. En effet, cette femelle pourrait être en présence d'autres compétiteurs et, en raison du mélange des éjaculats, le nombre de descendants d'un mâle diminuerait. Comme la capacité de stockage spermatique chez la femelle *Anisopteromalus calandrae* est limitée et la durée de remplissage est très courte, on suppose une certaine **économie spermatique** à travers **cette distribution des spermatozoïdes** du mâle aux femelles. Ce résultat a été également rapporté par Ji et collaborateurs (2004) dans d'autres conditions expérimentales. En effet, lors d'accouplements multiples des mâles *Anisopteromalus calandrae*, nos résultats montrent que les mâles vierges de 1 jour distribuent leur stock de spermatozoïdes à 6 femelles. Nos résultats suggèrent que, dans la nature, les mâles économisent leurs spermatozoïdes lorsque la réussite d'un accouplement est incertaine et la compétition entre mâles intense (Parker, 1998). Or, théoriquement, le nombre d'éjaculats du mâle semble être limité en raison des coûts pour renouveler sa réserve spermatique (Dewsbury, 1982). Lorsque la réserve spermatique d'un mâle est épuisée, la réalisation des accouplements supplémentaires ne semblerait pas être bénéfique pour le mâle (Trivers, 1972).

Chez *Anisopteromalus calandrae*, les mâles émergent un jour plus tôt que les femelles. **En condition de greniers**, on sait que les mâles de différentes histoires de vie attendent les nouvelles femelles à la surface du stock de graines (Ji *et al.*, 2004). Une compétition intense entre mâles est inévitable pour l'obtention de la femelle. De plus, les femelles ne s'accouplent qu'au début de leur vie chez cette espèce (Do Thi Khanh *et al.*, 2005). Selon la théorie sur **l'intensité de compétition spermatique** (ou densité des compétiteurs), il est prédit que les mâles **diminueraient leur investissement en spermatozoïdes lorsque les compétiteurs présents sont nombreux** (Parker *et al.*, 1996; Parker, 1998). Nos résultats ne permettent pas de le vérifier directement mais la distribution du stock de spermatozoïdes entre plusieurs femelles a été vérifiée. Lorsqu'on regarde l'évolution de la réserve spermatique des mâles, un mâle expérimenté présente **suffisamment de spermatozoïdes** pour la fécondation d'une femelle en **accouplements simples**, mais il est **désavantagé** après des accouplements doubles de la femelle. Ce scénario est également observé lors de la compétition entre deux mâles vierges de 1 jour de

morphes différents ou entre deux mâles vierges d'âges différents. En effet, après un accouplement simple les mâles de chaque catégorie permettent à la femelle d'avoir une descendance similaire et une même sex-ratio. Cependant, après des accouplements doubles de la femelle, **le mâle qui a moins de spermatozoïdes est toujours désavantagé dans la descendance**. Nos résultats montrent qu'au moment de la copulation la **quantité de spermatozoïdes transférés** par chaque mâle en compétition est **proportionnelle à son stock spermatique**. Ainsi, en compétition les mâles ne transfèrent pas plus de spermatozoïdes, contrairement à ce que prédisent les théories concernant le **risque de compétition spermatique** (Parker *et al.*, 1997; Parker, 1998).

Notre étude montre également que le mâle expérimenté mis en compétition avec un mâle vierge s'accouple et transfère des spermatozoïdes. Il y a toujours des **compromis** entre l'optimisation du nombre de spermatozoïdes et l'investissement pour l'obtention des accouplements (Dewsbury, 1982; Waage, 1986). On suppose qu'une adaptation comportementale pour l'obtention des accouplements serait favorisée chez cette espèce, ce qui est vérifié par le maintien de la compétitivité des mâles quels que soient leur âge ou leur expérience sexuelle.

C - COMPÉTITION ENTRE DEUX MÂLES

Lors d'une compétition entre deux mâles, un **2^e accouplement** de la femelle *Anisopteromalus calandrae* peut avoir lieu mais dans des **conditions très limitées** : seulement quand les mâles sont présents en même temps et quand l'intervalle entre deux accouplements ne dépasse pas 2 minutes (Baker *et al.*, 1998 ; Do Thi Khanh *et al.* 2005). Un tel mâle n'a-t-il pas intérêt à réaliser plutôt des accouplements simples dans lesquels il aurait 100% de paternité ? On note également que la **1^{re} copulation en situation de compétition dure deux fois plus longtemps** que lors d'accouplements simples. Cela peut suggérer chez les mâles **un comportement d'évitement de la compétition spermatique par un accouplement prolongé** (Parker, 1984 ; Simmons & Siva-Jothy, 1998 ; Simmons 2001b).

Malgré ces contraintes lors d'une compétition entre deux mâles, entre 37% et 57% des femelles se réaccouplent avec un deuxième mâle. Dans ce cas, les deux mâles obtiennent autant de premier accouplement l'un que l'autre. De plus, les femelles s'accouplent indifféremment avec des mâles quels que soient leur phénotype, leur âge, ou leur expérience sexuelle. Ainsi, **aucun comportement de choix pour l'accouplement de**

la femelle n'est mis en évidence. Nos résultats montrent également que la femelle n'augmente pas son stockage spermatique après des accouplements doubles. La question qui en découle est : pourquoi pratiquent-elles ces accouplements multiples ? (1) D'une part, comme nos résultats ont mis en évidence la double paternité des descendants issus d'une compétition entre deux mâles, on peut supposer qu'un bénéfice lié à **la diversité génétique des descendants** (Arnqvist & Nilsson, 2000; Jennions & Petrie, 2000) interviendrait dans l'existence des accouplements multiples chez la femelle *Anisopteromalus calandrae*. (2) D'autre part, **en populations naturelles**, quand la densité en *Anisopteromalus calandrae* dans les stocks de graines infestées est élevée (Smith, 1994), plusieurs mâles peuvent faire la cour à une même femelle et par conséquent, **les harcèlements sexuels peuvent être fréquents pour la femelle**. Lorsque les harcèlements sexuels sont très importants, Parker (1984) et Simmons (2001) prédisent que **la femelle pourrait accepter les accouplements multiples pour éviter les coûts** supplémentaires en temps et en énergie **lorsqu'elle résiste aux mâles**. Nos résultats montrent que la femelle *Anisopteromalus calandrae* ne choisit pas les mâles en fonction de leur nombre de spermatozoïdes. Il faut noter qu'une petite quantité de spermatozoïdes (environ 100 spermatozoïdes) assure la fécondation des œufs durant toute la vie reproductive de la femelle. Cela pourrait être une des explications de l'absence de choix par la femelle sur ce critère.

Le mécanisme de **l'utilisation des spermatozoïdes** par la femelle après des accouplements doubles **en situation de compétition entre deux mâles** peut être précisé par nos résultats. Si les spermatozoïdes étaient immédiatement transférés et stockés dans la spermathèque après la copulation (même pendant), on pourrait observer une priorité de paternité du premier mâle ou du deuxième mâle à cause soit d'une stratification des spermatozoïdes (Snook, 2005), soit d'un déplacement des spermatozoïdes soit d'une inhibition des spermatozoïdes rivaux (Gack & Peschke, 1994; Simmons & Siva-Jothy, 1998; Price *et al.*, 1999). Comme nos résultats montrent que le ratio de descendants de chaque mâle correspond au ratio de stocks initiaux de spermatozoïdes dans leurs vésicules séminales, nous pouvons supposer qu'il existe un mélange complet des éjaculats des deux mâles dans l'utérus de la femelle et que le mécanisme de la loterie entre deux éjaculats a lieu dans l'utérus à partir d'un mélange initial des deux éjaculats. En effet, comme l'intervalle entre deux accouplements est très court (moins de 2 minutes), nos résultats suggèrent un mélange des éjaculats dans le tractus avant le stockage dans la spermathèque chez la femelle.

Après une compétition entre deux mâles *Anisopteromalus calandrae*, la **proportion de descendants** de chaque mâle est **égale à la proportion de spermatozoïdes disponibles** dans leurs vésicules séminales quels que soient le morphe du mâle, son âge ou son statut reproducteur et quelle que soit la combinaison d'accouplement. Nos résultats montrent que la paternité des descendants de chaque mâle augmente linéairement avec le nombre de spermatozoïdes stockés initialement dans les vésicules séminales : les mâles ayant plus de spermatozoïdes dans les vésicules séminales obtiennent plus de descendants en situation de compétition. Plus précisément, le rapport de descendants des deux mâles en compétition est corrélé au rapport des stocks de spermatozoïdes dans les vésicules séminales des deux mâles. Cela montre qu'on a le même ratio en spermatozoïdes dans la spermathèque de la femelle après accouplements doubles. Les résultats obtenus chez *Anisopteromalus calandrae* en situation de compétition correspondent parfaitement au modèle théorique concernant une loterie honnête, « *fair raffle process* » prédit par Parker (1990, 1998). En effet, c'est toujours le mâle ayant le plus de spermatozoïdes dans les vésicules séminales qui est le plus représenté dans la descendance après une compétition entre deux mâles. Ainsi, une priorité de paternité n'est mise en évidence ni pour le premier mâle (P_1) ni pour le second mâle (P_2).

