



HAL
open science

**LA DISCRIMINATION INTERSPECIFIQUE PAR
EUPELMUS VUILLETI (HYMENOPTERA :
EUPELMIDAE) DES HOTES PARASITES PAR
DINARMUS BASALIS (HYMENOPTERA :
PTEROMALIDAE).**

Bruno Jaloux

► **To cite this version:**

Bruno Jaloux. LA DISCRIMINATION INTERSPECIFIQUE PAR EUPELMUS VUILLETI (HYMENOPTERA : EUPELMIDAE) DES HOTES PARASITES PAR DINARMUS BASALIS (HYMENOPTERA : PTEROMALIDAE).. Ecologie, Environnement. Université François Rabelais - Tours, 2004. Français. NNT: . tel-00108221

HAL Id: tel-00108221

<https://theses.hal.science/tel-00108221>

Submitted on 20 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.



**UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS
TOURS**

Ecole Doctorale : Santé, Sciences, Technologie

Année Universitaire : 2003-2004

**THESE POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE TOURS**

Discipline : Sciences de la Vie

Présentée et soutenue publiquement par

Bruno Jaloux

le 17 juin 2004

**LA DISCRIMINATION INTERSPECIFIQUE PAR *EUELMUS VUILLETI*
(HYMENOPTERA : EUELMIDAE) DES HOTES PARASITES PAR
DINARMUS BASALIS (HYMENOPTERA : PTEROMALIDAE).**

Directeur de thèse : Jean-Paul Monge

Betty BENREY	Research Leader	- Université de Neuchâtel	Examinatrice
Jérôme CASAS	Professeur	- Université de Tours	Examinateur
Christine ERRARD	Maître de conférences (HDR)	- Université de Tours	Examinatrice
Laurent LAPCHIN	Directeur de Recherche	- INRA Antibes	Rapporteur
Jean-Paul MONGE	Professeur	- Université de Tours	Directeur de Thèse
Joan van BAAREN	Maître de conférences (HDR)	- Université de Rennes 1	Rapporteur

ABSTRACT

In the parasitoid way of life, hosts represent a limited resource. Females of parasitoid species will compete either with conspecific or allospecific female for reaching this resource. The competition between individuals foraging for the same hosts limits the fitness of each competitor. Foraging strategies have been selected to reduce consequences of the competition. A few species adopt, in interspecific competition, an original strategy named kleptoparasitism. A kleptoparasitoid female searches actively for the hosts parasitised by a concurrent species, destroys the egg and lays its own egg instead of the competitor's one. This strategy requires the ability to recognize the host parasitised by the competitor. *Eupelmus vuilleti*, competing with *Dinarmus basalis*, seems to act as a kleptoparasitoid.

We have studied the mechanisms allowing *E. vuilleti* to discriminate between unparasitised hosts and hosts parasitised by *D. basalis*. *E. vuilleti* recognizes chemical cues left by *D. basalis* on the tegument of the seed containing the host. These cues are composed of hydrocarbons produced by the Dufour gland and found on the cuticle of the *D. basalis* female. These secretions are attractive for the *E. vuilleti* females. Another protean secretion, produced by the venom gland seems to be active and stimulate the egg laying behavior of the *E. vuilleti* females.

We have then studied some evolutive aspects to understand which processes would have been involved in the selection of this interspecific discrimination. The recognition is specific of the sympatric populations of *D. basalis*. Reusing hosts parasitised by the *D. basalis* female involves some benefits for the *E. vuilleti* female. In particular, reusing the hole drilled by *D. basalis*, which have a more efficient ovipositor, reduces the time and the energy spent to drill the seed, and could allow *E. vuilleti* females to access hosts inaccessible with their own ovipositor. These benefits constitute an adaptative advantage that could have lead to the selection of the kleptoparasitism in this species. However, kleptoparasitism doesn't seem to be the best strategy, except when competition between the two species is strong. The selection of interspecific discrimination seems to be linked to particular competitive ability of the two species. A high genetic variability and behavioral plasticity could allow the female to adapt their strategy to the local competition intensity.

KEY-WORDS

Parasitoid; *Eupelmus vuilleti*; *Dinarmus basalis*; Host discrimination; Kleptoparasitism; Dufour gland; Cuticular hydrocarbons; Venom gland.



Femelle *Dinarmus basalis* exploitant une larve de *Callosobruchus maculatus* contenue dans une graine de Niébé ($\times 50$).

**LA DISCRIMINATION INTERSPECIFIQUE PAR *EUELMUS VUILLETI*
(HYMENOPTERA : EUELMIDAE) DES HOTES PARASITES PAR
DINARMUS BASALIS (HYMENOPTERA : PTEROMALIDAE).**



Femelle *Eupelmus villeti* prospectant à l'aide de son ovipositeur l'intérieur d'une gélule à la recherche d'un œuf de *Dinarmus basalis* ($\times 50$).

❧ Remerciements ❧

Voilà, j'arrive aux termes de cette aventure. J'attendais ce moment depuis longtemps. Ecrire les remerciements, c'est un peu comme le dessert, le bouquet final, le happy end, le but dans le temps additionnel, la fin de la route, c'est tout ce que j'aime. Je ne vais pas vous faire languir plus longtemps, voici donc toutes les personnes qui m'ont aidé à en arriver là. Si vous ne figurez pas dans cette liste, deux possibilités : Soit vous ne m'avez pas aidé, soit je vous ai oublié. Dans ce dernier cas, je vous présente mes plus plates excuses.

Je tiens à remercier, en premier lieu, les membres du jury :

- *Jérôme Casas* pour m'avoir permis de réaliser cette thèse au sein de son laboratoire et pour avoir accepté un peu dans l'urgence de participer à ce jury.
- *Jean-Paul Monge* pour son encadrement malgré ses nombreuses responsabilités (encore un effort, et vous aurez plus de casquettes que Joey Starr).
- *Christine Errard*, pour m'avoir initié à l'analyse chimique par Chromatographie Gazeuse, et m'avoir fait part de son expérience au sujet de la communication chez les fourmis.
- *Joan van Baaren* d'avoir accepté d'être rapporteur et pour l'attention portée à la lecture de mon manuscrit.
- *Laurent Lapchin* d'avoir accepté d'être rapporteur et pour la pertinence de ses remarques.
- *Betty Benrey*, d'avoir accepté de participer à ce jury pour lui donner une dimension internationale.

Je remercie chaleureusement les personnes ayant collaboré à mon travail :

- *Abraham Hefetz* pour avoir analysé les spectres de masse avec une facilité déconcertante, du grand art ! Merci de votre simplicité et de votre aide.
- *Jacques Huignard*, un jeune étudiant fougueux à qui je prédis une carrière magnifique. Merci pour vos conseils et pour m'avoir permis de finaliser cette publication. Bonne et heureuse retraite.

- **Nathalie, Jean-philippe et Ingrid** pour leurs conseils et pour m'avoir dépanner chaque fois que la machine inventait une nouvelle panne. C'est fou l'imagination que peut avoir une GC-MS.
- **Fabrice**, pour les élevages et pour ton enthousiasme quotidien. Promis, je range avant de partir.
- **Corinne** pour les électrophorèses. J'espère que tout ce passe bien en Italie.
- Mes étudiantes espagnoles, **Paula et Brianda** (Mr Monge, j'avais demandé des suédoises). Vous avez fait du bon travail, je suis fier de vous et viva España ! Merci à **Cathy** pour les corrections en anglais.
- **Philippe** pour l'analyse mathématique de mes résultats. J'espère que ton nouveau travail te plaît et que ton élevage de chiens en forme de poney fonctionne.
- **Dinar' et Eupel'**, avec le temps, nous sommes devenus intimes (Salut Dinar', salut Eupel').
- **Les acariens**, qui ont participé à leur manière à ma thèse et sans qui vraiment, ça aurait été trop facile.
- Les différents laboratoires m'ayant fait parvenir des parasitoïdes (**Université de Rennes 1, du Bénin, de Neufchatel, de Rajshahi et de Tsukuba**). Mr Monge n'a jamais voulu me payer un tour du monde pour les collecter moi-même, quelle honte !
- **Anne-Geneviève Bagnères et Eric Thibout** pour leur participation à mon comité de thèse.

Je salut au passage tous les membres du laboratoire et plus particulièrement :

- **Chantal et Fred** pour m'avoir réellement donner envie d'enseigner. Chantal, je dois te l'avouer, c'est moi qui ai débranché le congélateur (non, c'est une blague). Bon courage à Fred pour l'année prochaine.
- **Seb**, bien sûr. Bon d'accord, tu es débutant, je te laisse 5 sandres d'avance. Coucou à **Dali**.
- **Carole**, pour ton aide lors des TPs. La reine de la sangsue !!
- **Christine**, ma secrétaire préférée (je vais avoir besoin de votre aide pour relier les manuscrits).
- Mes sympathiques voisins de bureau **Sylvain et Arnold**.
- Les glorieux anciens et les étrangers de passages, **Mhémard, Thierry, Yann, Guillaume, Tristan, Armelle, Faïza, Sébastien, Antoine, Ahmed**. Je garde de vous des souvenirs inoubliables.

Enfin un grand merci à ceux qui m'ont soutenu tout au long de ma thèse :

- *Papa et maman, Vince et Audrey, Ben, Claire et Patrick, tonton Claude. Léchouille à Iris.*
- *Mon autre famille : Puri, Miguel, Miguel Angel et Yolanda, Oscar, Carmen et Oscarito, Jaime, Laura, Tono, Cristobal. Hasta pronto !*
- *Les copains de quand on était jeune et fou : Harry, Olivier, Stéph, Nico, Anne-Ségo, Gwen.*
- *Les amis : Juju, Guillaume, Virginie, Aurélie, Kiko, Almu, Gus, Titilit, Chamo, Anna, Greg.*
- *Toi lecteur, que j'ai peut être oublié.*
- *Ma Lolita. Heureusement que tu étais là. Gros bisous.*

❧ Sommaire ❧

INTRODUCTION GENERALE.....	1
1- Les modalités de la compétition interspécifique.....	1
2- La compétition chez les Hyménoptères parasitoïdes.....	3
3- Capacité de discrimination et stratégies d'exploitation.....	4
4- La compétition interspécifique entre <i>D. basalis</i> et <i>E. vuilleti</i>	9
5- La problématique étudiée.....	10
CHAPITRE 1 : MATERIELS ET METHODES.....	12
A- Le mode de vie parasitoïde.....	12
B-Présentation du système tritrophique.....	14
1- La plante : <i>Vigna unguiculata</i>	14
2- Le phytophage hôte : <i>Callosobruchus maculatus</i>	17
3- Les parasitoïdes : <i>Dinarmus basalis</i> et <i>Eupelmus vuilleti</i>	18
3-1 <i>Dinarmus basalis</i>	18
3-2 <i>Eupelmus vuilleti</i>	25
3-3 Elevages au laboratoire.....	29
C- Protocole expérimental.....	31
1- Choix du test biologique.....	31
2- Définition du protocole de test biologique.....	32
3- Traitement des données.....	35
CHAPITRE 2 : MECANISMES DE LA DISCRIMINATION INTERSPECIFIQUE.....	39
A- Etude préliminaire de la discrimination interspécifique.....	40
1- Mise en évidence de la discrimination.....	41
2- Influence de l'âge des femelles <i>E. vuilleti</i> sur l'expression de la discrimination interspécifique.....	43
3- Influence du délai entre les pontes sur l'expression de la discrimination interspécifique par <i>E. vuilleti</i>	44
4- Discussion.....	45
B- Détermination du stimulus impliqué dans la discrimination interspécifique.....	49

1- Localisation du stimulus sur le système plante-hôte.....	51
2- Nature du stimulus impliqué.....	52
3- Rôle du stimulus dans la discrimination intraspécifique chez <i>D. basalis</i>	54
4- Activité des glandes accessoires et de l'appareil génital de la femelle <i>D. basalis</i>	55
5- Caractéristiques physico-chimiques des composés actifs.....	57
6- Activité de la sécrétion la glande de Dufour et de la glande à venin.....	59
7- Rôle des hydrocarbures cuticulaires.....	61
8- Discussion.....	62
C- Composition des sécrétions impliquées dans la discrimination interspécifique.....	70
I- Composition de la sécrétion de la glande à venin de <i>D. basalis</i>	70
1- Analyse de la fraction protéique de la sécrétion de la glande à venin.....	71
2- Sensibilité de l'activité de la sécrétion de la glande à venin à la Protéinase-K	72
3- Discussion.....	73
II- Composition des sécrétions de la cuticule et de la glande de Dufour de <i>D. basalis</i>	75
1- Procédure expérimentale.....	76
2- Résultats.....	78
3- Discussion.....	81
CHAPITRE 3 : ASPECTS EVOLUTIFS DE LA DISCRIMINATION INTERSPECIFIQUE.86	
A- Spécificité de la discrimination interspécifique.....	88
1- Etendue spécifique de la discrimination.....	90
2- Variation biogéographique de la discrimination interspécifique.....	93
3- Discussion.....	96
B- Avantages adaptatifs à la recherche du multiparasitisme.....	101
1- Gain en temps de recherche de l'hôte.....	102
2- Gain en temps d'exploitation de l'hôte.....	103
3- Influence de la compétition interspécifique sur le succès reproducteur de la femelle <i>E. vuilleti</i>	107
4- Discussion.....	108
C- Déterminisme de la discrimination interspécifique.....	117
1- Variabilité génétique de la discrimination interspécifique.....	118
2- Rôle de l'apprentissage dans l'expression	

de la discrimination interspécifique.....	119
3- Discussion.....	123

DISCUSSION GENERALE.....128

1- Originalité de la discrimination interspécifique d' <i>E. vuilleti</i>	128
2- Diversité des sécrétions et des structures sécrétrices impliquées.....	130
3- Scénario évolutif probable de l'apparition de la discrimination interspécifique.....	132
4- Rôle de la compétition interspécifique dans l'apparition de la discrimination.....	134
5- Perspectives.....	136

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....138

ANNEXES

❧ INTRODUCTION GENERALE ❧

1- Les modalités de la compétition interspécifique

Lorsque plusieurs espèces coexistent dans un même espace, différents types d'interactions positives (mutualisme, symbiose), neutres (commensalisme) ou négatives peuvent intervenir. Les interactions négatives, caractérisées par le fait que l'action d'une espèce affecte le succès reproducteur d'une ou plusieurs autres, regroupent principalement la prédation, le parasitisme et la compétition. La compétition interspécifique intervient au sein d'un groupe d'espèces exploitant une même ressource (gilde) lorsque la ressource est présente en quantité inférieure aux besoins de toutes les espèces présentes. Elle peut se manifester sous différentes modalités (Miller, 1967 ; Schoener, 1983) regroupées en deux formes principales. Il y a compétition **par interférence** ou compétition active lorsque les compétiteurs s'excluent directement. Il y a compétition **par exploitation** ou compétition passive, quand l'exploitation des ressources par une espèce diminue les ressources disponibles pour une autre.

La compétition interspécifique a plusieurs conséquences non mutuellement exclusives sur les distributions, les abondances et l'évolution des organismes (Blondel, 1995). L'exclusion pure et simple d'une espèce par un compétiteur supérieur, souvent invoquée lors de l'introduction accidentelle d'une espèce dans un écosystème, est un phénomène commun responsable de l'extinction de nombreuses espèces. La ségrégation active, spatiale, trophique ou temporelle des espèces qui se positionnent dans des portions précises et bien délimitées des gradients de ressources a longtemps été envisagée comme la seule voie permettant la coexistence des espèces, notamment entre celles d'une même guilda (McArthur & Levins, 1967 ; Price, 1971 ; May, 1973). Cependant des théories ont été développées, prédisant l'existence de guildes formées d'une combinaison stable d'espèces, répondant à des règles d'assemblage précises, dont certaines sont retrouvées dans la nature (Diamond, 1975). La compétition interspécifique peut également être le moteur d'un processus évolutif de déplacement de caractère (Brown & Wilson, 1956) ou de convergence de caractère (Moynihan, 1968) impliquant une modification des traits d'histoire de vie. Les caractères modifiés par la compétition peuvent être morphologiques (Lack, 1947) mais aussi comportementaux. La compétition aboutit alors à la sélection de stratégies visant à réduire les interactions négatives ou à en profiter de façon détournée. Des espèces au même niveau trophique peuvent ainsi utiliser des ennemis naturels communs (compétition apparente ; Holt, 1977) ou s'éliminer physiquement (prédation intragilde ; Polis *et al.*, 1989), ou encore voler

les ressources récoltées par un compétiteur (kleptoparasitisme ; Furness, 1987 ; Ronquist, 1994 ; Sivinsky *et al.*, 1999).

Un débat est apparu depuis quelques dizaines d'années au sujet de l'importance du rôle de la compétition dans les écosystèmes (Schoener, 1983 ; Connell, 1983 ; Roughgarden, 1983 ; Gurevitch *et al.*, 1992). Il semblerait, d'après ces auteurs que la compétition serait trop rare et n'aurait pas de conséquences suffisantes sur les communautés pour permettre la sélection de caractères ou de stratégies adaptées (Lawton & Strong, 1981 ; Lawton & Hassell, 1984). Pourtant des études récentes ont montré que la compétition était intense dans certaines communautés (Damman, 1993 ; Deno *et al.*, 1995), notamment entre des espèces d'insectes phytophages sédentaires, ou confinées, comme les gallicoles, les mineuses, et les foreuses de tiges (Deno *et al.*, 1995).

Parmi les communautés d'insectes, certaines sont réputées propices à l'apparition de compétition interspécifique. Les parasitoïdes, notamment, constituent fréquemment des communautés de plusieurs espèces plus ou moins spécialisées d'une même espèce hôte. L'intervention de la compétition au sein de ces communautés a été prouvée chez de nombreux couples d'espèces (Hawkins, 2000). De nombreux auteurs ont examiné la compétition interspécifique chez les Hyménoptères parasitoïdes (Salt, 1961 ; Bouton *et al.*, 1980 ; Dean & Ricklefs, 1980 ; Force, 1985 ; Hogarth & Diamond, 1984 ; Mackauer, 1990). Hågvar (1989) a dénombré plusieurs raisons expliquant l'intensité particulière de la compétition interspécifique chez les Hyménoptères parasitoïdes :

① Les parasitoïdes dépendent de leur hôte à la fois pour la ponte et pour le développement de la descendance.

② Les parasitoïdes disposent souvent d'un spectre d'hôtes potentiels plus restreint par rapport au spectre de proies potentielles des prédateurs.

③ Une espèce hôte donnée est fréquemment susceptible d'être attaquée par beaucoup d'espèces parasitoïdes.

④ Généralement, les parasitoïdes semblent incapables de reconnaître et d'éviter les hôtes parasités par une allospécifique.

⑤ Les populations d'hôtes peuvent subir des variations importantes dans le temps et l'espace.

Ces facteurs conjugués favoriseraient l'apparition de compétition locale ou temporelle entre plusieurs espèces de parasitoïdes quand les hôtes sont rares. Les modalités de la compétition entre chacune des espèces sympatriques pourraient intervenir dans la détermination de la diversité des communautés de parasitoïdes (Hawkins, 2000).

L'objectif de ce mémoire est d'étudier le rôle de la compétition interspécifique dans la sélection de comportements complexes, participant à l'adoption par la femelle parasitoïde de stratégies d'exploitation originales visant à optimiser la recherche et le choix d'hôtes propices au bon développement de sa descendance. La compétition interspécifique est-elle capable de permettre la coévolution d'espèces concurrentes ? Quel rôle joue-t-elle dans la coexistence des espèces sympatriques et dans la stabilité de communautés de parasitoïdes ? Pour donner des éléments de réponse à ces questions, nous avons, dans ce mémoire, étudié la compétition interspécifique et ses conséquences sur le comportement de ponte chez deux espèces appartenant à la même communauté parasitoïde.

2- La compétition chez les Hyménoptères parasitoïdes

Pour les Hyménoptères parasitoïdes, les hôtes représentent une ressource discrète de taille réduite, présentant une variabilité dans l'aptitude à assurer le développement des larves (Waage & Greathead, 1986). Comme les larves sont peu mobiles et ne peuvent généralement pas changer d'hôte au cours de leur développement, le choix de l'hôte par la femelle détermine la survie de sa descendance. Parmi les facteurs pouvant altérer la qualité de l'hôte, un des plus commun est le parasitisme antérieur par la même femelle, une femelle conspécifique ou une femelle allospécifique. Ce paramètre est particulièrement déterminant pour les parasitoïdes solitaires chez qui l'hôte ne peut permettre le développement que d'une unique larve de parasitoïde (Vinson & Iwantsch, 1980), généralement la plus âgée (Bakker *et al.*, 1985 ; Wai & Fujii, 1990 ; Visser, 1992).

Les femelles parasitoïdes prospectant à la recherche d'un site de ponte vont entrer en compétition pour accéder aux hôtes présentant les meilleures chances de développement de leur descendance (Hågvar, 1989). Cette compétition peut intervenir entre les femelles conspécifiques ou allospécifiques sous forme d'interférences directes comme l'apparition de comportements agressifs entre les femelles (Hassell, 1971) ou la défense d'un site de ponte (Griffiths & Godfray, 1988). Ces interférences directes ne sont pas négligeables et peuvent structurer les dynamiques de population du système hôte-parasitoïdes (Weisser *et al.*, 1997 ; Visser *et al.*, 1999). En dehors de ces interférences directes, on distingue la compétition intrinsèque (Godfray, 1994), qui intervient au stade larvaire, et qui consiste en une élimination des larves surnuméraires par combat larvaire (Fisher, 1961 ; Salt, 1961 ; Chow & Mackauer, 1984) ou par suppression physiologique (Mackauer, 1990), de la compétition extrinsèque, qui intervient au niveau de la phase de localisation de l'hôte par la femelle. L'issue de la

compétition extrinsèque entre les parasitoïdes dépend de la différence entre leur capacité respective à découvrir l'hôte, à l'exploiter efficacement, et de la synchronisation phénologique de chacun des parasitoïdes avec leur hôte (Hågvar, 1989 ; Tumlinson *et al.*, 1993 ; De Moraes *et al.*, 1999). Quand plusieurs œufs sont pondus sur le même hôte, l'issue de la compétition intrinsèque dépend des différences au niveau de la durée de développement, du nombre d'œufs, du stade de l'hôte, de l'ordre des pontes et de la durée séparant les pontes (van Strien-van Liempt, 1983 ; Tillman & Powell, 1992). Généralement, une fois parasités, les hôtes sont impropres pour l'exploitation par un autre parasitoïde (Hågvar, 1989). Les femelles possédant les stratégies de recherche de l'hôte les plus efficaces ont un avantage compétitif qui devient décisif quand la densité locale de l'hôte est faible (Godfray, 1994).

Au niveau de la population, la compétition larvaire peut être un facteur exerçant une pression de sélection importante. van Alphen (1988) a mis en évidence l'importance du nombre de parasitoïdes exploitant un hôte et des interférences mutuelles pour la stabilité des interactions hôtes-parasitoïdes. La compétition larvaire, en permettant l'élimination d'individus moins compétitifs, permettrait le maintien d'une population de parasitoïdes à haute valeur adaptative (Labeyrie & Rojas-Rousse, 1985). Au niveau appliqué, la compétition interspécifique et les interactions entre les différentes espèces de parasitoïdes peuvent diminuer l'efficacité du contrôle d'un ravageur et rendre difficile la mise en place d'un protocole de lutte biologique utilisant ce type d'auxiliaire (Turnbull & Chant, 1961 ; Arthur *et al.*, 1964). En plus de l'importance écologique, la compréhension des interactions compétitives entre les espèces de parasitoïdes est utile pour la sélection d'agents efficaces de contrôle biologique des populations de ravageurs, pour leur importation (Mackauer, 1990), pour le développement de la gestion de l'habitat et des pratiques culturales dans le but de maintenir et d'accroître l'abondance et l'efficacité des espèces bénéfiques (Hawkins, 1993).

3- Capacités de discrimination et stratégies d'exploitation

Différentes stratégies ont été sélectionnées visant à réduire les interactions entre les parasitoïdes et les effets potentiellement néfastes de la compétition. Les stratégies d'exploitation ont d'abord été étudiées principalement en situation de compétition intraspécifique, puis généralisées en situation de compétition interspécifique. L'étude de la compétition interspécifique fait ainsi fréquemment référence à des concepts développés dans

le cadre de la compétition intraspécifique. Nous allons donc présenter les théories régissant la compétition intraspécifique, puis leur adaptation en situation de compétition interspécifique.

Depuis leur description, il a été généralement admis que les parasitoïdes possédaient un instinct leur permettant de reconnaître et de préférer les hôtes sains aux hôtes déjà parasités, ces derniers semblant moins propices au développement de la descendance (Reuter, 1913). Salt fut le premier en 1934 à démontrer chez des parasitoïdes du genre *Trichogramma* que la distribution des œufs en présence d'hôtes parasités et sains diffère significativement d'une distribution au hasard. Il attribua cette différence à la capacité de discriminer entre les hôtes sains et ceux déjà parasités. Cette capacité de discrimination et de rétention des œufs permet l'évitement du superparasitisme en situation de compétition intraspécifique ou du multiparasitisme en situation de compétition interspécifique.

A la suite des observations de Salt, la capacité à discriminer les hôtes sains des hôtes parasités a été démontrée chez de nombreuses espèces d'Hyménoptères endoparasitoïdes grégaires (Cloutier *et al.*, 1984 ; Chow & Mackauer, 1986), ou ectoparasitoïdes solitaires (Hubbard *et al.*, 1987 ; Hofsvang, 1990). Chez les Hyménoptères parasitoïdes, la capacité de discrimination entre les hôtes sains et les hôtes parasités a été décrite chez 150 à 200 espèces (van Lenteren, 1981). Chez la plupart de ces espèces, la discrimination est associée à une stratégie évasive (Zwölfer, 1979) ou d'évitement du superparasitisme. Ainsi, chez les espèces solitaires, en général, les femelles évitent de déposer des œufs sur des hôtes exploités précédemment, ce comportement ayant pour but de réduire la compétition larvaire (Prokopy, 1981). L'évitement du superparasitisme semble adaptatif. Plusieurs systèmes permettant la discrimination, c'est à dire la reconnaissance des hôtes déjà parasités ont été sélectionnés (van Lenteren, 1981). Dans de nombreux cas, des phéromones de marquage sont impliquées dans cette discrimination (King & Rafai, 1970 ; van Lenteren, 1976 ; Hofsvang, 1990 ; Godfray, 1994). L'évitement du superparasitisme est mis en évidence par une répartition non aléatoire des pontes entre les hôtes parasités et les hôtes sains, biaisée en faveur des hôtes sains. Cependant, il a été ainsi observé, chez ces espèces capables de discrimination, des taux non négligeables de superparasitisme. Van Lenteren (1976, 1981) propose plusieurs phénomènes pouvant être à l'origine du superparasitisme observé chez les parasitoïdes solitaires :

① La femelle pond plusieurs œufs successivement au cours d'un même acte de ponte. Bien qu'en général un seul œuf soit déposé par séquence de ponte (Hays & Vinson, 1971), le contrôle par la femelle du nombre d'œufs émis peut ne pas être infallible.

② La femelle ne reconnaît pas les hôtes parasités. Cependant, la reconnaissance intraspécifique a été fréquemment décrite chez les Hyménoptères (Hofsvang, 1990).

③ La femelle dépose un second œuf durant la période nécessaire à la mise en place du signal permettant l'évitement du superparasitisme. Or les marquages sont souvent immédiatement perceptibles (van Lenteren, 1981).

④ La tendance à pondre augmente lorsque les femelles n'ont pas rencontré d'hôtes adéquats pour la ponte depuis une longue période (van Lenteren *et al.*, 1978).

Ainsi, jusque dans les années 1980, le superparasitisme n'est considéré que comme une erreur, une absence de capacité à discriminer ou un pis-aller ne pouvant pas être avantageux et donc adaptatif. Il provoque une perte d'œufs et donc affecte le succès reproducteur de la femelle, une perte de temps et d'énergie liée à l'exploitation de l'hôte. Dès 1984, Isawa *et al.* remettent en question l'aspect désavantageux du superparasitisme. De nombreux modèles basés sur la théorie des jeux ou sur des concepts comme l'Optimal Foraging sont alors développés démontrant que le superparasitisme peut être avantageux sous certaines conditions (Charnov & Skinner, 1985 ; Hubbard *et al.*, 1987 ; van der Hoeven & Hemerik, 1990 ; Visser *et al.*, 1990). Les décisions de ponte prises par les femelles parasitoïdes durant l'exploitation d'un hôte doivent répondre aux facteurs physiologiques, comme le nombre d'œufs matures en rétention et le type de reproduction, et aux facteurs environnementaux, comme la qualité de l'hôte et la présence d'une femelle conspécifique (Vinson, 1976 ; Mangel, 1987 ; Godfray, 1994). La femelle parasitoïde va donc accepter ou non l'hôte en fonction de sa capacité à assurer le développement de sa descendance, mais aussi en fonction de ces pontes antérieures et des chances de découvrir ultérieurement un hôte de meilleure qualité. Superparasiter ne serait pas lié à des capacités discriminatoires imparfaites mais pourrait sous certaines conditions être adaptatif (van Alphen & Visser, 1990) :

① Quand la probabilité de rencontrer des hôtes sains est faible. La décision tient compte alors des chances de survie de la descendance, mais aussi du coût et du risque de mortalité (Potting *et al.*, 1997) liés à la recherche d'un nouvel hôte.

② Quand la présence de plusieurs œufs augmente la probabilité de survie de la descendance. L'émission de plusieurs œufs peut augmenter les chances que l'un d'entre eux soit vainqueur lors du combat avec une larve compétitrice. Le bénéfice du self superparasitisme, c'est à dire la ponte sur un hôte déjà exploité par la même femelle, s'accroît avec la fréquence du superparasitisme conspécifique et du multiparasitisme (van der Hoeven & Hemerik, 1990).

③ Quand l'œuf pondu a une forte probabilité de gagner la compétition larvaire. Les chances de victoire de la seconde larve ne décroissent pas toujours linéairement avec le temps séparant les deux pontes (Wai & Fujii, 1990).

④ Quand plusieurs œufs inhibent le système immunitaire de l'hôte. Cet aspect est essentiel chez les endoparasitoïdes grégaires qui pourraient adapter le nombre de ponte et la quantité d'œufs émis (clutch size) pour optimiser la lutte contre les défenses de l'hôte (Mangel, 1987 ; Mackauer, 1990).

⑤ Quand une femelle peut produire un grand nombre d'ovocytes (cas des espèces synovigéniques) et que l'inspection et le rejet d'un hôte prend plus de temps et d'énergie que la ponte (Mangel, 1989).

La reconnaissance interspécifique est moins bien connue que la discrimination intraspécifique chez les Hyménoptères parasitoïdes (Turlings *et al.*, 1985 ; van Alphen & Visser, 1990). Elle a néanmoins été citée chez quelques espèces, chez lesquelles elle permet généralement un évitement du multiparasitisme (Hågvar, 1989). L'évitement du multiparasitisme a été particulièrement étudié chez les parasitoïdes de pucerons (Aphididae) chez lesquels le rejet d'un hôte parasité par une femelle allospécifique pourrait impliquer deux mécanismes, la perception d'indices externes et la perception d'indices internes requérant l'insertion de l'ovipositeur (Chow & Mackauer, 1986 ; Mc Brien & Mackauer, 1991). Deux hypothèses peuvent permettre d'expliquer l'existence de cette reconnaissance :

① La reconnaissance intervient entre des espèces phylogénétiquement proches comme cela a été observé dans les genres *Aphitis* (Rosen & De Bach, 1979), *Asobara* (Vet *et al.*, 1984), *Anaphes* (van Baaren *et al.*, 1994) ou *Aphidius* (Mc Brien & Mackauer, 1991). Cette discrimination interspécifique serait un comportement relique d'un ancêtre commun, qui aurait été conservé car il ne représenterait qu'un coût minime pour l'espèce. Ces différentes espèces occupant des micro-habitats différents, les femelles ne rencontreraient pas habituellement d'hôtes parasités par les femelles d'espèces proches (Vet *et al.*, 1984).

② La discrimination interspécifique peut également apparaître lorsque plusieurs espèces sont sympatriques et exploitent le même hôte (Browning & Oatman, Chow & Mackauer, 1984). Dès les années 70, Price (1970b) a montré que les femelles de certaines espèces d'Ichneumonidae exploitant les mêmes hôtes reconnaissent les traces odorantes conspécifiques et allospécifiques. De nombreux cas décrivent des couples d'espèces présentant des capacités parasitaires très différentes, l'espèce la moins compétitive évitant le multiparasitisme (Bolter & Laing, 1983 ; Mc Brien & Mackauer, 1991 ; Scholz & Höller,

1992). Comme pour le superparasitisme, certains auteurs prédisent que le multiparasitisme pourrait être avantageux sous certaines conditions. Ainsi, Bakker *et al.* (1985) suggèrent que pour des espèces parasitoïdes exploitant le même hôte, le multiparasitisme soit la meilleure stratégie quand les hôtes sont rares et que les femelles ne sont pas limitées en œufs.

De rares études mentionnent, chez des espèces d'Hyménoptères parasitoïdes coexistantes dans une même niche écologique, un comportement original de la part de la femelle d'une des deux espèces sympatriques : la recherche des hôtes parasités associée à un comportement ovicide (Askew, 1971). Ainsi, *Temelucha interruptor* (Ichneumonidae) est attiré par les sites de pontes de l'espèce *Orgilus obscurator* (Braconidae), puis détruit l'œuf de la femelle allospécifique et pond le sien sur l'hôte (Arthur *et al.*, 1964). *Pseudorhyssa sternata* observe sa concurrente *Rhyssa persuasoria* sondant l'écorce d'un conifère à la recherche d'hôte et une fois que le premier parasitoïde retire son ovipositeur, *P. sternata* trouve l'orifice et y insère son ovipositeur (Spradbery, 1968). Ce parasitoïde est également capable de retrouver l'orifice plusieurs jours après la ponte de l'espèce concurrente. Price (1970a) a observé un comportement similaire chez l'espèce *Pleolophus indistinctus* (Ichneumonidae) qui, après exploration de l'hôte, accède à l'hôte par d'anciens orifices d'insertion de l'ovipositeur intra- ou interspécifiques et détruit l'œuf du compétiteur. Ce comportement s'apparente à du kleptoparasitisme (Evans *et al.*, 1954). Un **kleptoparasitoïde** (ou cleptoparasitoïde) est globalement défini comme un parasitoïde qui augmente son succès reproducteur aux dépens d'un autre parasitoïde, en préférant des hôtes parasités (ou parfois seulement explorés) par une autre femelle (Pijls, 1996). Un kleptoparasitoïde peut utiliser les orifices déjà forés (Couturier, 1949 ; Spradbury, 1968) ou les traces d'exploitation (Arthur *et al.*, 1964) d'une autre espèce pour accéder à l'hôte. Il peut aussi dépendre d'un autre parasitoïde pour l'inactivation des défenses de l'hôte (Spradbery, 1968 ; Arthur, 1981). Le kleptoparasitisme est fréquemment associé à une activité ovicide de la femelle (Askew, 1971 ; Price, 1970b, 1971). Les œufs de la compétitrice sont détruits par piqûre de l'ovipositeur (Strand & Godfray, 1989). Les avantages éventuels associés à la préférence par une femelle des hôtes parasités par une femelle allospécifique pouvant conduire à la sélection d'une telle stratégie ont été peu étudiés et envisagés jusqu'alors comme n'intervenant qu'au niveau de l'efficacité dans la recherche de l'hôte ou de l'efficacité à l'exploiter (Arthur *et al.*, 1964 ; Haynes & Yeorgan, 1999).