Plus globalement, **en situation de groupes d'individus**, nos résultats chez *Anisopteromalus calandrae*, après une compétition entre **deux mâles différents** nous ont permis d'effectuer **l'estimation de l'espérance de paternité** des descendants chez les mâles des deux morphes (rouge et sauvage) quand plus de deux mâles sont en compétition et que le nombre de femelles disponibles est supérieur à un. D'une part, **pour les femelles inséminées seulement par un morphe**, nous pouvons estimer l'espérance de paternité des descendants produits car **100% de descendants femelles seront engendrés par les mâles du morphe désigné**. D'autre part, **pour les femelles inséminées par les mâles des deux morphes**, nous pouvons estimer l'espérance de paternité des descendants chez les mâles de chaque morphe en compétition **à partir de leur stock initial de spermatozoïdes** dans les vésicules séminales selon **une loterie honnête**. Finalement, **l'espérance totale de paternité des descendants** chez les mâles **d'un morphe** est la somme de (1) celle obtenue chez **les femelles inséminées seulement par ce morphe** et de (2) celle obtenue chez **les femelles inséminées par les deux morphes**.

D - GLOBALISATION AU NIVEAU DES GROUPES D'INDIVIDUS

En **groupes d'individus**, le nombre de compétiteurs des deux morphes est supérieur à deux et le nombre de femelles disponibles est supérieur à un.

L'**espérance de paternité** de chaque morphe ($\sum P_R$ pour le morphe R, $\sum P_W$ pour le morphe W) est la **somme** de celles obtenues (1) d'une part, chez les **femelles inséminées par un seul morphe** (a pour le morphe R et b pour le morphe W) et (2) d'autre part, chez les **femelles inséminées par les deux morphes**, c . Dans ce dernier cas, selon une **loterie honnête**, l'**espérance de paternité des mâles R** est égale à : $c x \frac{S_R}{S_R + S_W}$

(S_R et S_W : stock de spermatozoïdes dans les vésicules séminales des mâles R et W).

Au total, l'**espérance de paternité des mâles R** est égale à :

$$\sum P_R = a + c x \frac{S_R}{S_R + S_W} \quad (\text{Équation 6})$$

Avec :

a : le nombre de femelles inséminées seulement par les mâles R

c : le nombre de femelles inséminées par les deux morphes

S_R : le nombre de spermatozoïdes dans les vésicules séminales des mâles R

S_W : le nombre de spermatozoïdes dans les vésicules séminales des mâles W

De la même manière, l'espérance de paternité des mâles **W** est égale à :

$$\sum P_W = b + c \frac{S_W}{S_W + S_R} \quad (\text{Équation 7})$$

Avec :

b : le nombre de femelles inséminées seulement par les mâles **W**

c : le nombre de femelles inséminées par les deux morphes

S_R : le nombre de spermatozoïdes dans les vésicules séminales des mâles **R**

S_W : le nombre de spermatozoïdes dans les vésicules séminales des mâles **W**

En situation de groupe d'individus chez *Anisopteromalus calandrae*, en mettant ensemble **10 mâles vierges de 1 jour** (5 **R** et 5 **W**) avec **10 femelles pendant 24 heures**, nous avons obtenu les résultats suivants (n=92 femelles **R** ; Lafitte, 2002) :

- Le nombre de femelles inséminées seulement par les mâles **R** : **a=29 sur 92**
- Le nombre de femelles inséminées seulement par les mâles **W** : **b=40 sur 92**
- Le nombre de femelles inséminées par les mâles des deux morphes : **c=23 sur 92**

Chez les mâles vierges *Anisopteromalus calandrae* de 1 jour, les ratios de stocks initiaux de spermatozoïdes dans les vésicules séminales sont :

$$\frac{S_R}{S_R + S_W} = \frac{4545,2}{4545,2 + 3115,7} = \mathbf{0,59}$$

et

$$\frac{S_W}{S_W + S_R} = \frac{3115,7}{3115,7 + 4545,2} = \mathbf{0,41}$$

(Do Thi Khanh *et al.*, 2005)

A partir de ces données et **selon les équations 6 et 7**, nous pouvons **estimer l'espérance de paternité des mâles de chaque morphe** :

Estimé :	<u>Pour le morphe R</u> : $\Sigma P_R = 29/92 + 0,59(23/92) = 0,32 + 0,15 = 0,47$
	<u>Pour le morphe W</u> : $\Sigma P_W = 40/92 + 0,41(23/92) = 0,43 + 0,10 = 0,53$

Ces estimations montrent qu'en groupe d'individus, les mâles vierges W de 1 jour ont une espérance de paternité similaire à celle des mâles vierges R de 1 jour.

Concernant **la paternité des descendants**, les **résultats obtenus dans cette étude expérimentale** sont les suivants :

Observé :	<u>Pour le morphe R</u> : $\Sigma P_R = (1023 + 491)/3314 = 1514/3314 = 0,46$
	<u>Pour le morphe W</u> : $\Sigma P_W = (1452 + 384)/3314 = 1800/3314 = 0,54$

Avec :

- **1023** : nombre de descendants femelles produits par les 29 femelles inséminées seulement par les mâles R
- **1452** : nombre de descendants femelles produits par les 40 femelles inséminées seulement par les mâles W
- **491 + 384** : nombre de descendants femelles produits par les 23 femelles inséminées par les mâles des deux morphes
- **3314** : nombre total de descendants femelles produits par l'ensemble des 92 femelles étudiées

Les résultats concernant la paternité des descendants correspondent parfaitement à l'estimation théorique à partir des équations 6 et 7. Cela montre qu'en situation de groupes d'individus, (1) **la production des spermatozoïdes** des mâles et (2) **la capacité d'obtenir des accouplements** ou **de protéger les accouplements** jouent un rôle important dans le nombre total de descendants obtenus. Ces résultats suggèrent qu'en groupe d'individus, les mâles vierges de 1 jour R et W ont autant de chance d'avoir des descendants. Dans l'étude présentée ci-dessus, les mâles R ayant un stock de spermatozoïdes plus élevé sont plus représentés chez les femelles inséminées par les mâles des deux morphes. Les mâles W, quant à eux, inséminent plus de femelles et obtiennent donc plus de descendants chez les

femelles inséminées par un seul morphe. Le résultat final est un équilibre dans la descendance de chaque morphe.

Notre globalisation au niveau des groupes d'individus peut également permettre d'estimer l'espérance de paternité des descendants dans d'autres situations expérimentales. De la même manière que précédemment, quand les mâles en compétition sont différents par leur âge (1 jour et 21 jours) ou leur expérience sexuelle (vierge et expérimenté), nous pourrions estimer leur espérance de paternité en situation de groupe d'individus en connaissant le nombre de femelles inséminées par chaque type de mâle.

E - CONCLUSION

Ce travail a porté sur l'étude de la valeur sélective (succès reproducteur) des mâles *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera, Chalcidoidea, Pteromalidae) en relation avec leur réserve de spermatozoïdes disponibles. (1) Tout d'abord, nous avons obtenu une **gradation du nombre de spermatozoïdes dans les vésicules séminales des mâles** en fonction de leurs traits d'histoire de vie et de leur phénotype : du mâle qui a le plus de spermatozoïdes à celui qui en a le moins : ♂Rv21j, ♂Wv21j, ♂Rv1j, ♂Wv1j, ♂Rexp et ♂Wexp. (2) Ensuite, nos résultats montrent que **la capacité d'accouplement de ces différents mâles est similaire** quels que soient leurs traits d'histoire vie. Cependant, lors d'une compétition entre deux mâles vierges de 1 jour ainsi qu'en situation de groupe d'individus, les mâles sauvages obtiennent plus d'accouplements. (3) De plus, la **quantification des spermatozoïdes dans la spermathèque** montre que la femelle accouplée une seule fois stocke la même quantité de spermatozoïdes quels que soient le morphe, l'âge ou l'expérience sexuelle du mâle. Lorsque la femelle s'est accouplée deux fois avec deux mâles vierges de 1 jour de morphes différents, elle **ne stocke pas plus de spermatozoïdes que lors d'un accouplement simple** quel que soit l'ordre d'accouplement. (4) D'autre part, l'étude de la descendance a mis en évidence **les mêmes quantités de descendants et les mêmes sex-ratios** dans toutes les situations expérimentales. (5) Particulièrement, l'étude de la paternité des descendants après une compétition entre deux mâles différents par leur morphe, leur âge ou leur expérience sexuelle montre que c'est toujours **le mâle ayant le plus de spermatozoïdes** dans les vésicules séminales qui est **le plus représenté dans la descendance**. (6) Enfin, **nos résultats** concernant la paternité des descendants après une compétition entre deux mâles **correspondent parfaitement à une loterie honnête, « fair raffle »** proposée par