4- La compétition interspécifique entre *D. basalis* et *E. vuilleti*

Dinarmus basalis et *Eupelmus vuilleti* sont deux Hyménoptères ectoparasitoïdes solitaires des larves et des nymphes de bruches, de petits coléoptères dont les stades larvaires se développent au dépend de graines de légumineuses stockées dans des greniers traditionnels. Ces deux espèces peuvent cohabiter au sein d'un même grenier pendant plusieurs mois (Monge & Huignard, 1991). La compétition interspécifique est donc susceptible d'intervenir entre ces deux parasitoïdes. Lorsque les femelles *D. basalis* sont placées en situation de choix entre des hôtes sains et des hôtes parasités par *E. vuilleti*, elles évitent le multiparasitisme et pondent préférentiellement sur les hôtes sains (Leveque *et al.*, van Alebeek *et al.*, 1993 ; Gauthier *et al.*, 1999). Cette discrimination interspécifique pourrait faire intervenir la perception d'un signal ou d'un indice externe de nature inconnu déposé par la femelle *E. vuilleti* à la surface des graines exploitées. De plus, lors de la phase de prospection interne de la loge de l'hôte à l'aide de l'ovipositeur, la femelle *D. basalis* serait capable de reconnaître des sécrétions produites par la femelle *E. vuilleti* durant la ponte ou des substances émises par l'embryon ou la larve (Gauthier *et al.*, 1999). Cette stratégie correspondant à la situation décrite par Mc Brien & Mackauer (1991), l'espèce la moins compétitive évite la compétition larvaire qui lui est défavorable. L'évitement du multiparasitisme par *D. basalis* peut être interprété comme une stratégie d'évasion (van Alebeek *et al.*, 1993), le refus de ponte sur les hôtes parasités par *E. vuilleti* peut être compensé par des capacités parasitaires et des capacités de dispersion supérieures. La préférence de *D. basalis* pour les hôtes sains pourrait aboutir à une forme de séparation des niches des deux espèces (Zwölfer, 1979).

Les femelles *E. vuilleti* ne présentent pas de stratégie d'évitement du multiparasitisme (Gauthier *et al.*, 1999). Au contraire, elles semblent préférer les hôtes parasités par *D. basalis* (van Alebeek *et al.*, 1993). Cette préférence, qui s'apparente à du kleptoparasitisme, implique la reconnaissance par les femelles *E. vuilleti* d'un signal ou d'un indice lié à l'exploitation de l'hôte par les femelles *D. basalis*. Le stimulus impliqué est encore inconnu. La préférence des hôtes parasités par l'espèce concurrente s'accompagne chez la femelle *E. vuilleti* de comportements agressifs qui consistent en la destruction par piqûre de l'ovipositeur des œufs (ovicide) ou des larves de *D. basalis* (larvicide) (van Alebeek, 1991 ; Leveque *et al.*, 1993 ;

van Alebeek *et al.*, 1993). Selon Leveque (1993) et Amevoin (1994), la fréquence de ce comportement dépendrait de l'âge de la ponte de *D. basalis*, et de la densité en hôtes parasités par *D. basalis* dans le patch. Pour des hôtes parasités par *D. basalis* depuis 24 heures, plus de la moitié des œufs serait détruits par la femelle *E. vuilleti*. De plus, en présence de larves de *D. basalis* âgées, l'injection de venin par la femelle *E. vuilleti* dans le corps de la larve *D. basalis* permet aux larves d'*E. vuilleti* de se développer comme hyperparasite. Les larves d'*E. vuilleti*, très mobiles et pourvues de mandibules puissantes peuvent également rechercher et tuer les larves de *D. basalis* (Leveque *et al.*, 1993), elles gagnent généralement le combat larvaire. Cette supériorité lors du combat larvaire a été décrit précisément par Spradbery (1968) chez une autre espèce kleptoparasitoïde.

Au niveau de la dynamique des populations, ces stratégies semblent avoir une influence sur les populations de chacune des espèces formant le cortège parasitaire des larves de bruches au sein des greniers de niébé. Ainsi, lorsqu'une seule espèce est présente, *D. basalis* semble présenter des capacités parasitaires supérieures à *E. vuilleti*, tant au plan de la fécondité, de la longévité, que de la durée du développement larvaire (Sanon, 1997). Quand les deux espèces sont présentes, la structure du cortège parasitaire est différente selon la densité en hôte : quand le ratio Hôtes/Parasitoïdes est élevé, *D. basalis* devient rapidement l'espèce la plus abondante, la population d'*E. vuilleti* demeure marginale (Tricault, 2000) et ceci quel que soit le nombre de couples de chacune des espèces introduit au départ. Quand le ratio Hôtes/Parasitoïdes est faible, les interférences entre les deux espèces augmentent et *E. vuilleti* devient l'espèce parasitoïde majoritaire (Monge *et al.*, 1995). Cette dominance semble être la conséquence de la stratégie agressive d'*E. vuilleti*. Ces interférences s'accompagnent d'une explosion de la population du ravageur. La compétition entre *D. basalis* et *E. vuilleti* constitue un frein majeur à l'utilisation de parasitoïdes dans des procédures de lutte biologique dans les greniers.

5- La problématique étudiée

Eupelmus vuilleti et *Dinarmus basalis* sont deux espèces biologiquement proches qui exploitent la même ressource, les larves et les nymphes de bruche au sein des systèmes de stockage traditionnels du Niébé. Les greniers constituent des systèmes relativement clos, au sein desquels les populations d'hôtes sains et parasités et de parasitoïdes des deux espèces

fluctuent fortement, pouvant entraîner une compétition interspécifique intense entre les parasitoïdes pour l'accès aux hôtes. La compétition interspécifique pourrait avoir modelé la stratégie d'exploitation des hôtes de chacune des espèces parasitoïdes. La préférence des femelles *E. vuilleti* pour les hôtes parasités par *D. basalis* est une stratégie originale, ne correspondant pas aux modèles prédisant l'évitement du superparasitisme ou du multiparasitisme, qui sont décrits comme affectant le succès reproducteur des femelles. Les caractéristiques particulières de la compétition interspécifique entre *E. vuilleti* et *D. basalis* pourraient être impliquées dans l'évolution de cette stratégie.

Ce mémoire est consacré à l'étude de la reconnaissance interspécifique par *E. vuilleti* des hôtes parasités par *D. basalis*, permettant à la femelle *E. vuilleti* de rechercher le multiparasitisme.

Après la présentation du mode de vie parasitoïde et la description des espèces participant au système tritrophique, nous avons analysé le comportement de femelles *E. vuilleti* confrontées à un choix entre deux hôtes, l'un sain et l'autre parasité. Cette analyse nous a permis de définir un test biologique, permettant d'estimer la préférence de la femelle pour l'un ou l'autre des hôtes présentés.

Nous avons tout d'abord tenté de déterminer les mécanismes permettant à la femelle *E. vuilleti* de reconnaître les hôtes parasités par *D. basalis*. Après une étude préliminaire des conditions d'expression de la discrimination, nous avons déterminé la localisation du stimulus impliqué, sa nature ainsi que son rôle primaire pour *D. basalis*.

Nous avons dans un deuxième temps tenté de déterminer quels processus évolutifs avaient pu aboutir à la sélection, chez *E. vuilleti*, de la discrimination interspécifique et de la recherche du multiparasitisme. Pour cela, nous avons étudié la spécificité de la reconnaissance interspécifique d'*E. vuilleti* puis nous avons évalué les bénéfices susceptibles d'avoir permis la sélection de la discrimination interspécifique et de la recherche du multiparasitisme. Enfin nous avons étudié le rôle du déterminisme génétique et de l'expérience dans l'expression et l'adaptation de la discrimination interspécifique aux différentes conditions de compétition rencontrées dans la nature.

*❧ CHAPITRE 1 : MATÉRIELS ET
MÉTHODES ❧*

A- Le mode de vie parasitoïde

Le parasitisme est un mode de vie très répandu chez les arthropodes. Un parasite, au sens large, est un organisme qui vit sur ou dans un autre organisme vivant, l'hôte, dont il tire une partie ou la totalité des nutriments nécessaires à sa survie. Cette association n'apporte aucun bénéfice à l'hôte, et peut même provoquer sa mort. De nombreuses espèces d'insecte, représentant 10% de toutes les espèces animales, ont adopté ce mode de vie (Askew, 1971). Parmi ces insectes parasites, certaines espèces sont parasites aux stades larvaires, le parasitisme aboutissant à la mort de l'hôte, puis mènent une vie libre au stade adulte. Ces espèces ont, sur les populations de leurs hôtes, un impact semblable à un prédateur. Seule l'utilisation de la proie, nutrition directe ou ponte, diffère. Reuter (1913) rassembla les espèces d'insectes répondant à ces critères dans un groupe auquel il attribua le nom de Parasitoidea, littéralement ressemblant à un parasite, terme à partir duquel dérivait ensuite celui de parasitoïde. Selon la définition de Doutt (1959), un insecte est considéré comme un parasitoïde lorsqu'il rassemble les critères suivants :

- ① Il se développe aux dépens d'un seul hôte, ce qui aboutit à la destruction de ce dernier.
- ② Seuls les stades immatures sont parasites, les adultes sont des formes libres.
- ③ Le parasitoïde en développement ne peut pas changer d'hôte.
- ④ En général, l'hôte appartient à la même classe taxonomique.
- ⑤ Le parasitoïde et l'hôte présentent le plus souvent des tailles similaires.
- ⑥ Enfin, l'impact du parasitoïde sur la dynamique des populations de l'hôte est plus proche de celle d'un prédateur que de celle d'un véritable parasite.

On estime qu'environ 100 000 (Askew, 1971) à 250 000 (Gaud, 1986) espèces d'hyménoptères ont adopté le mode de vie parasitoïde, représentant environ 10% du total des espèces d'insectes recensées.

Les hyménoptères parasitoïdes peuvent être regroupés dans plusieurs sous-catégories en fonction des modalités de l'installation du parasitisme et du type d'hôte attaqué :

- ① La localisation du parasitoïde en développement par rapport à son hôte détermine la nature du parasitisme. Les espèces qui se développent à l'intérieur même de l'hôte sont nommées endoparasitoïdes, alors que celles qui se développent à l'extérieur de l'hôte sont nommées ectoparasitoïdes.

② Une espèce parasitoïde est dite grégaire si plusieurs individus conspécifiques (issus ou non de la même femelle) peuvent se développer sur un même hôte, et solitaire lorsqu'un seul individu peut se développer par hôte. Trois situations particulières peuvent être rencontrées quand il y a parasitisme d'un même hôte par un nombre de parasitoïdes supérieur à celui dont cet hôte peut assurer le développement (Doutt, 1964). Si les individus sont conspécifiques, on parle de superparasitisme, et plus précisément de self-superparasitisme quand les individus ont été pondus par la même femelle ; Si les individus sont allospécifiques, on parle de multiparasitisme (Smith, 1916). Dans tous les cas, la suppression des éventuels individus surnuméraires peut prendre la forme de combats larvaires ou de suppression physiologique (Fisher, 1961 ; Salt, 1961).

③ Les espèces d'insectes susceptibles d'être utilisées comme hôtes par un hyménoptère parasitoïde sont très diverses. Tous les stades de développement (œuf, larve, nymphe et adulte) peuvent potentiellement être attaqués par une ou plusieurs espèces de parasitoïdes. Le degré de spécificité varie beaucoup selon l'espèce, qui peut être strictement monophage, oligophage ou polyphage.

④ Selon le niveau trophique de la relation entre l'hôte et le parasitoïde, l'espèce peut être qualifiée de parasitoïde primaire lorsque l'hôte est un phytophage, de parasitoïde secondaire ou hyperparasitoïde lorsque l'hôte est lui-même un parasitoïde primaire.

⑤ Si l'une des caractéristiques d'un parasitoïde est qu'il tue son hôte, la mort de ce dernier peut intervenir au début ou à la fin du développement de la larve parasitoïde. Ceux qui tuent ou paralysent définitivement leur hôte dès la ponte sont nommés idiobionts. Les parasitoïdes qui laissent leur hôte se développer après la ponte sont nommés koïnobionts (Askew & Shaw, 1986). La plupart des koïnobionts sont des endoparasitoïdes, la mort de l'hôte survient alors généralement lors de l'émergence des parasitoïdes adultes.

Ces caractéristiques, et leurs multiples combinaisons, ont pour conséquence une grande diversité de modalités d'installation du parasitisme, qui a permis l'explosion géographique de ce groupe et son intégration dans des niches écologiques très variées. Quelle que soit l'espèce et le type de parasitisme, les parasitoïdes sont confrontés à une contrainte commune forte, trouver un hôte pour s'y reproduire et s'y développer avec succès. Cette contrainte a favorisé la sélection de caractères au niveau écologique, comportemental et physiologique, visant à augmenter l'efficacité parasitaire de chaque espèce. Le succès de chacune des espèces à ces différents niveaux détermine leur capacité à faire face aux adaptations de l'hôte pour échapper au parasitisme, ainsi que leur capacité compétitive en présence d'espèces parasitoïdes concurrentes.

B- Présentation du système tritrophique

Pour réaliser notre étude, nous avons utilisé un système tritrophique constitué d'une plante, *Vigna unguiculata* (Walp) communément nommée Niébé, d'un phytophage, le coléoptère bruchidae *Callosobruchus maculatus* (Fab), et de deux hyménoptères parasitoïdes, l'Eupelmidae *Eupelmus vuilleti* (Craw) et le Pteromalidae *Dinarmus basalis* (Rond).

Nous allons, dans ce chapitre, présenter quelques aspects de biologie générale de chacune des espèces constituant ce système tritrophique ainsi que leurs relations au sein de ce système.

1 - La plante : *Vigna unguiculata* (Walp)



Figure 1 – *Vigna unguiculata* Walp. (Ndoutoume-Ndong, 1996)

- 1 : feuille
- 2 : inflorescence
- 3 : gousse
- 4 : graine
- 5 : système racinaire

1-1 Description

Vigna unguiculata est une légumineuse alimentaire cultivée dans la plupart des régions tropicales et subtropicales, jusqu'au bassin méditerranéen depuis 5000 ans avant JC (Murdock, 1959). Le Niébé est la plus importante légumineuse à graines dans les zones de savane tropicale d'Afrique. Originaire de l'Afrique du Sud-Est, le Niébé s'est diffusé dans le monde entier. Il est cultivé et consommé de façon extensive en Asie, en Amérique du Sud et du Centre, dans les caraïbes, aux Etats Unis, dans le moyen orient et en Europe australe (Cissé & Hall, 2001). C'est une plante herbacée annuelle autogame présentant de nombreuses variétés à port rampant, semi-rampant ou érigé (Fig. 1). L'inflorescence, de type grappe simple ou racème, est composée de fleurs de type corolle papilionacée jaunes ou violacées. Le fruit est une gousse indéhiscente, longue de 7 à 15 cm, renfermant 8 à 15 graines. A la jonction avec le pédoncule, des nectaires sécrètent un liquide sucré qui coule le long de la gousse. La graine est reliée par le hile avec la suture dorsale de la gousse. La variété Black-eyes California, utilisée pour les élevages comme pour les expérimentations est la plus répandue dans la zone principale de culture, l'Afrique de l'Ouest (Alzouma, 1987). Dans cette zone, il existe toujours des formes sauvages de *V. unguiculata*, les sous espèces *dekindtiana* et *mensensis*, ancêtres des variétés cultivées.

Position systématique (Singh & Rachie, 1985):

Famille : Légumineuse

Sous-famille : Fabaceae

Tribu : Phaseoleae

Sous-tribu : Phaseolinae

Genre : *Vigna*

Espèce : *unguiculata* L.

Sous-espèce : *unguiculata* Walp.

1-2 Cycle biologique, culture et stockage

En zone sahélienne, les semis sont effectués au début de la saison des pluies, fin juin. La croissance rapide de la plante est suivie de la floraison, qui débute en août et peut durer jusqu'à la fin de la saison des pluies (Alzouma, 1987). La fructification sous forme de gousses vertes caractéristiques intervient alors que la plante présente encore des fleurs. Une fois que la majorité des gousses sont sèches, fin octobre, elles sont récoltées pour être stockées dans des greniers traditionnels, de forme et de matériaux variés, généralement des petites huttes

maçonnées constituées d'argile et de paille de mil sèche (Fig. 2). Le volume de ces greniers peut varier d'un demi à plusieurs mètres cubes (Germain, 1988). Une grande partie des stocks est consommée rapidement en trois ou quatre mois pour éviter la perte due en partie aux insectes ravageurs et une petite quantité est conservée pour les semences de l'année suivante.



Figure 2 - Greniers traditionnels utilisés pour le stockage du Niébé au Togo. (source : F. A. O).

Haut : grenier en paille de mil (sud du Togo).

Bas : grenier maçonné (Togo).

Il existe une grande variété de taille, de forme, et de matériaux employés.

1-3 Importance agronomique et alimentaire du Niébé

La production mondiale du Niébé est estimée à 3,3 millions de tonnes de graines sèches dont 64% sont réalisés en Afrique (FAO, 2001). La superficie cultivée annuellement dans le monde est estimée à plus de 12,5 millions d'ha dont environ 9,8 millions d'ha sont réalisés en Afrique de l'Ouest, faisant de cette région la première productrice et

consommatrice de Niébé dans le monde (CGIAR, 2001). Les principaux pays producteurs en Afrique de l'Ouest sont le Nigéria, le Niger, le Mali, le Burkina Faso, le Sénégal et le Ghana.

Selon Cissé & Hall (2001), l'intérêt agronomique de la culture du Niébé en Afrique réside dans :

- ① Une adaptation à la sécheresse du fait de variétés à cycles très courts.
- ② Un haut potentiel de fixation biologique de l'azote dans les aires de cultures traditionnelles dont les sols sont pauvres (faible teneur en matière organique (<0,2 %), haute composante de sable (>85 %)), et une adaptation à une gamme large de pH (4,5 – 9,0).
- ③ Une tolérance aux hautes températures durant son stade végétatif.
- ④ Un bon comportement sous ombrage.
- ⑤ Une croissance végétative rapide.
- ⑥ De multiples usages comme légume vert (feuille et gousses), graines sèches et fourrage.

L'adaptation à la sécheresse du Niébé est un caractère essentiel pour les zones sèches des savanes de l'Afrique occidentale et orientale. La variété Black eye California (Fig. 3) est particulièrement bien adaptée aux conditions climatiques des régions tropicales et subtropicales, notamment aux saisons des pluies courtes du fait d'un cycle court de 2 à 3 mois. Elle s'adapte également à divers types de sols fertiles ou plus pauvres et peut permettre deux récoltes annuelles sur des sols irrigués (Gauthier, 1996). Le Niébé ne nécessite que peu d'apport en engrais azoté du fait de la présence sur les racines de nodules hébergeant des bactéries symbiotiques du genre *Rhizobium* qui fixent l'azote atmosphérique.



Figure 3 – Graines de Niébé (*Vigna unguiculata*) de la variété Black Eye California. (× 10)

Les graines de Niébé sont généralement destinées à l'alimentation humaine, alors que les feuilles et les tiges séchées sont utilisées tel quel ou en ensilage dans l'alimentation animal des bovins, porcins et volailles (source : FAO). Durant la saison sèche, dans certaines régions d'Afrique de l'Ouest et du Centre, la valeur monétaire des fanes de Niébé stockées devient très élevée. Enfin des quantités importantes de ce produit peuvent être commercialisées, ce qui fournit un complément de revenu parfois non négligeable aux populations rurales.

Au niveau nutritionnel, le principal intérêt du Niébé réside dans la richesse de ses graines en protéines. La graine mûre contient 23-25 % de protéine, 50-67 % d'amidon, des vitamines B tel que l'acide folique qui est important dans la prévention de malformation chez le nouveau-né (Huignard, 1985 ; Cissé & Hall, 2001). Les graines de Niébé renferment tous les acides aminés indispensables à l'alimentation humaine, à l'exception notable des acides aminés soufrés (cystéine et méthionine). La graine est également riche en micro-éléments essentiels, tels que le fer, le calcium et le zinc. Le Niébé joue donc un rôle important dans la subsistance de beaucoup de familles rurales en Afrique, en Amérique latine et en Asie, en procurant les éléments nutritifs déficitaires dans les céréales. La teneur élevée des graines en lysine notamment en fait un excellent complément alimentaire aux céréales. Le Niébé représente une source de protéines moins onéreuse que celles d'origine animale (Stanton, 1970), et permet également le développement d'un élevage d'appoint et un complément de revenu.

2- Le phytophage hôte : *Callosobruchus maculatus* (Fabricius)

2-1 Description

Callosobruchus maculatus fait partie de la vingtaine d'espèces du genre *Callosobruchus*. C'est un insecte de petite taille (2,8 à 3,5 mm). Le corps, de forme oblongue, est brun rougeâtre à gris. La femelle de taille plus importante que le mâle se distingue par la coloration et les motifs des élytres et du pygidium (Fig. 4). C'est une espèce très polyphage (Weidner & Rack, 1984), polyvoltine, quasi-cosmopolite, dont la plante-hôte la plus fréquente est *V. unguiculata* en zone sahélienne. *C. maculatus* est d'ailleurs l'espèce de bruche qui cause le plus de dégât dans les stocks de Niébé (Jackai & Daoust, 1986 ; Monge & Germain, 1988).



Figure 4 – *Callosobruchus maculatus* adultes mâle (à gauche) et femelle (à droite). (× 20)



Figure 5 – Graine de Niébé infestée par *C. maculatus*. (× 10)
L'œuf de bruche est tout d'abord translucide (1) puis devient blanc (2) lorsque la larve néonate pénètre dans la graine. A la fin du développement larvaire, la prénymphe aménage une loge près de la surface, visible par transparence (3).



Figure 6 – Les stades larvaires, nymphaux et imaginal de *C. maculatus*. (× 20)
La larve L1, trop petite, n'est pas représentée.

Position systématique (Bridwell, 1929):

Ordre : Coléoptère

Sous-ordre : Phytophagoidea

Famille : Bruchidae

Genre : *Callosobruchus*

Espèce : *maculatus* Fabricius.

2-2 Cycle biologique

C. maculatus pond des œufs translucides (environ 0,6 x 0,3 mm) de forme convexe, aplatis sur la face fixée au substrat. Ils sont déposés par la femelle sur les gousses en voie de maturation ou sèches ou directement sur les graines de Niébé. Après l'éclosion, le premier stade larvaire perce le tégument de la graine à l'aide de ses mandibules puis pénètre à l'intérieur. Cette pénétration s'accompagne du rejet des fragments de tégument et de cotylédon à l'intérieur du chorion de l'œuf vide qui prend une couleur blanchâtre (Fig. 5). La larve se développe en consommant les réserves cotylédonaires de la graine (Ouedraogo, 1978). Une galerie grossière et contournée est ainsi creusée, formée de segments de diamètre croissant du à la croissance par mue. Après 4 stades larvaires (Fig. 6), la nymphose intervient à l'intérieur d'une loge tapissée d'acide urique creusée par la larve à la périphérie de la graine (Doury, 1995). L'imago découpe ensuite un opercule circulaire dans le chorion et émerge. La durée de développement, de la ponte à l'émergence est de 22 à 25 jours selon la température. L'accouplement a lieu souvent immédiatement après l'émergence.

C. maculatus présente un polymorphisme imaginal caractérisé par deux formes (Utida, 1954):

- ① Une forme non voilière à fécondité élevée, adaptée aux conditions des stocks.
- ② Une forme voilière à faible fécondité, responsable de l'infestation dans les cultures.

Le passage de la forme non voilière à la forme voilière est contrôlée essentiellement par les conditions dans les stocks (qualité du substrat trophique, densité larvaire dans les graines, humidité des graines, température, variation de la thermopériode) (Ouedraogo *et al.*, 1991).

2-3 Conditions d'élevage au laboratoire

La souche utilisée pour les expérimentations a été maintenue au laboratoire sur des graines de Niébé de la variété Back Eye California dans une étuve sous les conditions thermo- et photopériodiques suivantes : 30°C : 25°C, L :D 12 :12, 30% h. r. Les graines de Niébé

importées d'origines diverses étaient congelées avant utilisation, pour éviter l'introduction d'une autre espèce de phytophage, et pour éviter d'introduire dans les élevages des acariens entomophages extrêmement nuisibles. Plusieurs centaines d'adultes *C. maculatus* mâles et femelles étaient placés dans des boîtes en Plexiglas (17,5 x 11,5 x 3 cm) à demi remplies de graines. Dans ces conditions d'élevage, l'espèce est polyvoltine, et une génération se développe en 25 jours environ. 17 à 19 jours après la ponte, les graines étaient tamisées pour éliminer les animaux morts et séparées en deux lots. Une partie des graines contenant des bruches aux stades L4 ou nymphe était prélevée pour les expériences. Le reste des graines était replacé dans l'étuve jusqu'à l'émergence. Les bruches adultes issues de ce lot étaient utilisées pour fournir une nouvelle génération d'hôtes.

3- Les parasitoïdes : *Dinarmus basalis* (Rondani) et *Eupelmus vuilleti* (Crawford)

3-1 *Dinarmus basalis* (Fig. 7)



Figure 7 – *Dinarmus basalis* adultes mâle (à gauche) et femelle (à droite). (× 20)

3-1-1 Description

Décrit pour la première fois sous le nom d'*Entedon basalis* par Rondani en 1877, il fut ensuite répertorié comme *Bruchobius laticeps* (Rasplus, 1988) et confondu avec des espèces proches avant que Rasplus en 1989 révisé et fixe sa position systématique et son nom. Cette espèce est un ectoparasitoïde solitaire tropical cosmopolite spécialiste des larves, pré nymphes et nymphes de coléoptères Bruchidae de plusieurs genres (*Acanthoscelides*, *Bruchidius*, *Callosobruchus*, *Zabrotes*) (van Alebeek, 1991 ; Mendoza, 2000 ; Campan & Benrey, 2004). Les adultes *D. basalis* sont de couleur noir brillant. Ils présentent un dimorphisme sexuel net :

les mâles (2 à 2.5 mm) sont plus petits que les femelles (3 à 3.5 mm) et sont reconnaissables à la réserve séminale qui forme une poche claire visible à travers les segments abdominaux antérieurs transparents. Les femelles sont de couleur uniforme et leur abdomen est plus fusiforme. Mâles et femelles se déplacent en marchant mais sont également capables de vol quand la température est suffisante.

Position systématique (Rasplus, 1989) :

Ordre : Hymenoptera

Sous-ordre : Apocrita

Super-famille : Chalcidoidea

Famille : Pteromalidae

Sous-famille : Pteromalinae

Genre : *Dinarmus* Ashmead 1904

Espèce : *basalis* Rondani 1877.

3-1-2 Reproduction

Appareil reproducteur (Fig. 8)

L'appareil reproducteur des femelles comprend une paire d'ovaires occupant environ les deux tiers de l'abdomen. Chaque ovaire est formé de 3 ovarioles dans lesquels vont se développer les ovocytes. Les ovarioles sont de type polytrophique ; des cellules nourricières ou trophocytes accompagnent l'ovocyte durant sa migration du germarium au calice et lui fournissent les nutriments nécessaires à son développement. L'ovaire débouche dans un oviducte latéral. Les deux oviductes latéraux se rejoignent pour former l'oviducte commun puis le vagin. Le vagin débouche à la base de l'ovipositeur. La spermathèque qui permet le stockage des spermatozoïdes déposés dans le vagin lors d'un accouplement se situe à la jonction oviducte commun-vagin.

Divers types de glandes sont associés à l'appareil reproducteur de *D. basalis*. Certaines ont un rôle reconnu dans les interactions hôte-parasitoïde et intraspécifiques.

① **Les glandes collétériques** : Une seule paire de glandes collétériques chez *D. basalis* (Lang-Combescot, 1992) débouche dorsalement à la jonction oviducte commun-vagin. Chez les hyménoptères, ces glandes produiraient des sécrétions recouvrant les œufs (King & Ratcliffe, 1969), servant à l'élaboration du tube alimentaire (Flanders, 1934 ; King &

Ratcliffe, 1969), lubrifiantes de l'ovipositeur (Wilkes, 1965), ou agissant comme une phéromone de marquage (Strand & Vinson, 1982).

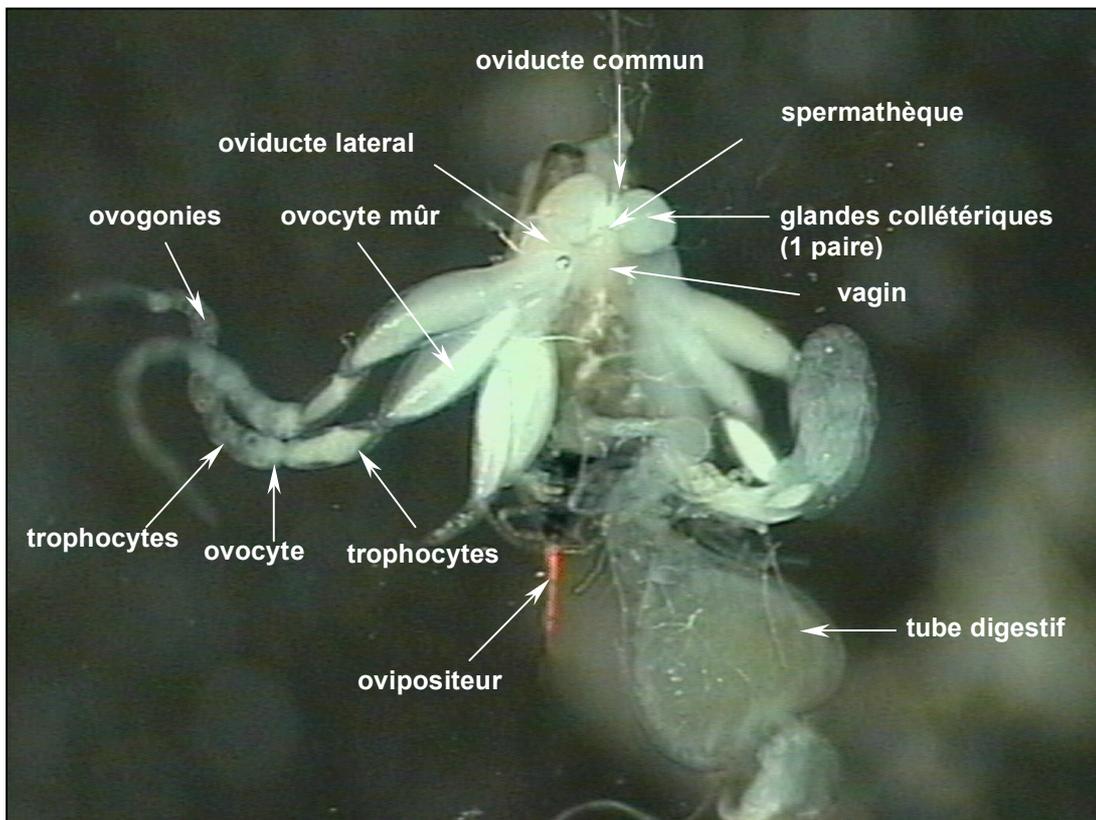


Figure 8 – Appareil reproducteur d'une femelle *D. basalis*. (× 40)

② **Les glandes accessoires** (Fig. 9), glande de Dufour et glande à venin se jettent à la jonction vagin-ovipositeur.

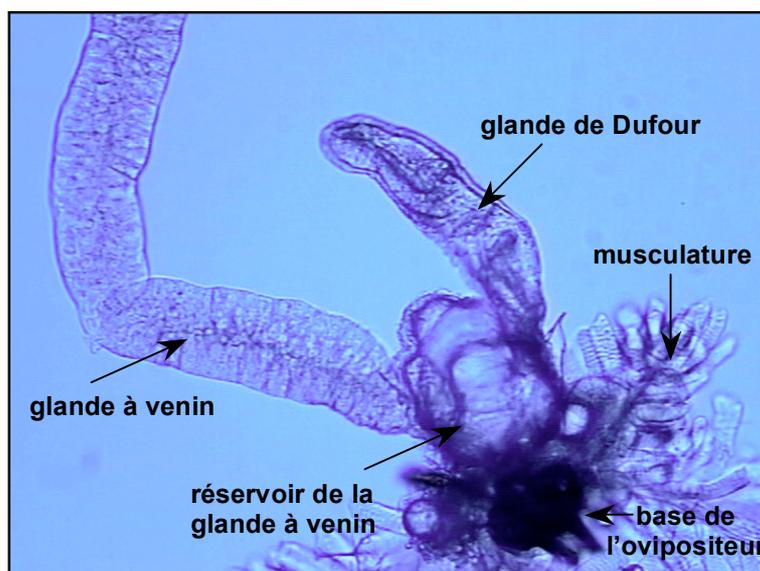


Figure 9 – Glandes accessoires de l'appareil reproducteur d'une femelle *D. basalis*. (× 100)

La glande de Dufour (Dufour, 1834) ou glande alcaline, est une petite glande exocrine d'origine ectodermique. C'est une glande oblongue composée d'une unique couche de cellules épithéliales. Elle est prolongée par un fin conduit efférent qui s'ouvre à la base de l'ovipositeur. Lors de la ponte, elle libérerait des substances huileuses lubrifiantes de l'ovipositeur (Porter, 1961), facilitant le passage de l'œuf, et des polypeptides impliqués chez certaines espèces dans l'adhérence de l'œuf sur l'hôte (Gnatzy *et al.*, 2004). Elle a d'autre part été décrite comme le site de synthèse des substances de marquage de l'hôte chez *Campoletis perdistinctus* (Hymenoptera: Ichneumonidae) (Guillot & Vinson, 1972), chez *Nemeritis canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae) (Mudd *et al.*, 1982 ; Harrison *et al.*, 1985 ; Hubbard *et al.*, 1987) chez *Cardiochiles nigriceps* (Braconidae) (Guillot *et al.*, 1974). Chez ces espèces, la glande de Dufour produit une sécrétion huileuse, composée principalement d'hydrocarbures, déposée à la surface de l'hôte lors de la posture de marquage. Cette sécrétion agirait comme une kairomone permettant l'évitement du superparasitisme pour les femelles conspécifiques explorant un hôte déjà parasité (Mudd *et al.*, 1982 ; Marris *et al.*, 1996). Chez certaines espèces endoparasitoïdes, la glande de Dufour sécréterait des substances entourant l'œuf qui neutraliserait l'action du venin (Copland & King, 1972) ou empêcherait la réaction d'encapsulation de l'œuf par les hémocytes de l'hôte (Osman & Führer, 1979). Elle peut également produire chez *Cardiochiles nigriceps* (Braconidae) une phéromone sexuelle (Vinson, 1978 ; Syvertsen *et al.*, 1995). Le rôle de cette sécrétion n'a cependant pas été déterminé chez les Pteromalidae (Jaloux, 2000 ; Howard & Baker, 2003).

La glande à venin ou glande acide, d'origine ectodermique elle aussi, est une longue glande tubulaire non ramifiée reliée à un réservoir. La glande possède une structure glandulaire exocrine caractéristique, avec des unités sécrétrices composées d'une cellule sécrétrice de type dermale (Noirot & Quennedey, 1974) et d'une cellule conduit, disposées en couronnes concentriques autour d'un canal central (Gnatzy & Volkmandt, 2000). Le réservoir bilobé, recouvert par un fin réseau de fibres musculaires s'ouvre par un fin canal à la base de l'ovipositeur. La glande à venin est impliquée chez certaines espèces dans la production de phéromones de marquage (Greany, 1971 ; Bragg, 1974 ; Yamaguchi, 1987) mais serait surtout spécialisée dans la production de polypeptides toxiques induisant un arrêt ou un ralentissement de la croissance ou du développement (Coudron *et al.*, 2000), une paralysie de l'hôte ou sa mort (King & Ratcliffe, 1969). Chez de nombreuses espèces endoparasitoïdes, la glande à venin produirait des mucopolysaccharides empêchant l'encapsulation de l'œuf par l'hôte (Osman & Führer, 1979).