Parker (1990). (7) Quant à **la quantité de spermatozoïdes transférés** à la femelle, **aucune augmentation ni diminution** n'ont été mises en évidence contrairement à ce qui est prédit par les théories concernant le risque de compétition spermatique ou l'intensité de compétition spermatique. (8) Plus globalement, **en situation de groupes d'individus**, nous avons proposé **un modèle mathématique simple concernant la proportion de la descendance des mâles** de chaque morphe chez *Anisopteromalus calandrae* en prenant en compte la capacité d'accouplement du mâle et sa production spermatique. Ce modèle mathématique semble être confirmé par notre étude expérimentale de paternité des descendants lorsque 10 mâles vierges de 1 jour de morphes différents (5 R et 5 W) sont en compétition pendant 24 heures pour l'accès à 10 femelles vierges R. Les résultats de cette étude et le modèle mathématique proposé peuvent s'appliquer dans d'autres situations expérimentales.

F - PERSPECTIVES

1. En conditions contrôlées

Nos résultats en laboratoire ont mis en évidence la relation entre la quantité de spermatozoïdes disponibles d'un mâle, sa capacité d'accouplement et son succès reproducteur. Néanmoins, de nombreuses questions biologiques restent à approfondir telles que :

- Quels peuvent être les autres paramètres qui affectent **la production spermatique** des mâles en conditions contrôlées ? En effet, il existe des **facteurs internes** (comme la taille, le génotype, ...) ou **externes** (conditions de développement, présence des femelles...) qui pourraient faire varier la qualité reproductrice d'un mâle. Les réponses à cette question permettront de comprendre d'une façon plus globale la relation entre les caractéristiques du mâle et son succès reproducteur.
- Quelles sont **les pertes en spermatozoïdes du mâle** lors des accouplements successifs **en fonction du rang d'accouplement** des femelles ? Nos résultats chez *Anisopteromalus calandrae* montrent que (1) l'éjaculat est proportionnel au le stock de spermatozoïdes disponibles du mâle et que (2) les premières femelles inséminées stockent le plus de spermatozoïdes. On peut supposer que les pertes en spermatozoïdes

sont plus importantes au cours des premiers accouplements du mâle, mais cela reste à vérifier.

- Quelle est la **cinétique de reconstitution du stock de spermatozoïdes** ? Est-elle en continue ou périodiquement (*ie* alternée avec des périodes d'accouplement) ?
- Quelles sont les **stratégies d'éjaculation** des mâles *Anisopteromalus calandrae* lorsque **l'intensité de la compétition spermatique** augmente (présence de plusieurs compétiteurs) ? Il serait intéressant de quantifier le transfert de spermatozoïdes des mâles en fonction du nombre de compétiteurs afin d'apporter une réponse plus explicite sur la distribution des spermatozoïdes des mâles.
- Quelles sont les **stratégies d'éjaculation** des mâles *Anisopteromalus calandrae* lorsque **la qualité ou la quantité de femelles disponibles** varie ? Il sera opportun de connaître ce paramètre pour pouvoir par la suite établir une relation avec les prédictions théoriques concernant la gestion des spermatozoïdes chez les mâles.
- Quelles sont les proportions de descendants obtenus par les mâles après une compétition **entre un mâle âgé expérimenté et un mâle vierge jeune** ? En effet, cette situation peut être fréquente au sein d'une population.
- Quel est le nombre d'ovocytes d'une femelle *Anisopteromalus calandrae* au cours de sa vie reproductive ? Ceci pourra confirmer qu'un accouplement simple assure la descendance totale d'une femelle.

2. En conditions semi-contrôlées

Au cours de ce travail, nous avons étudié le succès reproducteur des mâles à travers la compétition entre deux mâles de morphes différents et ayant des traits d'histoire de vie différents. Pour rendre le système plus complet, on pourra étudier des **groupes d'individus** afin de mieux comprendre l'interaction entre mâles **ayant des traits d'histoire de vie différents**, les **modalités d'accouplements**, la **quantité de spermatozoïdes transférés** par les mâles, la **reconstitution du stock de spermatozoïdes des mâles**, etc. Par la suite, on pourrait construire des modèles mathématiques permettant de globaliser le succès reproducteur des mâles de chaque morphe en fonction de ces divers paramètres.

3. En conditions de greniers

A l'issue de cette étude, la plus grande question qu'on se pose est : **Pourquoi les mâles du morphe rouge ont plus de spermatozoïdes que les mâles du morphe sauvage ?** Y a-t-il une relation entre ce mutant et la production des spermatozoïdes des mâles ? Au départ nous avons sélectionné une souche aux yeux rouges sans connaître davantage la différence entre ces deux morphes. Il serait donc nécessaire de cohabiter ces deux populations dans les conditions proches de celles des greniers pour connaître (1) **la dynamique des populations** où différentes générations se chevauchent, (2) **l'évolution démographique du morphe sauvage et mutant** au cours du temps, (3) **l'allocation de l'énergie** entre la capacité d'accouplement et la production spermatique chez les mâles de chaque morphe, etc. Dans l'hypothèse où le morphe mutant rouge continue à exister, quelle serait sa place par rapport à celle du morphe sauvage ? De plus, ce mutant peu fréquent dans la nature, pourrait-il avoir un effet sur les populations naturelles, voire sur la lutte biologique ?

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abila, P. P., Kiendrebeogo, M., Mutika, G. N., Parker, A. G. & Robinson, A. S. 2003. The effect of age on the mating competitiveness of male *Glossina fuscipes fuscipes* and *G. palpalis palpalis*. *Journal of Insect Science*, **3**, 1-8.
- Adams, T. S. 2001. Morphology of the internal reproductive system of the male and female two-spotted stink bug, *Perillus bioculatus* (F.) (Heteroptera : Pentatomidae) and the transfer of products during mating. *Invertebrate Reproduction and Development*, **39**, 45-53.
- Allen, G. R., Kazmeri, D. J. & Luck, R. F. 1994. Postcopulatory male behaviour, sperm precedence and multiple mating in a solitary parasitoid wasp. *Animal Behaviour*, **48**, 635-644.
- Arbogast, R. T. & Mullen, M. A. 1990. Interaction of maize weevil (Coleoptera : Curculionidae) and parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera : Pteromalidae) in a small bulk of stored corn. *Journal of Economic Entomology*, **83**, 2462-2468.
- Arnaud, L. 1999. La compétition spermatique chez les insectes : les stratégies d'assurance de la paternité et la présence du sperme. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, **3**, 86-103.
- Arnold, S. J. & Duvall, D. 1994. Animal mating systems: A synthesis based on selection theory. *American Naturalist*, **143**, 317-348.
- Arnqvist, G. & Danielsson, I. 1999. Postmating sexual selection: The effects of male body size and recovery period and egg production rate in a water strider. *Behavioral Ecology*, **10**, 358-365.
- Arnqvist, G. & Nilsson, T. 2000. The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. *Animal Behaviour*, **60**, 145-164.
- Aron, S. & Passera, L. 2000. Les sociétés animales. Évolution de la coopération et organisation sociale. Université DeBoek.

B

- Baker, J. E., Perez-Mendoza, J. & Beeman, R. W. 1998. Multiple mating potential in a Pteromalid wasp determined by using an insecticide resistance marker. *Journal of Entomological Science*, **33**, 165-170.
- Bartlett, A. C., Mattix, E. B. & Wilson, N. M. 1968. Multiple matings and use of sperm in the Boll Weevil, *Anthonomus grandis*. *Annals of the Entomological Society of America*, **61**, 1148-1155.
- Bateman, A. J. 1948. Intrasexual selection in *Drosophila*. *Heredity*, **2**, 349-368.
- Bateman, P. W. 2000. The influence of weapon asymmetry on male-male competition success in a sexually dimorphic insect, the African king cricket *Libanasisidus vittatus* (Orthoptera: Anostomatidae). *Journal of Insect Behavior*, **13**, 157-163.
- Beck, C. W. & Powell, L. A. 2000. Evolution of female mate choice based on male age : are older males better mates? *Evolutionary Ecology Research*, **2**, 107-118.
- Bernasconi, G., Hellriegel, B., Heyland, A. & Ward, P. I. 2002. Sperm survival in the female reproductive tract in the fly *Scathophaga stercoraria* (L.). *Journal of Insect Physiology*, **48**, 197-203.
- Beukeboom, L. W. 1994. Phenotype fitness effects of the selfish B-chromosome, paternal sex-ratio (PSR) in the parasitic wasp *Nasonia vitripennis*. *Evolutionary Ecology*, **8**, 1-24.
- Birkhead, T. R. & Møller, A. P. 1998. *Sperm Competition and Sexual Selection*. London: Academic Press.