③ **Les oviductes latéraux** et plus particulièrement une zone sécrétrice (le calice) produirait une sécrétion contenant des substances lubrifiantes pour le passage des œufs dans l'ovipositeur (King & Ratcliffe, 1969). Cette sécrétion peut également jouer un rôle dans le ralentissement de la croissance de l'hôte (Guillot & Vinson, 1972b) et héberger chez certaines espèces des polydnavirus intervenant au niveau du système immunitaire de l'hôte (Stoltz & Vinson, 1979). L'oviducte commun, court et difficilement discernable des oviductes latéraux semble peu ou pas sécréteur chez *D. basalis* (Lang-Combecot, 1992). La spermathèque produirait des sécrétions impliquées dans la migration des spermatozoïdes (King, 1962). Le vagin et la base de l'ovipositeur possèderaient des structures sécrétrices (Rojas-Rousse, 1980) produisant des sécrétions dont la fonction reste inconnue.

L'ovipositeur des hyménoptères est constitué de cinq paires de pièces ectodermiques, 2 paires de valvifères et 3 paires de valves (Copland & King, 1972) :

① Les valvifères correspondent à des pièces en liaison avec les tergites de l'abdomen. Ces pièces ne sont jamais introduites à l'intérieur de la graine durant la ponte.

② Les valves 1, ventrales et allongées, présentent sur le bord dorsal un sillon : l'aulax.

③ Les valves 2, dorsales et également allongées portent sur les bords dorsaux des rhachis, sortes de rails s'emboîtant dans l'aulax des valves 1. Les valves 1 et 2 peuvent coulisser autour d'un canal de ponte et portent à leur extrémité des denticules formant une véritable scie.

④ Les valves 3, palpiformes, entourent dans leur partie interne concave, la hampe de l'ovipositeur formée par les valves 1 et 2.

Type de Reproduction

D. basalis est une espèce synovigénique, c'est à dire que l'ovogenèse est continue durant la vie adulte, le nombre d'œufs matures en rétention est renouvelé quotidiennement (Flanders, 1950).

Comme chez la plupart des hyménoptères parasitoïdes, la reproduction est de type haplo-diploïde : les femelles diploïdes sont issues d'une reproduction sexuée, les mâles haploïdes sont issus d'une parthénogénèse arrhénotoque (Doutt, 1964). La femelle parasitoïde peut contrôler la libération des spermatozoïdes contenus dans la spermathèque (Godfray, 1994). La libération de spermatozoïdes produit un œuf femelle diploïde alors qu'un mâle

haploïde est issu d'un œuf non fécondé. La femelle peut ainsi contrôler la sex-ratio de sa descendance en fonction des conditions (Doutt, 1959 ; Waage, 1985). Les femelles, plus grosses, nécessitent un hôte de meilleure qualité que les mâles. De nombreux modèles prédisent un contrôle par la femelle du sexe de sa descendance selon la capacité de l'hôte à assurer le développement de la larve (Hamilton, 1979 ; Charnov *et al.*, 1981 ; King, 1987). *D. basalis* a été utilisé dans de nombreuses études portant sur le stockage des spermatozoïdes et la sex-ratio de la descendance (Fujii & Wai, 1990 ; Nishimura, 1993 ; Chevrier & Bressac, 1997 ; Gauthier *et al.*, 1997 ; Bressac & Chevrier, 1998 ; Damiens *et al.*, 2001 ; Campan & Benrey, 2004). Il a notamment été observé chez cette espèce une plus grande proportion de femelles sur des hôtes de grande taille (L4), correspondant à des hôtes de qualité élevée.

Comportement de ponte (FIG. 10)

Le comportement de ponte des femelles *D. basalis* correspond au cas général décrit par Vinson (1976) et van Lenteren *et al.* (1980). Comme, chez *E. vuilleti*, la recherche de graines par la femelle *D. basalis* semble faire appel à l'expérience pré imaginale : la femelle à l'émergence va chercher l'odeur de la graine dont elle est issue (Cortesero *et al.*, 1993). La femelle *D. basalis* localise rapidement les graines contenant des hôtes potentiels. Il semble que des indices odorants volatils résultant de l'activité de l'hôte rendent les graines plus attractives que les graines non attaquées par le ravageur (Gauthier *et al.*, 2002).

Une fois la graine contenant un ou plusieurs hôtes potentiels découverte, la femelle monte sur la graine et entame presque immédiatement une séquence de prospection externe. Cette dernière est caractérisée par des déplacements sinueux et lents ainsi que par un balayage antennaire intense du tégument (Drumming, Fig. 10 A) (Gauthier, 1996 ; Jaloux, 2000). La perception de la loge nymphale à travers le tégument est suivie d'une phase de perforation. Chez cette espèce, la perforation est réalisée directement à l'aplomb de la loge de l'hôte (Gomez Alvarez, 1980). La femelle s'arc-boute, amenant l'extrémité de la tarière au niveau du tégument à perforer (Fig. 10 B). Le forage (Fig. 10 C) est réalisé grâce au glissement des deux valves de la tarière l'une contre l'autre, ce qui se traduit par des oscillations du corps de la femelle. L'abdomen de la femelle revient ensuite progressivement à l'horizontal. Une fois l'ovipositeur introduit à l'intérieur de la loge nymphale, les oscillations laissent place à des mouvements plus amples et des torsions de l'abdomen et de l'ovipositeur, correspondant à la prospection interne de la loge et de l'hôte à l'aide de l'extrémité sensorielle de l'ovipositeur (Fig. 10 D). Contrairement à ce qui se passe chez *E. vuilleti* (Cortesero, 1994), cette phase

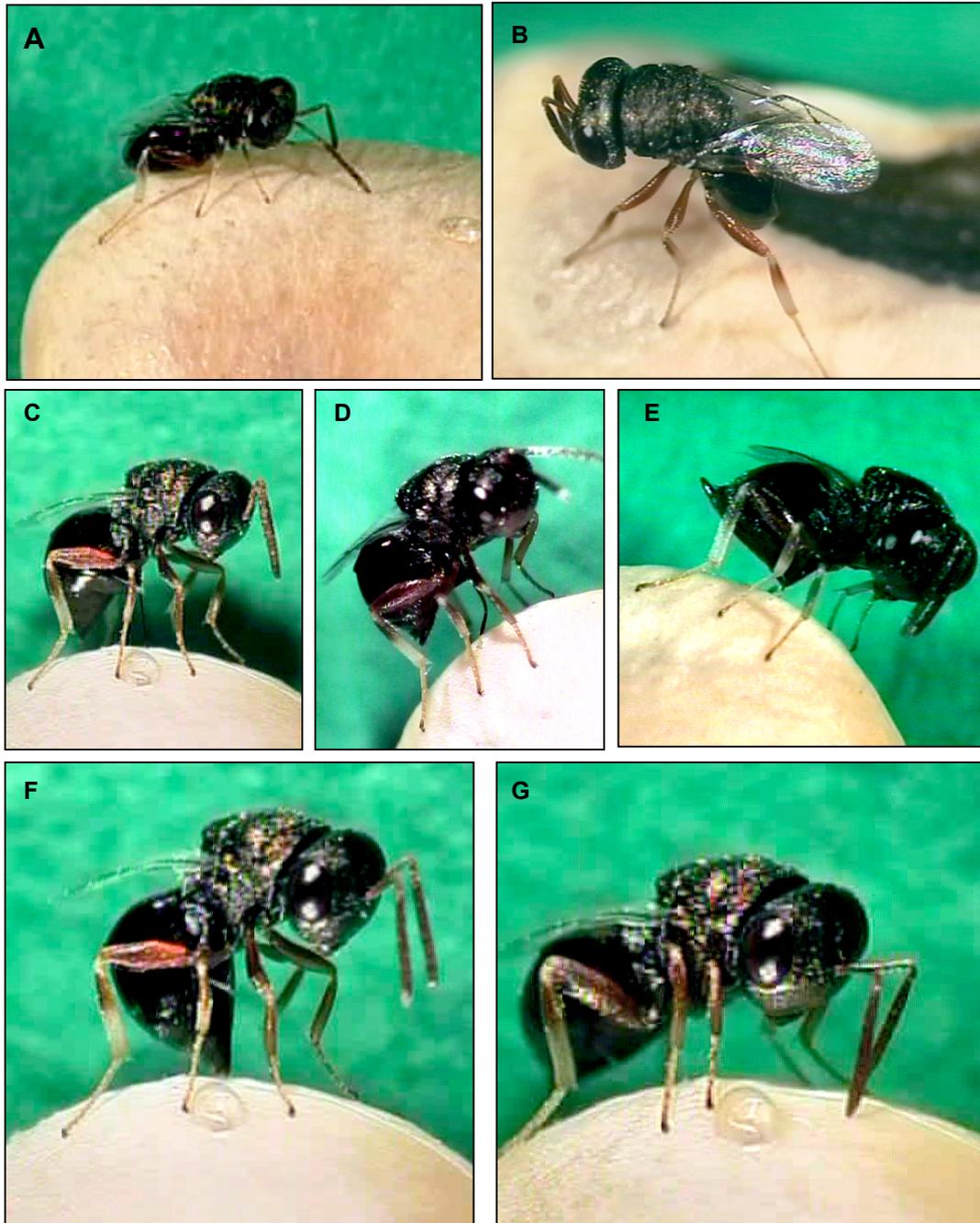


Figure 10 – Le comportement de ponte des femelles *D. basalis*.
A : drumming ; **B** : insertion de l'ovipositeur ; **C** : forage ; **D** : prospection interne ;
E : ponte ; **F** : posture de marquage ; **G** : balayage antennaire de la marque.

s'accompagne rarement de piqûre. A l'issue de cette phase de prospection interne, la femelle peut interrompre la séquence comportementale et retirer son ovipositeur. Elle reprend alors une séquence de prospection ou quitte la graine.

L'exploitation de l'hôte peut prendre deux formes : la ponte proprement dite ou le nourrissage sur l'hôte (Rivero & Casas, 1999b). Ce phénomène paraît cependant moins fréquent et a été moins étudié que chez *E. vuilleti*. Si elle utilise l'hôte pour y pondre, la femelle *D. basalis* s'immobilise et son abdomen se contracte pour adopter une forme en triangle caractéristique de la ponte (Fig. 10 E). L'œuf est déposé sur l'hôte ou sur la paroi de la loge. Le retrait de l'ovipositeur est généralement suivi d'une posture décrite chez d'autres espèces comme une posture de marquage (Bosque & Rabinovitch, 1979) (Fig. 10 F): la femelle recourbe son abdomen entre ses pattes, l'extrémité se retrouvant précisément au point d'insertion de l'ovipositeur. Elle effectue quelques tâtonnements concentriques avec l'extrémité de son abdomen puis reprend sa position initiale. Immédiatement après, la femelle *D. basalis* recule et balaie de ses antennes la zone (Fig. 10 G). Après une séquence comportementale complète de ponte, la femelle reste généralement sur la graine, et initie le plus souvent une phase de toilettage (grooming) caractérisée par un ensemble de mouvements de frottement, notamment des pattes postérieures sur la cuticule abdominale (Foltyn & Gerling, 1985).

Capacité de discrimination intraspécifique

D. basalis est capable de discrimination intraspécifique. Cette discrimination est effectuée grâce à la perception de l'œuf de la compétitrice conspécifique ou du transfert d'un facteur chimique de l'œuf vers l'hôte parasité (Gauthier & Monge, 1999). Cette discrimination interne, grâce aux récepteurs sensoriels de l'ovipositeur, est moins étudiée que la discrimination externe. Elle a cependant été décrite chez des espèces de plusieurs familles (Hofsvang, 1990) et notamment chez des Pteromalidae : *Muscidifurax zaraptor* (Wyllie, 1971), *Nasonia vitripennis* (Wyllie, 1965), et *Spalanga endius* (Propp & Morgan, 1983). La perception de ce signal par des femelles *D. basalis* exploitant des patches d'hôtes parasités 24 ou 72 h auparavant leur permettrait d'éviter de pondre sur des hôtes présentant une qualité médiocre pour le développement de leur descendance (Gauthier & Monge, 1999).

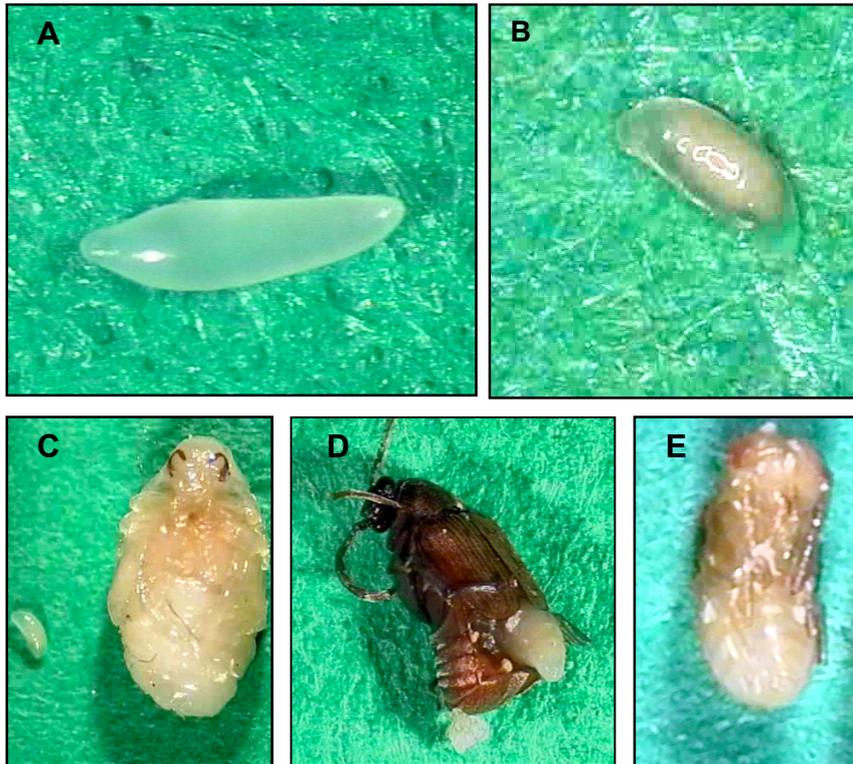


Figure 11 – Développement de *D. basalis*.

A : œuf ; **B** : larve d'1 jour ; **C** : jeune larve et son hôte ; **D** : larve âgée dans imago ; **E** : nymphe.

Développement pré imaginal

L'œuf de *D. basalis*, de type centrolécithe, est de forme oblongue (600µm x 150 µm), et légèrement courbé (Fig. 11 A). Il ne possède pas de pédicelle. Dans les conditions d'élevage, l'éclosion intervient environ 30 h après la ponte. Le développement comprend cinq stades (Roger, 1984). Les larves L1 (Fig. 11 B), L2 et L3 de forme semblable diffèrent par la taille qui croît rapidement. Les larves sont arquées, blanches, apodes et possèdent des mandibules sclérifiées brun noir. Comme chez tous les ectoparasitoïdes solitaires, le développement larvaire est précédé de l'élimination physique des éventuelles larves surnuméraires (Fisher, 1961). La larve néonate, très active et mobile explore toute la surface de son hôte avant d'entamer toute phase de nutrition sur l'hôte (Fig. 11 C et 11 D). Lorsqu'elle arrive au contact d'un œuf, elle le perce à l'aide de ces mandibules. S'il s'agit d'une larve, les deux compétitrices combattent, la larve la plus âgée étant généralement vainqueur et la seule survivante (Wai & Fujii, 1990). La prénymphe se distingue par la différenciation des segments thoraciques. La mue nymphale intervient environ 12 jours après la ponte. Les ébauches d'appendices imaginaux apparaissent et la nymphe de couleur ambre (Fig. 11 E) noircit, les yeux deviennent rouges. Le 14^{ème} jour, quelques heures après la mue

imaginale, le nouvel adulte émerge de la graine, les mâles émergeant en moyenne un jour avant les femelles (Gomez Alvarez, 1980).

Accouplement

Les mâles émergent, dans les conditions d'élevage, quelques jours avant les femelles. L'accouplement a lieu peu après l'émergence des femelles. En général, un seul accouplement permet à la femelle parasitoïde de disposer d'un stock de spermatozoïdes suffisant pour la fécondation des œufs produits durant toute sa vie (Walker, 1980; Caubet, 1993). Chez certaines espèces (Thornhill & Alcock, 1983 ; Eberhard, 1996) dont *D. basalis* (Chevrier & Bressac, 2002), les accouplements multiples des femelles sont fréquents, liés, chez *D. basalis*, au nombre limité de spermatozoïdes transférés par accouplement.

Le comportement sexuel des mâles est stimulé par la présence de femelle. Chez la plupart des hyménoptères parasitoïdes, la femelle émet un signal chimique perçut par les mâles grâce à des récepteurs antennaires (van den Assem, 1991). Le mâle *D. basalis* effectue une cour, consistant en la sollicitation de la femelle qui se dérobe quelques secondes avant de s'immobiliser. Le mâle touche de ses antennes l'extrémité de l'abdomen de la femelle puis monte sur son dos. Durant la copulation qui dure entre 24 et 29 secondes, de nombreux contacts antennaires ont lieu. Après quelques secondes, le mâle quitte la femelle, il n'existe pas chez cette espèce de cour post-copulatoire. (Gomez Alvarez, 1980 ; Chevrier & Bressac, 2002).

3-2 *Eupelmus vuilleti* (Fig. 12)



Figure 12 – *E. vuilleti* adultes mâle (à gauche) et femelle (à droite). (× 10)

3-2-1 Description

Eupelmus vuilleti est un hyménoptère ectoparasitoïde solitaire des larves et des nymphes de coléoptères bruchidae (Terrasse & Rojas-Rousse, 1986), tout comme *D. basalis*. Il a été décrit pour la première fois par Crawford (1913) sous le nom de *Bruchocida vuilleti*. Son spectre d'hôte inclus un grand nombre d'espèces de Bruchidae des genres *Bruchidius*, *Callosobruchus* et *Caryedon* (Prevett, 1966 ; Rasplus, 1986). Les adultes présentent un dimorphisme marqué, les femelles (4 à 6 mm) sont couleur bronze irisé de vert et sont pourvues d'une tarière repliée au repos dans un fourreau formé par la troisième paire de valves à l'extrémité de l'abdomen renflé. Elles se déplacent en marchant et sont aussi capables de sauts importants parfois suivis d'un amortissement plané de la descente, mais sont incapables d'envol ou de vol prolongé comme la plupart des Eupelmidae (Clausen, 1940). Ces sauts rapides semblent intervenir dans la réaction de fuite de la femelle confrontée à un danger. Les mâles sont plus petits (1 à 4 mm), noirs brillants et sont pourvus de grandes antennes. Incapables de saut comme les femelles, ils peuvent effectuer des vols prolongés qui pourrait leur conférer une capacité de dispersion plus grande que celle des femelles.