- Birkhead, T. R. & Fletcher, F. 1995. Depletion determines sperm numbers in male zebra finches. *Animal Behaviour*, **49**, 451-456.
- Bissoondath, C. J. & Wiklund, C. 1996. Effect of male mating history and body size on ejaculate size and quality in two polyandrous butterflies, *Pieris napi* and *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae). *Functional Ecology*, **10**, 457-464.
- Blum, M. S., Walker, J. B., Callaghan, P. S. & Novak, A. F. 1958. Chemical, insecticidal and antibiotic properties of five ant venom. *Science*, **128**, 306-307.
- Bonduriansky, R. 2001. The evolution of male mate choice in insects: a synthesis of ideas and evidence. *Biological Reviews*, **76**, 305-339.
- Boomsma, J. J., Baer, B. & Heinze, J. 2005. The evolution of male traits in social insects. *Annual Review of Entomology*, **50**, 395-420.
- Boorman, E. & Parker, G. A. 1976. Sperm (ejaculate) competition in *Drosophila melanogaster*, and the reproductive value of females to males in relation to female age et mating status. *Ecological Entomology*, **1**, 145-155.
- Bressac, C. & Chevrier, C. 1998. Offspring and sex ratio are independent of sperm management in *Eupelmus orientalis* females. *Journal of Insect Physiology*, **44**, 351-359.
- Bressac, C., Damiens, D., Brillard, J. P. & Chevrier, C. 2000. Females of birds and hymenoptera: two complementary strategies for in vivo spermatozoa storage and fertilisation. *British Poultry Science*, **41 Sup**, 24-25.
- Brooks, R. & Kemp, D. J. 2001. Can older males deliver the good genes? *Trends in Ecology & Evolution*, **16**, 308-313.
- Bukowski, T. C., Linn, C. D. & Christenson, T. E. 2001. Copulation and sperm release in *Gasteracantha cancriformis* (Araneae: Araneidae): differential male behaviour based on female mating history. *Animal Behaviour*, **62**, 887-895.

C

- Charnov, E. L. 1982. *The theory of sex allocation*. Princeton: Princeton University Press.
- Cheng, L.-I., Howard, R. W., Campbell, J. F., Charlton, R. E., Nechols, J. R. & Ramaswamy, S. 2003. Behavioral Interaction Between Males of *Cephalonomia tarsalis* (Ashmead) (Hymenoptera: Bethyridae) Competing for Females. *Journal of Insect Behavior*, **16**, 625-645.
- Chevrier, C. & Bressac, C. 2002. Sperm storage and use after multiple mating in *Dinarmus basalis* (Hymenoptera : Pteromalidae). *Journal of Insect Behavior*, **15**, 385-398.
- Civetta, A. 1999. Direct visualization of sperm competition and sperm storage in *Drosophila*. *Current Biology*, **9**, 841-844.
- Collins, A. M., Williams, V. & Evans, J. D. 2004. Sperm storage and antioxidative enzyme expression in the honey bee, *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology*, **13**, 141-146.
- Cook, P. A. 1999. Sperm Numbers and Female Fertility in the Moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Insect Behavior*, **12**, 767-779.
- Cordero, A., Santolamazza-Carbone, S. & Utzeri, C. 1995. Male disturbance, repeated insemination and sperm competition in the damselfly *Coenagrion scitulum* (Zygoptera: Coenagrionidae). *Animal Behaviour*, **49**, 437-449.
- Cordoba-Aguilar, A., Uhia, E. & Rivera, A. C. 2003. Sperm competition in Odonata (Insecta): the evolution of female sperm storage and rivals' sperm displacement. *Journal of Zoology*, **4**, 381-398.

D

- Damiens, D. 2001. Caractérisation du stock de spermatozoïdes et stratégies de reproduction chez deux hyménoptères parasitoïdes de bruches. *Thèse de Doctorat*, 169 pages. Université de Tours, France.
- Damiens, D., Bressac, C., Brillard, J. P. & Chevrier, C. 2002. Qualitative aspects of sperm stock in males and females from *Eupelmus orientalis* and *Dinarmus basalis* (Hymenoptera : Chalcidoidea) as revealed by dual fluorescence. *Physiological Entomology*, **27**, 97-102.
- Damiens, D., Bressac, C. & Chevrier, C. 2003. The effect of age on sperm stock and egg laying in the parasitoid wasp, *Dinarmus basalis*. *Journal of Insect Science*, **3**, 1-5.
- Damiens, D. & Boivin, G. 2005. Male reproductive strategy in *Trichogramma evanescens*: sperm production and allocation to females. *Physiological Entomology*, **30**, 241-247.
- Darwin, C. 1859. *On the Origin of Species by Mean of Natural selection*. London: John Murray (1964, facsimile of the 1st edition) Harvard University Press.
- Darwin, C. 1871. *The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex*. New York: Appleton.
- Darwin, C. 1874. *The Descent of Man and Selection in Relation to Sex*. London: John Murray.
- Delisle, J. 1995. Effects of male and female age on the mating success of obliquebanded leafroller *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) under different ecological conditions. *Journal of Insect Behavior*, **8**, 781-799.
- Dewsbury, D. A. 1982. Ejaculate cost and male choice. *The American Naturalist*, **119**, 601-610.
- Dickinson, J. L. 1988. Determinants of paternity in the milkweed leaf beetle. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **23**, 9-19.
- Do Thi Khanh, H. 2001. Modalité et conséquences des accouplements multiples de femelles *Anisopteromalus calandrae*. *Mémoire de DEA*, 30 pages. Université de Tours, France.
- Do Thi Khanh, H., Bressac, C. & Chevrier, C. 2005. Male sperm donation consequences in single and double matings in *Anisopteromalus calandrae*. *Physiological Entomology*, **30**, 29-35.
- Doury, G., Rojas-Rousse, D. & Periquet, G. 1995. Ability of *Eupelmus orientalis* ectoparasitoid larvae to develop on an unparalysed host in the absence of female stinging behaviour. *Journal of Insect Physiology*, **41**, 287-296.

E

- Eady, P. 1994. Sperm transfert and storage in relation to sperm competition in *Callosobruchus maculatus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **35**, 123-129.
- Eady, P. E. 1995. Why do male *Callosobruchus maculatus* beetles inseminate so many sperm? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **36**, 25-32.
- Eberhard, W. G. 1996. *Female Control: Sexual Selection by Cryptic Female Choice*. Princeton: Princeton University Press.
- El Agoze, M., Poirié, M. & Periquet, G. 1995. Precedence of the first male sperm in successive matings in the Hymenoptera *Diadromus pulchellus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **75**, 251-255.

F

- Fawcett, T. W. & Johnstone, R. A. 2003. Optimal assessment of multiple cues. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biological Sciences*, **270**, 1637-1643.

- Fjerdingstad, E. J. & Boomsma, J. J. 1998. Multiple mating increases the sperm stores of *Atta colombica* leafcutter ant queens. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **42**, 257 - 261.
- Foster, W. 1967. Hormonal-mediated nutritional control of sexual behavior in male dung flies. *Science*, **158**, 1596-1597.
- Franck, P., Solignac, M., Vautrin, D., Cornuet, J.-M., Koeniger, G. & Koeniger, N. 2002. Sperm competition and last-male precedence in the honeybee. *Animal Behaviour*, **64**, 503-509.
- Fuller, R. C. 1998. Sperm competition affects male behaviour and sperm output in the rainbow darter. *Proceeding of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **265**, 2365-2371.