L'aire de répartition d'*E. vuilleti* est plus restreinte que celle de *D. basalis*. S'il a été observé en Inde (Nikol'skaya, 1963), il est essentiellement rencontré sur le continent africain, de Madagascar au Sénégal (Ndoutoume-Ndong, 1996) et semble inféodé au climat sahélien (ou soudanien) (Amévoïn *et al.*, 2003). En Afrique de l'Ouest, *E. vuilleti* est souvent l'espèce la plus abondante dans les cortèges parasitaires des ravageurs des stocks de Niébé (Huignard & Monge, 1991).

Position systématique (Ndoutoume-Ndong, 1996) :

Ordre : Hymenoptera

Sous-ordre : Apocrita

Super-famille : Chalcidoidea

Famille : Eupelmidae

Genre : *Eupelmus*

Espèce : *vuilleti* Crawford 1913.

3-2-2 Reproduction

Type de reproduction

Comme chez *D. basalis*, les femelles sont issues d'une reproduction sexuée, alors que les mâles haploïdes proviennent d'une parthénogenèse arrhénotoque. *E. vuilleti* est aussi une espèce synovigénique. De même, la femelle *E. vuilleti* est capable de contrôler le sexe de sa descendance, ce qui se traduit par une modification de la sex ratio en fonction des conditions rencontrées. Ainsi, le taux sexuel dépend de la taille et du stade de l'hôte sur lequel les œufs sont déposés. Il est biaisé en faveur des mâles sur des larves de stade L3, voisin de 0,5 sur des larves de stades L4, et biaisé en faveur des femelles en présence de nymphes (Terrasse, 1986).

Comportement de ponte

La femelle *E. vuilleti* est sensible aux odeurs de gousses et de graines de Niébé mûres et sont attirées par les odeurs de bruches aux stades larvaires ou nymphaux ainsi que par les fèces de bruche (Cortesero *et al.*, 1993). Une fois sur la graine, la femelle balaie de ses antennes le tégument de la graine. La plupart du temps, la femelle localise la présence d'un hôte potentiel par la détection du chorion de l'œuf de bruche (Terrasse, 1986). Elle peut alors accéder à l'hôte grâce à deux chemins distincts, en forant son propre orifice ou en utilisant la galerie de l'hôte. Si elle utilise la galerie de l'hôte, la femelle s'immobilise et s'arc-boute à l'aplomb de l'œuf. Le stylet de l'ovipositeur est libéré de la troisième paire de valves qui le protège au repos puis est inséré dans le chorion de l'œuf de bruche. L'abdomen fait alors un angle proche de 90° avec le reste du corps. L'ovipositeur suit la galerie creusée par la larve-hôte au cours de son développement jusqu'à la loge de l'hôte. Bien que l'accès par la galerie de l'hôte soit décrit comme l'accès privilégié par les femelles de cette espèce (Leveque, 1991), le forage du tégument directement à l'aplomb de la loge de l'hôte n'est pas rare (Jaloux, observations personnelles). Une fois dans la loge, la femelle inspecte le tégument de l'hôte et la paroi de la loge à l'aide de l'extrémité de son ovipositeur long et flexible. A l'issue de cette exploration, la femelle peut soit retirer son ovipositeur si les conditions favorables à la ponte ne sont pas réunies, soit accepter l'hôte et pondre. Si elle l'accepte, l'exploration de l'hôte est suivie de piqûres provoquant des contorsions de l'hôte et laissant des tâches brunâtres visibles sur le tégument. Ces piqûres sont accompagnées de l'injection de venin paralysant (El Agoze, 1983). Durant la phase de prospection interne de la loge et de l'hôte, la perception de la présence d'une larve ou d'un œuf d'une compétitrice allospécifique déclenche généralement chez la femelle un comportement agressif (van Alebeek, 1991 ;

Leveque *et al.*, 1993). S'il s'agit d'un œuf, le comportement ovicide consiste à percer à l'aide de l'ovipositeur l'œuf qui se vide (Nell & van Lenteren, 1982 ; Arakawa, 1987). S'il s'agit d'une larve, le comportement larvicide consiste à piquer plusieurs fois la larve avec injection de venin.

Comme chez de nombreux Eupelmidae (Delanoue & Arambourg, 1965 ; Askew, 1971), l'exploitation de l'hôte peut prendre deux formes : la ponte proprement dite ou le nourrissage sur l'hôte (Host feeding). Le nourrissage est rendu possible par l'élaboration d'un tube alimentaire, composé de tissus de l'hôte (hémolymph) et de sécrétions de l'ovipositeur. La femelle lèche l'hémolymph de l'hôte qui monte par capillarité dans le tube alimentaire. Pour la femelle *E. vuilleti*, le nourrissage sur l'hôte permet à la femelle d'obtenir une grande quantité de protéines et de glucides utilisée pour maintenir la demande importante en protéine associée à la production d'œufs et les coûts énergétiques liés à la survie (Rivero & Casas, 1999 ; Rivero *et al.*, 2001 ; Giron, 2002 ; Giron *et al.*, 2002). La femelle se trouve donc en présence d'un Trade off : pondre ou se nourrir pour augmenter son stock d'œufs matures disponibles. Le nourrissage sur l'hôte chez les parasitoïdes a fait l'objet de nombreuses études théoriques ayant pour but de prévoir les conditions physiologiques et environnementales optimales sous lesquelles une femelle va ignorer une opportunité de reproduction immédiate dans le but de se nourrir et d'augmenter ses opportunités futures (Jervis & Kidd, 1986 ; Chan & Godfray, 1993 ; Heimpel *et al.*, 1998).

Si le processus de ponte est enclenché, la femelle s'immobilise complètement, l'abdomen prend alors une forme triangulaire caractéristique. Durant cette phase, la femelle semble peu réceptive à des stimuli extérieurs, ce qui peut augmenter considérablement le risque de prédation. La femelle dépose un œuf pédicellé soit à la surface du tégument de l'hôte, soit à proximité, sur la paroi de la loge. L'ovipositeur est ensuite retiré de la graine et ramené à l'horizontal pour être à nouveau recouvert par la troisième paire de valves. Après la ponte, la femelle peut recouvrir son œuf ou le chorion de l'œuf de son hôte d'un cocon tissé d'un fil de soie (Terrasse, 1986). En dehors de ce comportement qui peut être interprété comme une forme de marquage, aucune posture caractéristique de marquage n'a été observée chez cette espèce.

Capacité de discrimination intraspécifique

Les capacités de discrimination intraspécifique d'*E. vuilleti* ne sont pas clairement établies et leur interprétation varie selon les auteurs. Pour Terrasse & Rojas-Rousse (1986), *E. vuilleti* reconnaît les hôtes parasités par les conspécifiques et évite le superparasitisme, probablement grâce à la perception d'un stimulus interne. Pour Cortesero (1994), les femelles *E. vuilleti* ne présentent pas de stratégie d'évitement du superparasitisme. Elle a observé un taux important de superparasitisme (36%) alors qu'un nombre important d'hôtes présentés aux femelles n'était ni exploité ni même visité. Ce fort taux de superparasitisme a été retrouvé chez d'autres Eupelmidae, notamment chez *Eupelmus orientalis*, une espèce proche d'*E. vuilleti* (Doury & Rouse, 1994). Enfin, lors d'études préliminaires, nous avons constaté que *E. vuilleti* reconnaissait les hôtes parasités par une conspécifique, mais cette discrimination se traduisait par la recherche du superparasitisme en situation de choix entre deux hôtes, l'un sain et l'autre parasité. Il semble qu'*E. vuilleti* pratique l'ovicide en situation de compétition intraspécifique, bien qu'aucune donnée soit disponible quant à la fréquence de ce comportement.

Cette espèce semble capable d'adapter le nombre et la sex ratio de sa descendance en fonction du type d'hôte parasité prospecté. Ainsi, lorsqu'une femelle prospecte un hôte qu'elle a déjà parasité, la sex ratio est biaisée en faveur des femelles (Darrouzet *et al.*, 2003). Ce phénomène suggère que cette espèce possède un système performant de discrimination intraspécifique. Les modalités de cette reconnaissance restent inconnues.



Figure 13 – œuf d'*E. vuilleti* sur une larve de *C. maculatus*. (× 100)

Développement pré imaginal

L'œuf d'*E. vuilleti*, de forme ovoïde, est lisse et translucide (Fig. 13). Il mesure environ 800 μm de long pour un peu moins de 200 μm de large et porte un pédicelle d'environ 350 μm (Cortesero, 1994). Il porte également un pédoncule beaucoup plus court (60 μm) et de faible diamètre à son pôle micropylaire (Gomez Alvarez, 1980). Le développement larvaire comprend 5 stades larvaires de type hyménoptéroïde (De Bach, 1964) ne présentant aucune différence morphologique. Les larves sont blanches et apodes. La capsule céphalique lisse de taille extrêmement réduite est pourvue de mandibules acérées. Ces mandibules sont creusées d'un canal relié aux glandes salivaires. Elles permettent la fixation de la larve sur le tégument de leur hôte durant la nutrition et jouent un rôle important lors des combats larvaires (Delanoue & Arambourg, 1965 ; Leveque *et al.*, 1993). Dès qu'elle s'est libérée du chorion de l'œuf, la larve néonate est assez active et se déplace à la surface du tégument de l'hôte. Au premier stade larvaire, les mandibules fines, lisses et très arquées, de teinte brun clair, mesurent chacune 30 μm environ de la pointe à l'épaulement ; au dernier stade larvaire, leur longueur est d'environ 50 μm . Cinq jours après la ponte, les larves L5 cessent de s'alimenter et présentent une coloration grisâtre. Elles rejettent une quantité importante de fèces noirâtre (méconium) et reprennent une coloration blanche. La mue nymphale a lieu environ 3 jours plus tard. La nymphe, blanche à l'origine, se colore rapidement en ambre clair puis progressivement en brun foncé (Fig. 14). Dans les conditions d'élevage, l'émergence a lieu environ 16 à 17 jours après la ponte, 48 heures environ après celle de *D. basalis*, les mâles émergeant un jour avant les femelles (van Alebeek, 1991).



Figure 14 – Nymphe âgée de femelle *E. vuilleti*. ($\times 40$)

Accouplement

L'unique accouplement a lieu immédiatement après l'émergence des femelles (Terrasse, 1986). Le mâle poursuit la femelle pendant quelques secondes puis l'aborde latéralement avant de sauter brusquement sur son thorax. Le mâle, dont la tête se situe alors juste au-dessus de celle de la femelle, entreprend des contacts antennaires. La femelle, peu affectée dans son comportement par la présence du mâle, continue de se déplacer. Au bout de quelques minutes, le mâle abandonne le thorax pour placer l'extrémité postérieure de son abdomen sous celui de la femelle. Après la copulation, qui est très rapide, le mâle retourne sur le thorax de la femelle qui ne tarde pas à le chasser (Cortesero, 1994). Selon Terrasse (1986), les femelles de cette espèce refusent tout autre accouplement et ne s'accoupleraient qu'une seule fois au cours de leur vie.

3-3 Elevages au laboratoire (Fig. 15)

La souche d'*E. vuilleti* et la souche de *D. basalis* étudiées sont originaires des environs de Dapaong, région de culture importante du Niébé en zone soudanienne au nord du Togo. Dans cette zone caractérisée par une seule saison sèche d'octobre à mai, les deux espèces de parasitoïdes sont fréquemment retrouvées exploitant les mêmes hôtes, *Callosobruchus maculatus*, *Callosobruchus rhodesianus* ou *Bruchidius atrolineatus* (Coleoptera : Bruchidae) simultanément dans les greniers (Tchassanti, 1995). Ces souches issues de populations sympatriques ont été développées à partir d'individus émergeant de graines de Niébé infestées achetées sur le marché de Dapaong à des producteurs locaux. Elles sont maintenues au laboratoire dans des conditions comparables.

Les cages à population en plexiglas (40 x 30 x 30 cm) sont placées dans une étuve aux conditions 35 : 25°C, 12 : 12 h ; L-D, 12 : 12 h ; Hr 70 ± 10 %. Ces cages contiennent une population de parasitoïdes mâles et femelles, un abreuvoir composé d'un réservoir et d'un coton imbibé d'une solution d'eau sucrée, et une quantité variable selon les besoins de boîtes de Pétri remplies de graines de Niébé contenant des hôtes *C. maculatus* au stade L4 ou nymphe. Ces hôtes sont renouvelés tous les 48 heures. Les boîtes de Pétri contenant les hôtes sont retirées des cages d'élevage puis sont mises dans une étuve sous les mêmes conditions photo- et thermopériodiques jusqu'à l'émergence des adultes. Une partie des adultes émergents est réintroduite dans la cage à population, la quantité de femelles nécessaire aux expériences est prélevée.

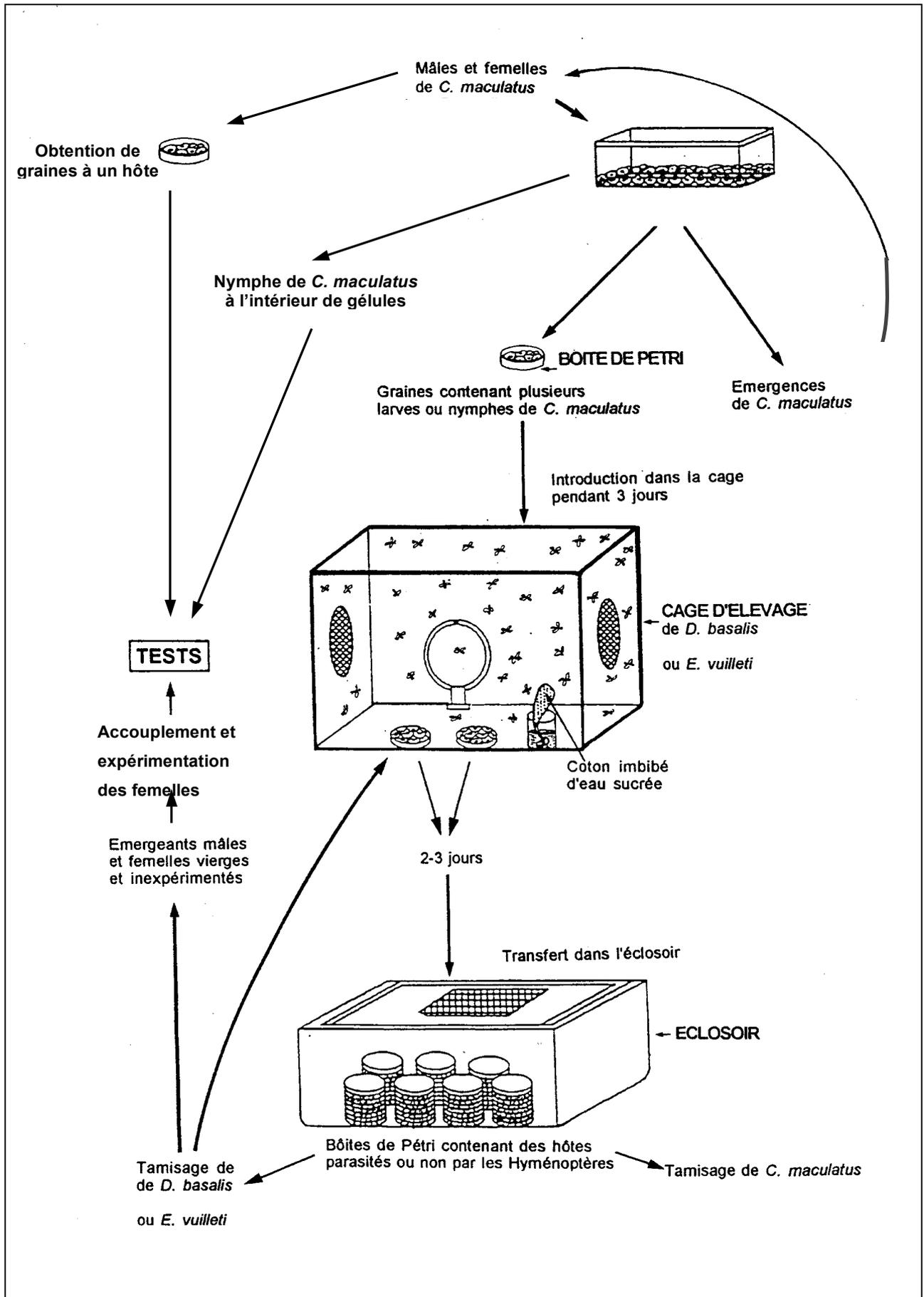


Figure 15 – Elevages des bruches et des parasitoïdes au laboratoire.

C- Protocole expérimental

1- Choix du test biologique

L'étude expérimentale d'une discrimination intra ou interspécifique peut être réalisée classiquement en effectuant deux types d'expériences, présentant chacune avantages et inconvénients. Le premier type d'expérience, historiquement le premier à avoir permis de démontrer la discrimination, est basé sur l'analyse de la répartition des pontes d'une ou plusieurs femelles parasitoïdes exploitant un patch composé d'hôtes sains et parasités en proportions connues (Salt, 1937 ; Arthur *et al.*, 1964 ; Vinson & Guillot, 1972). Une fois la femelle parasitoïde introduite dans l'arène, tout hôte parasité doit être immédiatement remplacé par un hôte du même type pour maintenir le ratio parasité/sain constant. Après une période suffisante permettant l'accomplissement d'un nombre important d'événements de ponte, la répartition des pontes entre les hôtes sains et parasités est comparée à une répartition aléatoire théorique. Cette méthode peu flexible nécessite en outre une grande quantité d'hôtes, une période d'expérimentation importante ainsi que l'observation de tous les hôtes pour détecter la présence d'une ponte éventuelle. Elle ne permet pas en outre de déterminer à quel niveau, externe ou interne, est réalisé la discrimination. Le second type d'expérience est basé sur l'observation du comportement. Il consiste à placer une femelle en situation de choix entre des hôtes sains et des hôtes parasités et à noter différents items comportementaux, leur durée et le type d'hôte attaqué (Hubbard *et al.*, 1987 ; Höller *et al.*, 1991 ; Marris *et al.*, 1996 ; Hofsvang, 1990) Cette dernière procédure présente de nombreux avantages : elle nécessite un temps d'observation limité et un petit nombre d'hôtes.

Nous avons défini un protocole de test biologique, basé sur la position de femelles *E. vuilleti* auxquelles nous avons proposé un choix simple entre deux hôtes, l'un sain et l'autre parasité par *D. basalis*. Nous avons étudié la dynamique de la répartition des femelles sur l'un ou l'autre des hôtes présentés. Nous avons ensuite défini un indice, permettant de déterminer le degré de préférence des femelles *E. vuilleti* en fonction des conditions d'expériences. Enfin, nous avons testé la validité de ce test biologique en tentant de retrouver par cette méthode la discrimination interspécifique par les femelles *E. vuilleti* des hôtes parasités par *D. basalis*, déjà démontrée par analyse de la répartition des pontes par van Alebeek *et al.* (1993).

2- Définition du protocole de test biologique

2-1 Conditions de l'expérience

Toutes les expériences ont été réalisées dans les conditions photo et thermopériodiques similaires à celles de l'élevage des parasitoïdes, c'est à dire 33° C, Hr 70 ± 10 %, avec un éclairage intense. Dans ces conditions, les femelles sont actives et présentent une activité de ponte importante.

2-2 Hôtes présentés

Les stades préférentiels de *C. maculatus* pour la ponte des deux espèces sont des larves aux stades L4, prénymphe et nymphe (Nishimura, 1993). Tous les hôtes présentés aux femelles étaient des prénymphe et des nymphe, stades de taille importante et facilement distinguables à l'aide d'une loupe binoculaire. Ces stades sont atteints 22 jours après la ponte dans les conditions d'élevage. Les hôtes ne sont exploitables par la femelle parasitoïde que s'ils sont présentés à l'intérieur d'une loge. Durant nos expériences, nous avons utilisé des hôtes enfermés à l'intérieur d'une loge naturelle, creusée par la larve de *C. maculatus* dans une graine ou d'une loge artificielle fabriquée à partir d'une gélule de type pharmaceutique.

2-2-1 Graines à un hôte

Les graines de Niébé peuvent héberger une quantité variable de larves de bruches en développement, jusqu'à 10 hôtes par graine environ. Dans le but d'éviter un biais éventuel dans le choix de la femelle parasitoïde lié au nombre d'hôtes présents à l'intérieur des graines, et pour faciliter la recherche d'un œuf de parasitoïde, seules des graines ne renfermant qu'un hôte sont utilisées lors du test biologique. Ces graines sont obtenues en présentant dans une boîte de Pétri une cinquantaine de graines de Niébé à 4 bruches femelles pendant 4 heures. Les bruches sont ensuite retirées et les boîtes placées dans l'étuve d'élevage. Cinq jours plus tard, les œufs ont éclos, ils deviennent visibles et sont moins fragiles. Les graines sont triées. Ne sont conservées que celles présentant un seul chorion blanchâtre à leur surface. Ces graines sont alors replacées dans l'étuve pour permettre le développement des larves. 22 jours après la ponte, une loge est visible par transparence, indiquant la présence d'un hôte à un stade avancé. Ces graines sont utilisées immédiatement ou conservées au réfrigérateur quelques jours jusqu'à leur utilisation pour les expériences.

2-2-2 Gélules

Dans le système tritrophique étudié, tout se passe à l'intérieur de la graine. Il nous est impossible d'observer la présence d'un œuf de parasitoïde à moins d'ouvrir les graines, ce qui bien sûr empêche de présenter l'hôte pour une seconde exploitation. De plus, l'activité ovicide d'*E. vuilleti* complique encore la tâche. En effet, les œufs percés deviennent très difficiles à repérer. Après l'exploitation par *D. basalis* puis par *E. vuilleti*, il nous est difficile de savoir si l'hôte a été exploité par *D. basalis*. L'utilisation de gélules transparentes nous permet de savoir si la ponte est intervenue sans disséquer la graine et de contrôler la taille et le stade de l'hôte, tout en conservant l'organisation la plus proche possible du système naturel, c'est à dire l'hôte dans sa loge nymphale close. Ce système, développé au laboratoire par A. M. Cortesero et G. Doury, consiste à modifier une gélule de cellulose transparente standard (2 cm de long et 0,6 cm de diamètre), identique à celles utilisées en pharmacie (Fig. 16). De façon à recréer le volume représenté par la loge nymphale, l'extrémité arrondie du segment le plus long est enfoncée, formant ainsi une petite cavité. Un hôte sain, c'est à dire une prénympe ou une nymphe de *C. maculatus*, est déposée au centre de cette cavité concave. Pour clore le système, la seconde partie plus courte de la gélule est placée sur la cavité et l'hôte, après avoir été percée, à l'aide d'une aiguille, de deux orifices permettant le passage de l'air. Des études précédentes ont montré qu'après une période d'adaptation, les femelles se comportent de façon comparable en présence d'hôtes à l'intérieur de graines ou de gélules (Gauthier, 1996 ; Jaloux, 2000), bien que le nombre d'œufs soit légèrement plus faible sur les hôtes à l'intérieur de gélules (Damiens *et al.*, 2001).

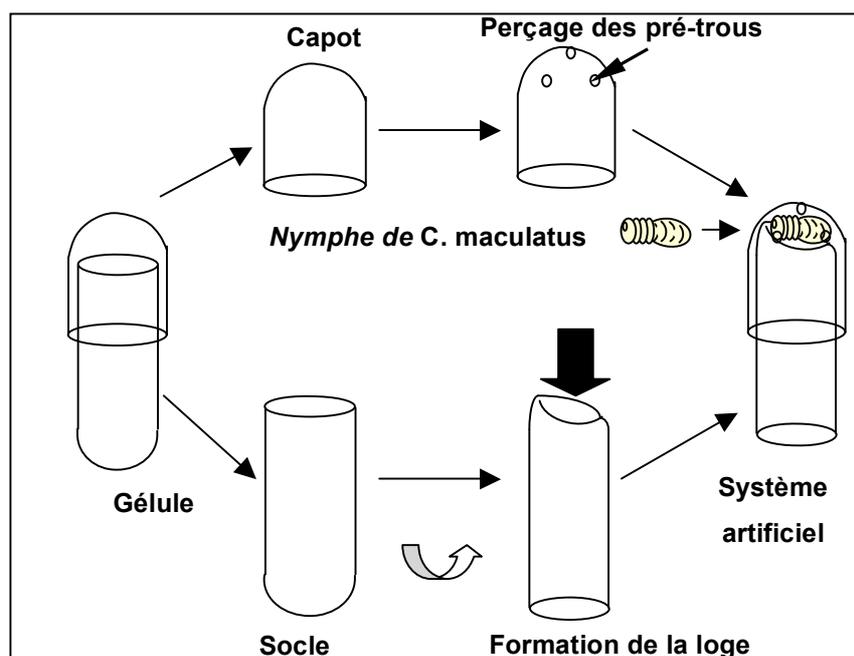


Figure 16 – Fabrication du système artificiel gélule

2-2-3 Hôtes parasités

Les hôtes parasités sont obtenus en présentant à des femelles parasitoïdes expérimentées et accouplées âgées de 3 à 4 jours des hôtes sains, contenus dans des graines à un hôte ou des gélules durant 6 heures. Cette durée est suffisante pour obtenir un taux de parasitisme important lorsque la densité en hôte est d'environ 2 hôtes par femelle parasitoïde. Les femelles sont alors retirées et la présence d'au moins un œuf de parasitoïde vérifiée sous loupe binoculaire lorsqu'il s'agit de gélules. Pour les graines à un hôte, le parasitisme ne peut être vérifié qu'après l'expérience, lors de la dissection des graines. Ces hôtes parasités, comme les hôtes sains, sont alors conservés à l'intérieur de boîtes de Pétri dans l'étuve utilisée pour les expériences, jusqu'à l'expérience, 24h (\pm 3 heures) après le parasitisme.

2-3 Préparations des femelles *E. vuilleti* pour l'expérience

Le nombre de femelles présentant une activité de ponte régulière est faible durant les 2 premiers jours de leur vie, puis augmente pour atteindre un plateau le quatrième jour (Gauthier, 1996). Pour que les femelles présentent une activité de ponte maximale, elles doivent être âgées d'au moins 3 jours et avoir pu acquérir une expérience de ponte. Cette expérience de ponte est d'autant plus nécessaire lorsque l'on utilise des gélules. Les femelles émergentes sont placées dans des boîtes de Pétri avec quelques mâles en présence de graines contenant une quantité variable d'hôtes ou de gélules en fonction de l'expérience. Un coton imbibé d'une solution de sucrose (10%) leur permet de s'alimenter et réduit ainsi fortement la mortalité précoce. Les femelles restent ainsi dans les conditions photo et thermopériodiques de l'élevage durant 2 jours. Durant cette phase, les femelles s'accouplent et stockent dans la spermathèque une quantité de spermatozoïdes suffisante pour assurer la fécondation des œufs produits au cours de leur vie. De plus, elles acquièrent une expérience du comportement de ponte qui va réduire la période d'inspection avant la ponte. Les femelles sont ensuite placées individuellement dans une boîte de Pétri sans hôte avec un coton imbibé d'eau sucrée pendant une journée. Au cours de la période d'isolement, l'ovogénèse permet la production d'un certain nombre d'ovocytes qui restent en rétention jusqu'à l'expérience. De plus, après cette période d'isolement, les femelles testées sont plus actives.

Au début de l'expérience, les femelles sont donc âgées de 3 jours, accouplées et expérimentées à pondre sur le système proposé.

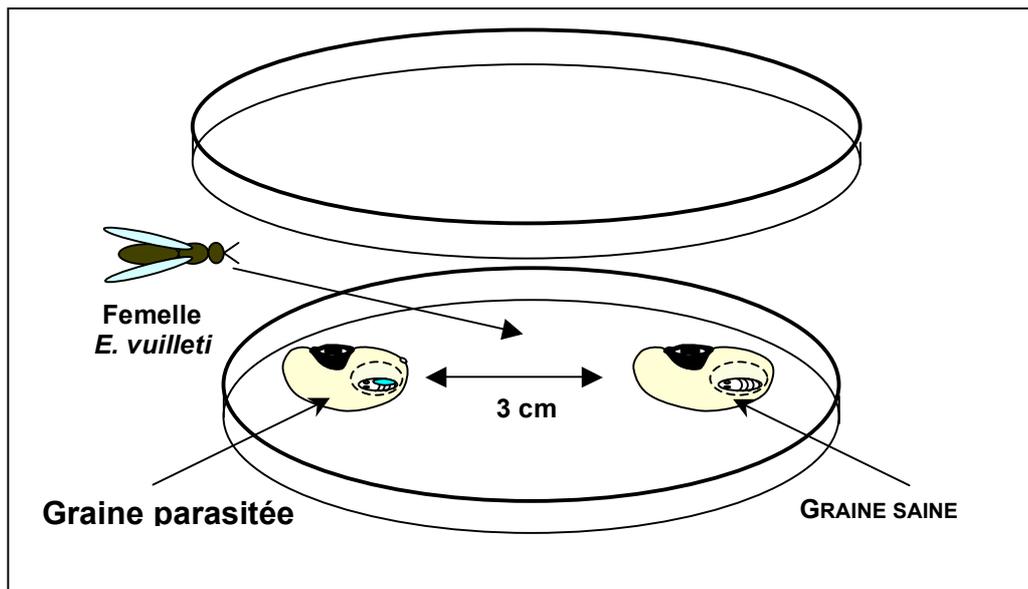


Figure 17 – Dispositif expérimental utilisé pour le test biologique

2-4 Dispositif expérimental (Fig. 17)

Le dispositif adopté correspond à une expérience de choix simple : sur le fond d'une boîte de Pétri sont fixés par de la Patafix® deux gélules ou deux graines selon l'expérience, l'une contenant un hôte sain et l'autre un hôte parasité par *D. basalis*, séparées par 3 cm. L'hôte parasité est repéré par une marque de stylo à l'extérieur de la boîte de Pétri, sur la paroi verticale de la partie inférieure. Pour éviter tout biais dû à une latéralité potentielle chez les femelles ou à l'influence de la position des éléments visuels dans l'étuve d'expérimentation, la position de l'hôte parasité est inversée à chaque observation. L'arène ainsi formée définit 3 positions possibles pour la femelle : OUT, lorsqu'elle est ni sur l'hôte parasité, ni sur l'hôte sain, GNP lorsqu'elle est sur l'hôte sain, et GP lorsqu'elle est sur l'hôte parasité.

2-5 Déroulement de l'expérience

L'effectif important de femelles (60) à manipuler et à observer impose une répartition en deux lots de 30 femelles, les deux lots étant testés consécutivement dans les mêmes conditions. Chaque femelle *E. vuilleti* est introduite dans une boîte de Pétri contenant le dispositif expérimental, sa position au départ étant aléatoire. Dans le but de s'affranchir de l'influence d'un éventuel stress lié à la manipulation de la femelle, une période d'environ 30 secondes précède le déclenchement du chronomètre. La position de chacune des femelles du lot testé est alors notée périodiquement (à 10 secondes, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 15, 20, 25 et 30 minutes). Cette échelle de temps irrégulière a été choisie pour allouer un poids plus

important aux observations du début de l'expérience, correspondant au premier choix de la femelle. 30 minutes après le début de l'expérience, les femelles sont retirées de la boîte. Cette durée est suffisante pour l'accomplissement d'une séquence comportementale de ponte complète. Après l'expérience, la dissection des graines ou l'observation des gélules sous loupe binoculaire nous permet de vérifier l'exploitation de l'hôte. Généralement, 60 observations identiques sont réalisées pour une condition expérimentale. Un témoin est réalisé pour chaque expérience en présentant à une femelle 2 hôtes sains.

3- Traitement des données

3-1 Dynamique de l'arrivée des femelles sur les hôtes

Durant toutes les expériences préliminaires, un nombre non négligeable de femelles *E. vuilleti*, bien qu'ayant subi une préparation strictement identique à celle du reste des femelles, ne sont pas stimulées par la présence d'hôtes, parasités ou non. Ces femelles, que nous avons nommé familièrement des baladeuses, restent immobiles sur le fond de la boîte de Pétri ou tournent continuellement le long des parois verticales de la boîte. Il nous a semblé peu rigoureux d'exclure ces femelles baladeuses des données, l'absence de choix étant une information pertinente dans l'analyse d'une éventuelle préférence ou attraction.

Les données collectées lors de l'observation consistent en la position de chacune des femelles à chaque temps d'observation. La position des femelles est une variable discrète pouvant prendre trois valeurs en fonction du temps d'observation : OUT, GP ou GNP. La répartition du nombre de femelles dans les trois modalités en fonction du temps peut être modélisée par des équations de courbes ajustées aux données expérimentales développées au laboratoire en collaboration avec le Dr Caparroy (IRBI, Tours). Lorsque l'on exprime l'évolution de l'effectif des femelles pour chacune des positions, on obtient 3 courbes, $N_{OUT}(t)$, $N_{GP}(t)$ et $N_{GNP}(t)$ qui peuvent être décrite par un ensemble de paramètres (Fig. 18):

N_0 : nombre total de femelles

N_{GP} : nombre de femelles sur la graine parasitée

N_{GNP} : nombre de femelles sur la graine non parasitée

N_{OUT} : nombre de femelles n'étant sur aucune graine

N_F : nombre de femelles sur aucune graine à la fin de l'observation

p : probabilité d'aller sur une graine/unité de temps. Nous avons considéré à priori que cette probabilité était constante tout au long de l'observation.

La variation du nombre de femelles qui ne vont pas sur les graines peut s'exprimer sous forme :

$$dN_{OUT}(t)/dt = -pN_0(N_{OUT}(t)-N_F)$$

$$dN_{OUT}(t)/(N_{OUT}(t)-N_F) = -p N_0 dt$$

$$\ln [K(N_{OUT}(t)-N_F)] = -p N_0 t + K'$$

$$K(N_{OUT}(t)-N_F) = e^{-p N_0 t + K'}$$

$$N_{OUT}(t)-N_F = K'/K * e^{-p N_0 t}$$

$$N(0)-N_F = K'/K * e^{-p N_0 t} \underset{t \rightarrow 0}{\text{entraîne}} K'/K = N_0 - N_F$$

$$\boxed{N_{OUT}(t) = N_F + (N_0 - N_F)e^{-p N_0 t}}$$

Le nombre de femelles qui vont sur les graines N_{CHOICE} peut alors être écrit sous la forme :

$$N_{CHOICE}(t) = N_0 - N_{OUT}(t)$$

$$N_{CHOICE}(t) = N_0 - N_F - (N_0 - N_F)e^{-p N_0 t}$$

Soit p_{GP} la probabilité d'aller sur une graine parasitée,

$$N_{GP}(t) = p_{GP} * N_{CHOICE}(t)$$

$$\boxed{N_{GP}(t) = p_{GP} * (N_0 - N_F - (N_0 - N_F)e^{-p N_0 t})}$$

$$N_{GNP}(t) = (1 - p_{GP}) * N_{CHOICE}(t)$$

$$\boxed{N_{GNP}(t) = (1 - p_{GP}) * (N_0 - N_F - (N_0 - N_F)e^{-p N_0 t})}$$

Ces équations non linéaires sont ajustées aux données obtenues lors d'un test biologique présentant à 60 femelles *E. vuilleti* un choix entre une graine contenant un hôte sain et une graine contenant un hôte parasité par *D. basalis* (Fig. 19). L'ajustement a été réalisé grâce à l'algorithme itératif de Simplex sous Matlab. Les coefficients d'ajustement sont bons ($R^2 > 0,9$). Le modèle est donc efficace pour expliquer l'évolution de la répartition des femelles dans les trois classes de position.