G

- Gack, C. & Peschke, K. 1994. Spermathecal morphology, sperm transfer and a novel mechanism of sperm displacement in the rove beetle, *Aleochara curtula* (Coleoptera, Staphylinidae). *Zoomorphology*, **114**, 227-237.
- Gage, A. R. & Barnard, C. J. 1996. Male crickets increase sperm number in relation to competition and female size. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **38**, 349-353.
- Gage, M. J. G. 1991. Risk of sperm competition directly affects ejaculate size in the Mediterranean fruit fly. *Animal Behaviour*, **42**, 1036-1037.
- Gage, M. J. G. 1994. Associations between body size, mating pattern, testis size and sperm lengths across butterflies. *Proceeding of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **258**, 247-254.
- Gage, M. J. G. 1995. Continuous variation in reproductive strategy as an adaptive response to population density in the moth *Plodia interpunctella*. *Proceeding of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **261**, 25-30.
- Galvani, A. & Johnstone, R. 1998. Sperm allocation in an uncertain world. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **44**, 161-168.
- Garcia Saez de Nanclares, C. 1988. Sex ratio and fitness in a parasitic wasp. *Thèse de Doctorat*. Université de London, UK.
- Gauthier, N. 1996. Étude d'un ectoparasitoïde solitaire *Dinarmus basalis* (Hym. Pteromalidae) en situation de compétition intra- et interspécifique : activité reproductrice et réponses comportementales. *Thèse de Doctorat*, 183 pages. Université de Tours, France.
- Godfray, H. C. J. 1994. *Parasitoids, Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton: Princeton University Press.
- Gokhman, V. E., Timokhov, A. V. & Fedina, T. Y. 1999. First evidence for sibling species in *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Russian Entomological Journal*, **7** (for 1998), 157-162.
- Gordh, G. & De Bach, P. 1976. Male inseminative potential in *Aphytis lingnanensis* (Hymenoptera: Aphelinidae). *The Canadian Entomologist*, **108**, 583-589.
- Goshima, S., Kawashima, T. & Wada, S. 1998. Mate choice by males of the hermit crab *Pagurus filholi*: Do males assess ripeness and/or fecundity of females? *Ecological Research*, **13**, 151-161.
- Greeff, J. M. & Parker, G. A. 2000. Spermicide by females: what should males do? *Proceeding of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **267**, 1759-1763.
- Gregory, G. E. 1965. The formation and fate of the spermatophore in the African migratory locust, *Locusta migratoria migratorioides* Reiche and Fairmaire. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, **117**, 33-66.
- Gromko, M. H., Gilbert, D. G. & Richmond, R. C. 1984. Sperm transfer and use in the multiple mating system of *Drosophila*. In: *Sperm competition and the evolution of animal mating systems* (Ed. by Smith, R. L.), pp. 372-427. New York.

Gwynne, D. T. 1984. Male Mating Effort, Confidence of Paternity, and Insect Sperm Competition. In: *Sperm Competition and the Evolution of Animal Mating Systems* (Ed. by Smith, R. L.), pp. 117-149. New York: Academic Press, Inc.

H

Hamilton, W. D. 1979. Wingless and fighting males in fig wasps and others insects. In: *Sexual Selection and Reproductive Competition in Insects* (Ed. by Blum, M. S. B. N. A.), pp. 167-220. New York: Academic Press.

Hansen, T. F. & Price, D. K. 1995. Good genes and old age: Do old mates provide superior genes? *Journal of Evolutionary Biology*, **8**, 759-778.

Hansen, T. F. & Price, D. K. 1999. Age- and sex-distribution of the mutation load. *Genetica*, **106**, 251-262.

Heming-Van Battum, K. E. & Heming, B. S. 1986. Structure, function and evolution of the reproductive system in females of *Hebrus pusillus* and *H. ruficeps* (Hemiptera, Gerromorpha, Hebridae). *Journal of Morphology*, **190**, 121-167.

Holmes, H. B. 1974. Patterns of sperm competition in *Nasonia vitripennis*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, **16**, 789-795.

Hooper, R. E. & Siva-Jothy, M. T. 1996. Last male sperm precedence in a damselfly demonstrated by RAPD profiling. *Molecular Ecology*, **5**, 449-452.

Hosken, D. J., Meyer, E. P. & Ward, P. I. 1999. Internal female reproductive anatomy and genital interactions during copula in the yellow dung fly, *Scathophaga stercoraria* (Diptera: Scathophagidae). *Canadian Journal of Zoology*, **77**, 1975-1983.

Hosken, D. J. & Ward, P. I. 2000. Copula in yellow dung flies (*Scathophaga stercoraria*): investigating sperm competition models by histological observation. *Journal of Insect Physiology*, **46**, 1355-1363.

Hou, M. & Sheng, C. 1999. Fecundity and longevity of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): effects of multiple mating. *Journal of Economic Entomology*, **92**, 569-573.

Howard, R. W. & Baker, J. E. 2003. Morphology and chemistry of Dufour glands in four ectoparasitoids: *Cephalonomia tarsalis*, *C. waterstoni* (Hymenoptera : Bethyridae), *Anisopteromalus calandrae*, and *Pteromalus cerealellae* (Hymenoptera : Pteromalidae). *Comparative Biochemistry and Physiology B*, **135**, 153-167.

Hughes, L., Chang, B. S.-W., Wagner, D. & Pierce, N. E. 2000. Effects of mating history on ejaculate size, fecundity, longevity, and copulation duration in the ant-tended lycaenid butterfly, *Jalmenus evagoras*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **47**, 119 - 128.

Huignard, J. 1985. Importance des pertes dues aux insectes ravageurs des graines: problèmes posés par la conservation des légumineuses alimentaires, source de protéines végétales. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, **20**, 193-199.

Hunter, F. M., Harcourt, R., Wright, M. & Davis, L. S. 2000. Strategic allocation of ejaculates by male Adélie penguins. *Proceeding of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **267**, 1541 - 1545.

I J

Islam, W. 1993. The biology of *Anisopteromalus calandrae* How. - Ectoparasitoid on *Callosobruchus chinensis* L. *Bangladesh Journal of Zoology*, **21**, 123-132.

Jacob, S. & Boivin, G. 2004. Insemination potential of male *Trichogramma evanescens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **113**, 181-186.

- Jennions, M. D. & Petrie, M. 2000. Why do females mate multiply ? A review of the genetic benefits. *Biological Reviews*, **75**, 21-64.
- Ji, J., Choi, W. I. & Ryou, M. I. 2004. Fitness and sex allocation of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae): relative fitness of large females and males in a multi-patch system. *Annals of the Entomological Society of America*, **97**, 825-830.
- Jiménez-Pérez, A. & Wang, Q. 2003. Effect of mating delay on the reproductive performance of *Cnephasia jactatana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Economic Entomology*, **96**, 592–598.
- Jiménez-Pérez, A. & Wang, Q. 2004. Sexual selection in *Cnephasia jactatana* (Lepidoptera: Tortricidae) in relation to age, virginity, and body size. *Annals of the Entomological Society of America*, **97**, 819-824.
- Jones, J. C. 1973. A study on the fecundity of male *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology*, **19**, 435-439.
- Jones, T. M., Balmford, A. & Quinnell, R. J. 2000. Adaptive female choice for middle-aged mates in a lekking sandfly. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biological Sciences*, **267**, 681-686.
- Jones, T. M. & Elgar, M. A. 2004. The role of male age, sperm age and mating history on fecundity and fertilization success in the hide beetle. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biological Sciences*, **271**, 1311-1318.

K

- Kaufmann, T. 1996. Dynamics of sperm transfert, mixing and fertilization in *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: coccinellidae) in Kenya. *Annals of the Entomological Society of America*, **89**, 238-242.
- Kendall, M. S. & Wolcott, T. G. 1999. The influence of male mating history on male-male competition and female choice in mating associations in the blue crab, *Callinectes sapidus* (Rathbun). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **239**, 23-32.
- Kidd, S. A., Eskenazi, B. & Wyrobek, A. J. 2001. Effects of male age on semen quality and fertility : a review of literature. *Fertility and Sterility*, **75**, 237-248.
- Kiefer, B. I. 1969. Phenotypic effects of Y chromosome mutations in *Drosophila melanogaster*. I. Spermiogenesis and sterility of *KL-1* males. *Genetics*, **61**, 157-166.
- King, B. H. 2000. Sperm depletion and mating behavior in the parasitoid wasp *Spalangia cameroni* (Hymenoptera : Pteromalidae). *Great Lakes Entomology*, **33**, 117-127.
- King, P. E. 1962. The structure and action of the spermatheca in *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: pteromalidae). *Proceeding of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **37**, 73-75.
- Kirpatrick, M. & Ryan, M. J. 1991. The evolution of mating preferences and the paradox of the lek. *Nature*, **350**, 33-38.
- Kokko, H. 1998. Good genes, old age and life-history trade-offs. *Evolutionary Ecology*, **12**, 739-750.
- Kraus, F. B., Neumann, P., van, P.-J. & Moritz, R. F. A. 2004. Sperm limitation and the evolution of extreme polyandry in honeybees (*Apis mellifera* L.). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **55**, 494-501.

L

- Labarussias, M. 2005. Etude des stratégies de ponte d'*Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera : Pteromalidae) dans différentes conditions environnementales. *Mémoire de DEA*, 18 pages. Université de Tours, France.

- Lafitte, A. 2002. Conséquences d'accouplements multiples dans des conditions semi-contrôlées chez *Anisopteromalus calandrae*. pp. *Rapport de stage*, 21 pages. Université de Tours, France.
- Lamunyon, C. W. 2000. Sperm storage by females of the polyandrous noctuid moth *Heliothis virescens*. *Animal Behaviour*, **59**, 395-402.
- Lamunyon, C. W. 2001. Determinants of sperm precedence in a noctuid moth *Heliothis virescens*: a role for male age. *Ecological Entomology*, **26**, 388-394.
- Lefevre, G. & Jonsson, U. B. 1962. Sperm transfert, storage, displacement and utilization in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, **47**, 1719-1736.
- Lewis, S. M. 2004. Multiple mating and repeated copulations: effects on male reproductive success in red flour beetles. *Animal Behaviour*, **67**, 799-804.
- Lorch, P. D., Wilkinson, G. S. & Reillo, P. R. 1993. Copulation duration and sperm precedence in the stalk-eyed fly *Cyrtodiopsis whitei* (Diptera : Diopsidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **32**, 303-311.

M

- Manning, J. T. 1985. Choosy females and correlates of male age. *Journal of Theoretical Biology*, **116**, 349-354.
- Manning, J. T. 1989. Age-advertisement and the evolution of the peacock's train. *Journal of Evolutionary Biology*, **2**, 379-384.
- Manning, J. T. & Chamberlain, A. T. 1994. Sib competition and sperm competitiveness: an answer to 'why so many sperms?' and the recombination/sperm number correlation. *Proceeding of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **256**, 177-182.
- Marconato, A. & Shapiro, D. Y. 1996. Sperm allocation, sperm production and fertilization rates in the bucktooth parrotfish. *Animal Behaviour*, **52**, 971-980.
- Martin, O. Y., Leugger, R. R., Zeltner, N. & Hosken, D. J. 2003. Male age, mating probability and mating costs in the fly *Sepsis cynipsea*. *Evolutionary Ecology Research*, **5**, 119-129.
- Mesterton-Gibbons, M. 1999. On sperm competition games: raffles and roles revisited. *Journal of Mathematical Biology*, **39**, 91-108.
- Michereff, M. F. F., Vilela, E. F., Filho, M. M., Nery, D. M. S. & Thièbaut, J. T. 2004. Effects of delayed mating and male mating history on the reproductive potential of *Leucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae). *Agricultural and Forest Entomology*, **6**, 241-247.
- Møller, A. P. 1998. Sperm competition and sexual selection. In: *Sperm Competition and Sexual Selection* (Ed. by T. R. Birkhead & Møller, A. P.), pp. 55-90. London: Academic Press.
- Montrose, V. T., Harris, W. E. & Moore, P. J. 2004. Sexual conflict and cooperation under naturally occurring male enforced monogamy. *Journal of Evolutionary Biology*, **17**, 443-452.

N

- Nadel, H. & Luck, R. F. 1985. Span of female emergence and male sperm depletion in the female-biased, quasi-gregarious parasitoid *Pachycrepoideus vindemiae* (Hymenoptera : Pteromalidae). *Annals of the Entomological Society of America*, **78**, 410-414.
- Neff, B. D., Fu, P. & Gross, M. R. 2003. Sperm investment and alternative mating tactics in bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *Behavioral Ecology*, **14**, 634-641.
- Neff, B. D. & Wahl, L. M. 2004. Mechanisms of sperm competition: testing the fair raffle. *Evolution*, **58**, 1846-1851.

Nicholls, E. H., Burke, T. T. R. & Birkhead, T. R. 2001. Ejaculate allocation by male sand martins, *Riparia riparia*. *Proceeding of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **268**, 1265-1270.

O

Oberhauser, K. S. 1988. Male monarch butterfly spermatophore mass and mating strategies. *Animal Behaviour*, **36**, 1384-1388.

Ofuya, T. I. 1995. Multiple mating and its consequences in males of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, **31**, 71-75.

Oldroyd, B. P., Clifton, M. J., Wongsiri, S., Rinderer, T. E., Sylvester, H. A. & Crozier, R. H. 1997. Polyandry in the genus *Apis*, particularly *Apis andreniformis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **40**, 17-26.

Olivieri, G., Avallone, G. & Pica, L. 1970. Sperm competition and sperm loss in *Drosophila melanogaster* females fertilized by YXY-O males. *Genetics*, **64**, 323-335.

Ono, T., Siva-Jothy, M. T. & Kato, A. 1989. Removal and subsequent ingestion of rival's semen during copulation in a tree cricket. *Physiological Entomology*, **14**, 195-202.

Orr, A. C. & Rutowski, R. L. 1991. The function of the sphragis in *Cressida cressida* (Fab) (Lepidoptera, Papilionidae): a visual deterrent to copulation attempts. *Journal of Natural History*, **25**, 703-710.

P Q

Parker, G. A. 1970. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biological Reviews*, **45**, 525-567.

Parker, G. A. 1982. Phenotype limited evolutionarily stable strategies. In: *Current Problems in Sociobiology* (Ed. by Group, K. s. C. S.), pp. 173-201. Cambridge: University Press.

Parker, G. A. 1984. Sperm competition and the evolution of animal mating strategies. In: *Sperm Competition and the Evolution of Animal Mating Systems* (Ed. by Smith, R. L.), pp. 2-60. New York: Academic Press, Inc.

Parker, G. A. 1990a. Sperm competition games : raffles and roles. *Proceeding of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **242**, 120-126.

Parker, G. A. 1990b. Sperm Competition Games: Sneaks and Extra-Pair Copulations. *Proceeding of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **242**, 127-133.

Parker, G. A. 1998. Sperm competition and the evolution of ejaculates : Towards a theory base. In: *Sperm Competition and Sexual Selection* (Ed. by Møller, T. R. B. A. P.), pp. 3-54. London: Academic Press.

Parker, G. A. 2000. Sperm competition games between related males. *Proceeding of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **267**, 1027 - 1032.

Parker, G. A., Ball, M. A., Stockley, P. & Gage, M. J. G. 1996. Sperm competition games: individual assessment of sperm competition intensity by group spawners. *Proceeding of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **263**, 1921-1297.

Parker, G. A., Ball, M. A., Stockley, P. & Gage, M. J. G. 1997. Sperm competition games: a prospective analysis of risk assessment. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biological Sciences*, **264**, 1793-1802.

Partridge, L. & Endler, J. A. 1987. Life history constraints on sexual selection. In: *Sexual Selection: Testing the Alternatives* (Ed. by Andersson, J. W. B. M. B.), pp. 265-277. Chichester, UK: Wiley.

Pérez-Lachaud, G. & Campan, M. 1994. Comportement sexuel et stratégie reproductrice chez le *Chryseida bennetti* Burks (Hymenoptera : Eurytomidae), parasitoïdes de la bruche du haricot. I. Effet de l'âge des partenaires. *Canadian Journal of Zoology*, **72**, 126-134.

- Phillips, T., Baker, J. & Maegdan, B. 2003. Biological control of stored-product pests. In: *IPM of Alaska*.
- Pitnick, S. & Markow, T. A. 1994. Male gametic strategies: sperm size, testes size, and the allocation of ejaculate among successive mates by the sperm-limited fly *Drosophila pachea* and its relatives. *The American Naturalist*, **143**, 785-819.
- Popham, E. J. 1965. The functional morphology of the reproductive organs of the common earwig (*Forficula auricularia*) and other Dermaptera with reference to the natural classification of the order. *Journal of Zoology (London)*, **146**, 1-43.
- Porter, K. R. 1961. The ground substance: observation from electron microscopy. In: *In : The cell - II Cells and their component parts* (Ed. by Brachet, J. & Mirsky, A. E.), pp. 621-675. London: Academic Press.
- Price, C. S., Dyer, K. A. & Coyne, J. A. 1999. Sperm competition between *Drosophila* males involves both displacement and incapacitation. *Nature*, **400**, 449-452.
- Quicke, D. L. J. 1997. *Parasitic wasps*. London: Chapman & Hall.

R

- Radwan, J. 2003. Male age, germline mutations and the benefits of polyandry. *Ecology Letters*, **6**, 581-586.
- Rafinski, J. & Osikowski, A. 2002. Sperm mixing in the Alpine newt (*Triturus alpestris*). *Canadian Journal of Zoology*, **80**, 1293-1298.
- Reichardt, A. K. & Wheeler, D. E. 1996. Multiple mating in the ant *Acromyrmex versicolor*: a case of female control. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **38**, 219-225.
- Reinhardt, K. & Meister, J. 2000. Low numbers of sperm retained in the spermatheca may explain the high values of sperm precedence in the migratory locust, *Locusta migratoria* (Latr.). *Journal of Insect Behavior*, **13**, 839-849.
- Reinhold, K. & von Helversen, D. 1997. Sperm number, spermatophore weight and remating in the bushcricket *Poecilimon veluchianus*. *Ethology*, **103**, 12-18.
- Ridley, M. 1989. The incidence of sperm displacement in insects: Four conjectures, one corroboration. *Biological Journal of the Linnean Society*, **38**, 349-367.
- Rodriguez, V. 1994. Function of the spermathecal muscle in *Chelymorpha alternans* Boheman (Coleoptera : Chrysomelidae : Cassidinae). *Physiological Entomology*, **19**, 198-202.
- Rogers, C. E. & Marti, O. G. 1997. Once-mated beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): Effects of age at mating on fecundity, fertility, and longevity. *Environmental Entomology*, **26**, 585-590.
- Rothschild, M. L. 1991. Arrangement of sperm within the spermatheca of fleas, with remarks on sperm displacement. *Biological Journal of the Linnean Society*, **43**, 313-323.
- Rutowski, R. L., Gilchrist, G. W. & Terkanian, B. 1987. Female butterflies mated with recently mated males show reduced reproductive output. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **20**, 319-322.

S

- Sadek, M. M. 2001. Polyandry in field-collected *Spodoptera littoralis* moths and laboratory assessment of the effects of male mating history. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **98**, 165-172.
- Sakaluk, S. K. 1986. Sperm competition and the evolution of nuptial feeding behavior in the cricket, *Grylloides supplicans* (Walker). *Evolution*, **40**, 584-593.
- Sakaluk, S. K. & Eggert, A.-K. 1996. Female control of sperm transfer and intraspecific variation in sperm precedence : antecedents to the evolution of a courtship food gift. *Evolution*, **50**, 694-703.

- Santolamazza Carbone, S. & Cordero Rivera, A. 2003. Fertility, sperm use and paternity in the Eucalyptus snout-beetle *Gonipterus scutellatus*: females might benefit from sperm mixing. *Ethology, Ecology and Evolution*, **15**, 283-294.
- Savalli, U. M. & Fox, C. W. 1999. The effect of male mating history on paternal investment, fecundity and female remating in the seed beetle *Callosobruchus maculatus*. *Functional Ecology*, **13**, 169-177.
- Savidan-Niederer, A. 2002. Tritrophic interactions in maize storage systems. *Thèse de Doctorat*, 223 pages. Université de Neuchâtel, Suisse.
- Schlaepfer, M. A. & McNeil, J. N. 2000. Are virgin male lepidopterans more successful in mate acquisition than previously mated individuals? A study of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *The Canadian Journal of Zoology*, **78**, 2045-2050.
- Schwartz, J. M. 1991. Effect of sexual experience on male mating success in *Drosophila silvestris*. *Animal Behaviour*, **42**, 1017-1019.
- Sever, D. M. 1992. Spermiophagy by the spermathecal epithelium of the salamander *Eurycea cirrigera*. *Journal of morphology*, **212**, 281-290.
- Sever, D. M., Tait, C. K., Diller, L. V. & Burkholder, L. 2004. Ultrastructure of the annual cycle of female sperm storage in spermathecae of the torrent salamander, *Rhyacotriton variegatus* (Amphibia : rhyacotritonidae). *Journal of Morphology*, **261**, 1-17.
- Simmons, L. W. 1986. Female choice in the field cricket, *Gryllus bimaculatus* (De Geer). *Animal Behaviour*, **34**, 1463-1470.
- Simmons, L. W. 1987. Sperm competition as a mechanism of female choice in the field cricket, *Gryllus bimaculatus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **21**, 197-202.
- Simmons, L. W. 1995a. Correlates of male quality in the field cricket, *Gryllus campestris* L.: age, size, and symmetry determine pairing success in field populations. *Behavioral Ecology*, **6**, 376-381.
- Simmons, L. W. 1995b. Male bushcrickets tailor spermatophores in relation to their remating intervals. *Functional Ecology*, **9**, 881-886.
- Simmons, L. W. 1995c. Relative parental investment, potential reproductive rates, and the control of sexual selection in katydids. *The American Naturalist*, **145**, 797-808.
- Simmons, L. W. 2001. *Sperm Competition and Its Evolutionary Consequences in the Insects*. Princeton & Oxford: Princeton University Press.
- Simmons, L. W., Beesley, L., Lindhjem, P., Newbound, D., Norris, J. & Wayne, A. 1999a. Nuptial feeding by male bushcrickets: An indicator of male quality ? *Behavioral Ecology*, **10**, 263-269.
- Simmons, L. W., Parker, A. G. & Stockley, P. 1999b. Sperm displacement in the yellow dung fly, *Scatophaga stercoraria*: An investigation of male and female processes. *The American Naturalist*, **153**, 302-314.
- Simmons, L. W. & Siva-Jothy, M. T. 1998. Sperm Competition in Insects: Mechanisms and the Potential for Selection. In: *Sperm Competition and Sexual Selection* (Ed. by Møller, T. R. B. A. P.), pp. 341-434. London: Academic Press.
- Simmons, L. W., Teale, R. J., Maier, M., Standish, R. J., Bailey, W. J. & Withers, P. C. 1992. Some costs of reproduction for male bushcrickets, *Requena verticalis* (Orthoptera: Tettigoniidae): Allocating resources to mate attraction and nuptial feeding. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **31**, 57-62.
- Simmons, L. W. & Zuk, M. 1992. Variability in call structure and pairing success of male field crickets, *Gryllus bimaculatus*: the effects of age, size and parasite load. *Animal Behaviour*, **44**, 1145-1152.
- Sivinski, J. 1984. Sperm in Competition. In: *Sperm Competition and the Evolution of Animal Mating Systems* (Ed. by Smith, R. L.), pp. 86-115. Florida: Academic Press, Inc.
- Sivinski, J. 1997. Ornaments in the Diptera. *Florida Entomologist*, **80**, 142-164.

Smith, L. 1994. Temperature influences functional response of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitizing maize weevil larvae in shelled corn. *Annals of the Entomological Society of America*, **87**, 849-855.

Smith, L., Weaver, D. K. & Arbogast, R. T. 1995. Suitability of the maize weevil and angoumois grain moth as hosts for the parasitoids *Anisopteromalus calandrae* and *Pteromalus cerealellae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **76**, 171-177.

T

Taylor, P. W., Kaspi, R., Mossinson, S. & Yuval, B. 2001. Age-dependent insemination success of sterile Mediterranean fruit flies. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **98**, 27-33.

Thornhill, R. 1983. Cryptic female choice tactics in the scorpionfly *Harpobittacus nigriceps*. *The American Naturalist*, **122**, 765-788.

Thornhill, R. & Alcock, J. 1983. *The Evolution of Insect Mating Systems*. Cambridge, Massachusetts & London: Harvard University Press.

Tomkins, J. L. & Simmons, L. W. 2000. Sperm competition games played by dimorphic male beetles: fertilization gains with equal mating access. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biological Sciences*, **267**, 1547-1553.

Trivers, R. L. 1972. Parental investment and sexual selection. In: *Sexual selection and the descent of man*. (Ed. by Campbell, B.), pp. 136-179. Chicago: Aldine Pub. Co.

V

van den Assem, J. & Feuth-De Bruijn, E. 1977. Second matings and their effect on the sex ratio of the sex ratio of the offspring in *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **21**, 23-28.

van den Assem, J., Gijswijt, M. J. & Nubel, B. K. 1980. Observations on courtship and mating strategies in a few species of parasitic wasps (Chalcidoidea). *Netherlands Journal of Zoology*, **30**, 208-227.

van den Assem, J., van Iersel, J. J. A. & Los-den Hartogh, R. L. 1989. Is being large more important for female than for male parasitic wasps? *Behaviour*, **108**, 160-195.

Vardell, H. H. & Brower, J. H. 1978. Sperm precedence in *Tibolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Kansas Entomological Society*, **51**, 187-190.

Vladi'c, T. V. & Järvi, T. 2001. Sperm quality in the alternative reproductive tactics of Atlantic salmon: the importance of the loaded raffle mechanism. *Proceeding of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **268**, 2375 - 2381.

von Helversen, D. & von Helversen, O. 1991. Pre-mating sperm removal in the bushcricket *Metaplastes ornatus* Ramme 1931 (Orthoptera, Tettigonoidea, Phaneropteridae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **28**, 391-396.

W

Waage, J. K. 1986. Family planning in parasitoids: adaptative patterns of progeny and sex allocation. In: *Insect Parasitoids* (Ed. by Greathead, J. W. a. D.), pp. 63-95. London: Academic Press.

Ward, P. I. 1993. Females influence sperm storage and use in the yellow dung fly *Scathophaga stercoraria* (L.). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **32**, 313-319.

Watanabe, M., Wiklund, C. & Bon'no, M. 1998. The Effect of Repeated Matings on Sperm Numbers in Successive Ejaculates of the Cabbage White Butterfly *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae). *Journal of Insect Behavior*, **11**, 559-570.

- Watson, P. J. & Thornhill, R. 1994. Fluctuating asymmetry and sexual selection. *Trends in Ecology & Evolution*, **9**, 21-25.
- Wedell, N. 1994. Dual function of the bushcricket spermatophore. *Proceeding of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **258**, 181-185.
- Wedell, N. & Cook, P. A. 1999. Strategic sperm allocation in the small white butterfly *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae). *Functional Ecology*, **13**, 85-93.
- Wedell, N. & Ritchie, M. G. 2004. Male age, mating status and nuptial gift quality in a bushcricket. *Animal Behaviour*, **67**, 1059-1065.
- Wheeler, D. E. & Krutzsch, P. H. 1992. Internal reproductive system in adult males of the genus *Camponotus* (Hymenoptera: Formicidae: Formicinae). *Journal of Morphology*, **211**, 307-317.
- Woodhead, A. P. 1984. Effect of duration of larval development on sexual competence in young adult male *Diploptera punctata*. *Physiological Entomology*, **9**, 473-477.

Y Z

- Yokoi, N. 1990. The sperm removal behaviour of the yellow spotted longicorn beetle *Psacotha hilaris* (Coleoptera: Cerambycidae). *Applied Entomological Zoology*, **25**, 383-388.
- Zuk, M. 1988. Parasite load, body size, and age of wild-caught male field crickets (Orthoptera: Gryllidae): effects on sexual selection. *Evolution*, **42**, 969-976.

ANISOPTEROMALUS CALANDRAE :
UN MODÈLE POUR L'ÉTUDE DU SUCCÈS REPRODUCTEUR DES MÂLES

La valeur sélective (succès reproducteur) du mâle se traduit par son **nombre d'accouplements** et sa **descendance obtenue par accouplement** (Dewsbury, 1982; Simmons, 2001). Le succès reproducteur d'un mâle dépend essentiellement du nombre de ses spermatozoïdes qui réussissent la fécondation des œufs. En situation de compétition, un mâle doit maximiser son succès reproducteur par rapport à ses rivaux. Chez les insectes, lors des accouplements multiples de la femelle, il peut y avoir une compétition spermatique entre les éjaculats de différents mâles au sein de l'organe(s) de stockage. Le principal outil d'étude de la **compétition spermatique** est le suivi de la paternité des descendants. Un **mutant récessif** du caractère de la couleur des yeux (yeux rouges) a été utilisé pour étudier les différences dans la capacité d'accouplement et de fertilisation chez les mâles *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera, Chalcidoidea, Pteromalidae). Ce travail de laboratoire a porté sur l'étude du **succès reproducteur des mâles** en relation avec leur **réserve de spermatozoïdes disponible**. Notre étude a porté dans un premier temps sur la **quantification** du stock de spermatozoïdes des mâles en fonction de **différents traits d'histoire de vie** (âge, expérience sexuelle) et de leur **phénotype**. Dans un second temps, l'**étude du succès reproducteur des mâles** en relation avec leur nombre de spermatozoïdes disponibles a été réalisée lors d'**accouplements simples**, d'**accouplements multiples** et en **situation de compétition** entre deux mâles. Les conséquences des accouplements doubles de la femelle sur la paternité des descendants des mâles de statuts différents (vierges 1 jour, vierges 21 jours, ou sexuellement expérimentés) ont été identifiées par l'utilisation du marqueur génétique de paternité (la couleur des yeux).

Les résultats montrent que **(1)** les mâles aux yeux rouges (R) et les mâles aux yeux foncés (W) sont différents dans leur capacité d'accouplement mais que les femelles R s'accouplent indifféremment avec les mâles des deux phénotypes. **(2)** Le comptage des spermatozoïdes dans les vésicules séminales des mâles vierges de 1 jour montre que les mâles R ont environ 1,46 fois plus de spermatozoïdes que les mâles W (4545 vs 3116). Les mâles expérimentés ont seulement 15% à 25% du stock initial d'un mâle vierge du même âge. Un mâle vierge de 21 jours a environ 1,8 fois plus de spermatozoïdes qu'un mâle vierge de 1 jour dans les deux morphes. **(3)** Après un accouplement simple des mâles, les nombres moyens de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque des femelles ne sont pas différents entre eux (en moyenne 143 spermatozoïdes). **(4)** Les femelles réalisant des accouplements doubles n'augmentent pas leur stockage spermatique (193 spermatozoïdes pour deux accouplements vs 161 pour un), ni leur fécondité (respectivement 130 vs 108 descendants). **(5)** Un accouplement est suffisant pour assurer leur fécondité durant la vie reproductive des femelles et la sex-ratio est biaisée en faveur des femelles (environ 0,79). Les femelles accouplées avec les deux mâles de morphes différents produisent des descendants des deux phénotypes durant leur vie reproductive, quel que soit l'ordre des mâles dans la séquence de copulation. **(6)** Après une compétition entre deux mâles différents par leur phénotype, par leur âge ou par leur expérience sexuelle, c'est toujours le mâle ayant le plus de spermatozoïdes dans les vésicules séminales qui est le plus représenté dans la descendance quelle que soit la combinaison d'accouplement. Ces résultats concernant la **paternité des descendants** après une compétition entre deux mâles correspondent parfaitement à une **loterie honnête**, « *fair raffle* » proposée par Parker en 1990. **(7)** Quant à la **quantité de spermatozoïdes transférés** à la femelle, **aucune augmentation ni diminution** n'a été mise en évidence contrairement à ce qui est prédit par les théories concernant le risque de compétition spermatique ou l'intensité de compétition spermatique.

Mots-clés : *Hyménoptère, fitness du mâle, stock de spermatozoïdes, compétition spermatique, paternité des descendants, marqueur phénotypique.*

Hong DO THI KHANH

ANISOPTEROMALUS CALANDRAE :
AN EXPERIMENTAL STUDY OF MALE REPRODUCTIVE SUCCESS

The **male fitness** (reproductive success) means by **mating number** and **offspring obtained by mate** (Dewsbury, 1982; Simmons, 2001). It depends on the number of spermatozoa that succeed in egg fertilization. In competition, a male should optimize his reproductive success according to rivals. Through multiple mating of a female insect, sperm competition may occur between ejaculates of different males in female sperm store(s). Study tool of **sperm competition** is mainly the determination of offspring paternity. A **recessive mutant** of eye colour (red eyes) was used to investigate the differences in male mating capacity and fertilization success in the parasitoid wasp *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera, Chalcidoidea, Pteromalidae). This work concerned the study of **male reproductive success** in relation to their **available sperm supplies**. First, the **quantification** of male sperm supply was performed in function of **male life history** (age or mating history) and **phenotype**. Second, the relationship between **male reproductive success** and sperm supply was examined through **single mating, multiple mating** and after **competition** between two males. Consequences of female double matings on the offspring paternity of males having different statuses (either young, aged, or with sexual experience) was measured by the use of this paternity genetic marker (eye colour).

Experimentally, results showed that **(1)** red-eyed (R) and wild-eyed (W) males are different in mating capacity but females mate normally with males of both phenotypes. **(2)** Sperm count in seminal vesicles evidenced that one-day-old R virgin males have more sperm than W ones (approximately 1.46 times greater, 4545 vs 3116 spermatozoa). Experienced males have only 15% to 25% from the initial sperm store of virgin males. 21-days-old virgin males have 1.8 times more sperm than one-day-old ones in both morphs. **(3)** The number of sperm stored by females in spermatheca after one mating does not differ (143 spermatozoa in average). **(4)** Double-mated females increase neither sperm storage (193 spermatozoa after double mating vs 161 after single) nor fecundity (respectively 130 vs 108 offspring). **(5)** One mating ensures life-time fecundity of females, and offspring sex ratio is anyway female-biased (about 0.79). Double mated females with two males of different phenotypes produce offspring of both phenotypes, whatever the mating order of males. **(6)** In competition of two males, any mating pattern always produce more offspring of the male having more sperm in seminal vesicles, whatever the male phenotype, age or mating history. In *Anisopteromalus calandrae*, **offspring paternity distribution** (after female double matings) is consistent with *a fair raffle process* of sperm from both donors, proposed by Parker in 1990. **(7)** Finally, results do prove **neither augmentation nor diminution of transferred sperm quantity** by males to females, opposed to sperm competition risk or intensity theories.

Key-words: *Hymenoptera, male fitness, sperm supplies, sperm competition, offspring paternity, paternity phenotypic marker.*