Le postulat de départ qui considère la probabilité d'aller sur une graine constante au cours de l'observation est vérifié pour cette expérience. Cette probabilité constante d'aller sur une graine pourrait s'expliquer par la durée de l'expérience, légèrement supérieure à la durée approximative d'une séquence de ponte, au faible taux de transition entre les graines et au fait qu'une fois que la femelle *E. vuilleti* a pondu, elle reste généralement sur la graine choisie jusqu'au terme de l'expérience. Cette probabilité intervient dans l'intensité de la décroissance ou de la croissance exponentielle. Pour obtenir une bonne estimation de cette probabilité p , il faut un nombre important de données dans la zone de croissance ou de décroissance, c'est à

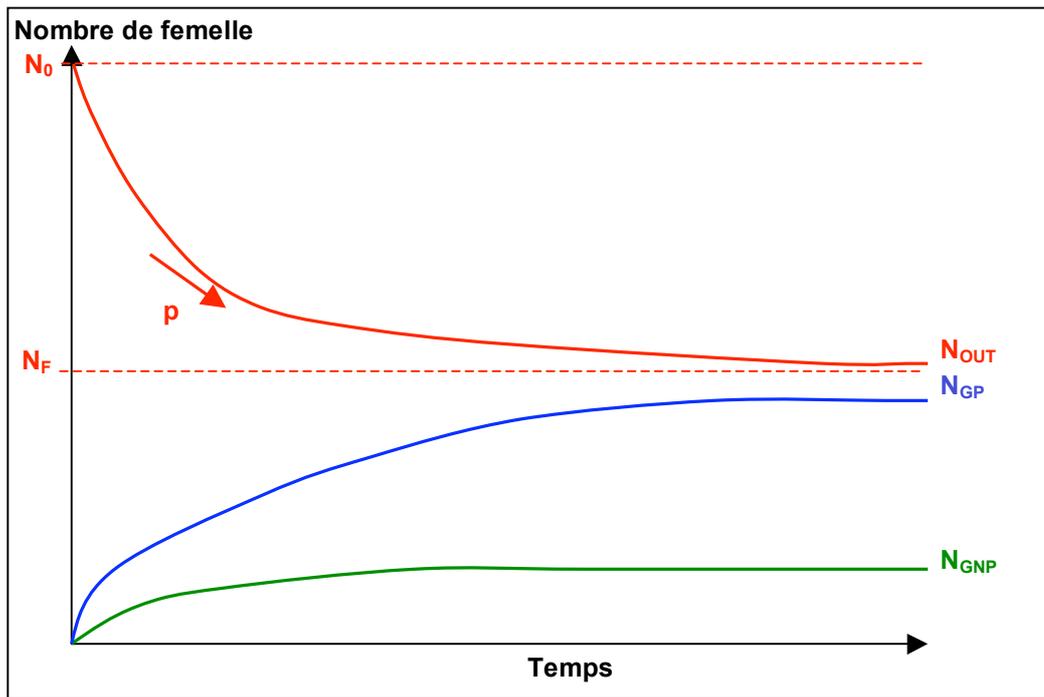


Figure 18 - Modèle de dynamique de l'arrivée des femelles *E. villetti* sur les hôtes présentés lors du test biologique.

N_0 : nombre initial de femelles ; N_F : nombre de femelles sur aucune graine à la fin de l'observation ; N_{GP} : nombre de femelles sur l'hôte parasité ; N_{GNP} : nombre de femelles sur l'hôte non parasité ; N_{OUT} : nombre de femelles n'étant sur aucune graine ; p : probabilité d'aller sur une graine par unité de temps.

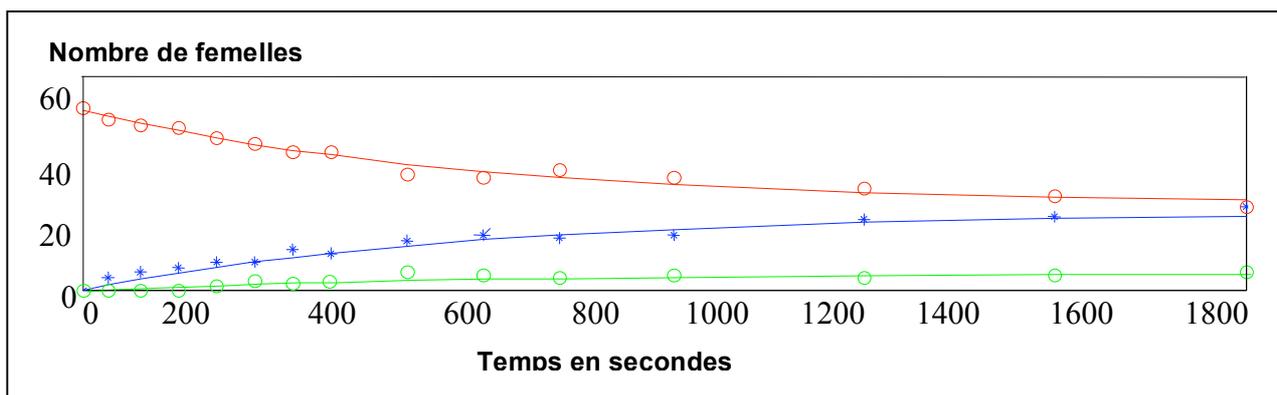


Figure 19 – Ajustement des courbes théoriques aux positions des femelles *E. villetti* enregistrées lors d'un test biologique présentant un choix entre deux graines, l'une contenant un hôte parasité par *D. basalis*, l'autre contenant un hôte sain.

o : nombre de femelles sur aucune graine ; * : nombre de femelles sur la graine contenant l'hôte parasité ; o : nombre de femelles sur la graine contenant l'hôte sain.

dire au début de l'expérience ce qui justifie l'emploi d'une échelle de temps d'observation non linéaire.

Cette exploitation mathématique très fiable des données nous permet d'avoir accès aux probabilités d'aller sur une graine (p) et d'aller sur une graine parasitée (p_{GP}). Cependant, la probabilité p est une valeur estimée sans variance, ce qui ne permet pas d'apporter une réponse statistique sans multiplier les effectifs. D'autre part, la qualité de l'ajustement doit être élevée quelles que soient les conditions expérimentales, ce qui par la suite n'a pas toujours été le cas, sous peine de ne pas pouvoir exploiter les données. Nous avons donc voulu définir un indice de préférence permettant de conclure statistiquement sur la préférence ou l'absence de préférence des femelles *E. vuilleti* pour l'un ou l'autre des hôtes présentés, quelque soit la dynamique de choix des hôtes.

3-2 Indice de préférence

Nous avons construit un indice de préférence basé sur la position moyenne des femelles au cours de l'expérience. La position à chaque temps d'observation est codée de la façon suivante : OUT = 0, GP = 1 et GNP = -1. La moyenne de l'ensemble des positions relevées pour une femelle nous donne un indice de préférence individuel IP_i , compris entre -1 et 1. L'échelle de temps d'observation non linéaire définie précédemment donne plus de poids aux positions du début de l'expérience, correspondant au premier choix de la femelle. Intuitivement, un IP_i nul correspond à une absence de choix significatif de la femelle, qui peut se traduire en réalité par deux situations, soit la femelle n'a été sur aucun des hôtes présentés, soit la femelle a visité les deux hôtes sans préférer l'un d'entre eux. Un IP_i positif correspond à un choix préférentiel de l'hôte parasité, alors qu' IP_i négatif correspond à un choix préférentiel de l'hôte sain. La moyenne des indices de préférence individuels IP_i nous donne un indice de préférence moyen IP (Fig. 20). Si l'indice de préférence moyen est nul, on considère que les femelles *E. vuilleti* ne préfèrent aucun des hôtes présentés. S'il est positif, les femelles préfèrent l'hôte parasité et s'il est négatif, les femelles préfèrent les hôtes sains. La comparaison de l'indice de préférence moyen obtenu dans une condition expérimentale et celui obtenu lors de l'expérience témoin permet de conclure statistiquement sur la préférence de la femelle. L'indice de préférence moyen est lié à la probabilité d'aller sur une graine parasitée p_{GP} : une $p_{GP} > 0,5$ s'accompagne d'un nombre de femelles plus important sur la graine parasitée, et donc d'un indice de préférence moyen positif. A l'inverse, une $p_{GP} < 0,5$ correspond à un indice de préférence moyen négatif. L'indice de préférence moyen ainsi défini est lié également à la probabilité p d'aller sur une graine : un nombre important de

femelles ne choisissant pas diminue la valeur absolue de l'indice, et donc l'intensité de la préférence pour l'un des hôtes proposés. Cet indice permet donc de savoir quel hôte est préféré par les femelles *E. vuilleti*, en tenant compte des femelles n'ayant pas choisi.

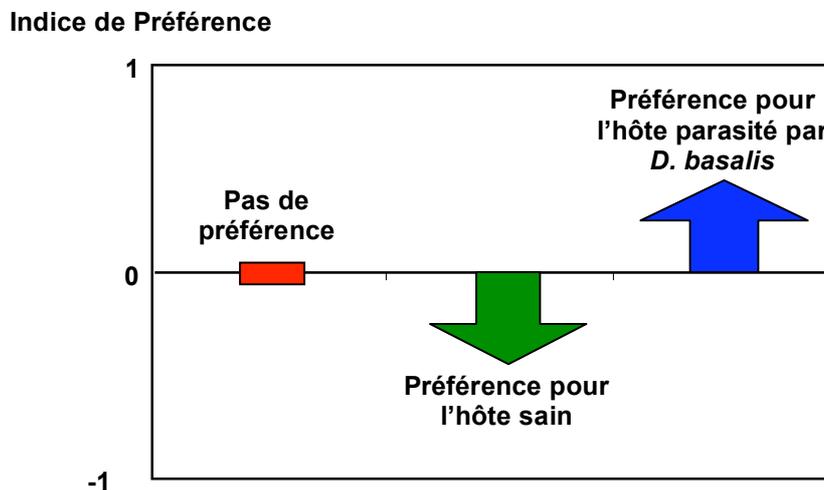


Figure 20 – Interprétation de l'indice de préférence

3-3 Analyse statistique

En général, la distribution des I_{pi} ne suit pas une loi normale, ceci tient essentiellement à la construction de l'indice et aux faibles taux de transitions observés entre les différentes positions possibles pour une femelle. Le test statistique choisi est donc un test non paramétrique de Mann-Whitney (MW) entre deux échantillons indépendants correspondant aux I_{pi} obtenus en situation expérimentale et les I_{pi} obtenus lors de l'expérience témoin où les femelles sont mises en présence d'un choix entre deux hôtes sains identiques. Ce test bilatéral, effectué sous Xlstat pro 6.1.9, nous renvoie entre autre une P-value comparée au risque α fixé à 0,05. La préférence pour l'un des hôtes présentés sera donc significative si $P\text{-value} < \alpha$ et non significative si $P\text{-value} > \alpha$. Lorsque l'expérience nécessite la comparaison de plus de 2 échantillons, un test non paramétrique de Kruskal-Wallis (KW) (Zar, 1999) sous Xlstat pro 6.1.9 est effectué. Il nous renvoie une P-value comparée au risque $\alpha = 0,05$. Si $P\text{-value} < \alpha$, il n'existe pas de différences significatives entre les échantillons. Si $P\text{-value} > \alpha$, il existe une différence significative entre les échantillons. Dans ce dernier cas, un test de Dunn-Sidak (DS) permet de classer et de regrouper les échantillons.

*↳ CHAPITRE 2 : MECANISMES DE LA
DISCRIMINATION INTERSPECIFIQUE ↳*

Chez les Hyménoptères parasitoïdes, les mécanismes de la discrimination des hôtes parasités ont été étudiés principalement en situation de compétition intraspécifique (Godfray, 1994). L'expression de la discrimination des hôtes parasités par la perception d'un marquage se caractérise par une durée d'action limitée (Hofsvang, 1990 ; Van Alphen & Visser, 1990 ; Godfray, 1994) et par l'intégration de facteurs physiologiques et environnementaux permettant à la femelle de décider d'accepter ou de rejeter un hôte notamment en fonction des chances de survie de sa descendance (Godfray, 1994). Dans de nombreux systèmes, la discrimination intraspécifique existe, elle est basée sur un changement physiologique (Fisher & Ganesalingam, 1970 ; Vinson & Iwata, 1980) ou comportemental de l'hôte (Wylie, 1965), ou sur la détection visuelle ou tactile de l'œuf de la femelle précédente (Takasu & Hirose, 1988), la reconnaissance des hôtes parasités implique généralement la perception grâce à des récepteurs antennaires (Salt, 1937) d'un stimulus odorant, une phéromone de marquage (Nufio & Papaj, 2001) déposé par la femelle précédente à la surface ou à l'intérieur de l'hôte ou de la structure végétale l'abritant. La phéromone impliquée dans la discrimination intraspécifique a été découverte chez *Campoletus perdinctus* (Guillot & Vinson, 1972), puis chez de nombreuses autres espèces parasitoïdes. Il s'agit de la sécrétion de la glande de Dufour. La composition de cette sécrétion n'a été déterminée que chez un nombre réduit d'espèces (Mudd *et al.*, 1982 ; Syvertsen *et al.*, 1995 ; Marris *et al.*, 1996 ; Howard & Bakker, 2003).

Peu d'informations sont disponibles au sujet des mécanismes permettant la discrimination interspécifique. Les cas de discrimination interspécifique étudiés sont beaucoup plus rares (Godfray, 1994) et ont souvent été interprétés comme la perception par une espèce de la phéromone de marquage intraspécifique de l'espèce concurrente (Mackauer, 1990). Les mécanismes impliqués et la réponse de la femelle ont souvent été supposés être les mêmes que ceux intervenant dans la discrimination intraspécifique, mais les études comportementales sont rares. Les mécanismes permettant la recherche du multiparasitisme chez les espèces kleptoparasitoïdes n'ont jamais été clairement établis (Arthur *et al.*, 1964 ; Spradbery, 1968 ; Price, 1970 ; van Alebeek, 1991).

Nous avons dans ce chapitre tenté de déterminer le mécanisme permettant aux femelles *E. vuilleti* de reconnaître les hôtes parasités par *D. basalis*. Nous avons tout d'abord caractérisé les conditions d'expression de cette discrimination, puis nous avons recherché les stimuli reconnus par les femelles *E. vuilleti*. Enfin nous avons déterminé leurs natures et leurs compositions.

A- ETUDE PRELIMINAIRE DE LA DISCRIMINATION INTERSPECIFIQUE

La préférence par *E. vuilleti* des hôtes parasités par *D. basalis* n'a été démontrée jusqu'alors que par la répartition non aléatoire des pontes de femelles *E. vuilleti* (van Alebeek, 1991 ; van Alebeek *et al.*, 1993 ; Léveque *et al.*, 1993) qui peut résulter aussi bien d'une discrimination externe que de l'exploration interne de l'hôte. Nous avons voulu savoir si ce choix préférentiel des hôtes parasités pour pondre se traduisait par une répartition non aléatoire des positions des femelles dans les conditions du test biologique définies dans le chapitre 1. Nous avons également vérifié que l'emploi du système artificiel gélule n'avait pas d'influence sur le choix de l'hôte par les femelles *E. vuilleti*, et que ce système pouvait être utilisé pour les expériences.

Dans le but d'optimiser les tests biologiques, nous avons ensuite tenté de déterminer dans quelles conditions l'expression de la discrimination interspécifique était maximale. Pour cela, nous avons envisagé l'influence de facteurs physiologiques et environnementaux sur son expression. Si peu de données sont disponibles quant aux conditions d'expression de la discrimination interspécifique, en situation de compétition intraspécifique, plusieurs facteurs sont décrits comme pouvant affecter l'expression de la discrimination des hôtes parasités (Vinson, 1976 ; Mangel, 1987 ; Godfray, 1994) :

① La perception d'un signal produit par une femelle apparentée (Hubbard *et al.*, 1987). La parenté entre les femelles ne peut intervenir dans la compétition interspécifique, elle ne sera donc pas envisagée dans cette étude.

② L'âge de la femelle parasitoïde. Ce paramètre regroupe plusieurs facteurs, comme les expériences de ponte précédentes, le nombre d'œufs en rétention, les chances de rencontrer ultérieurement un hôte de meilleure qualité. Le stock d'œufs disponibles décroît avec l'âge de la femelle chez les espèces proovigéniques (Völk & Mackauer, 1990) et est renouvelé continuellement toute la vie de la femelle chez les espèces synovigéniques. *E. vuilleti* est une espèce synovigénique, cependant des études ont montré une variation de la fécondité journalière au cours de la vie de la femelle. Cette fécondité augmente jusqu'au 7^{ème} jour puis diminue jusqu'à la mort de la femelle (Cortesero, 1994).

③ Le délai entre les pontes. La femelle parasitoïde serait capable d'adapter son comportement de ponte en fonction des chances de survie de sa descendance (Charnov & Skinner, 1985 ; van Alphen & Visser, 1990). Les chances de survie de la seconde ponte au combat larvaire dépendent généralement du délai entre les pontes (Godfray, 1994). De plus, chez certaines espèces, le premier stade larvaire est mobile et présente de larges mandibules

alors que les stades ultérieurs sont moins mobiles et ont des mandibules réduites ou absentes (Chow & Mackauer, 1984, 1985, 1986 ; Goubault *et al.*, 2003). Chez *D. basalis*, il a ainsi été démontré qu'avec un délai de 48 heures entre les pontes, les chances de survie s'inversent au profit de la seconde ponte (Wai & Fujii, 1990). *E. vuilleti* pourrait moduler son choix de l'hôte en fonction de l'âge de la larve de *D. basalis* et donc du délai entre les pontes..

Nous avons étudié l'influence de l'âge des femelles *E. vuilleti* sur la préférence des hôtes parasités par *D. basalis*, puis l'influence du délai séparant les pontes.

1- Mise en évidence de la discrimination

1-1 Sur Graine

1-1-1 Procédure expérimentale

Le test biologique, tel qu'il a été décrit précédemment, est réalisé en proposant à 60 femelles *E. vuilleti* accouplées et expérimentées un choix entre deux graines : une graine renfermant un hôte sain et une graine renfermant un hôte parasité par *D. basalis* 24 heures avant l'expérience. Le parasitisme par *D. basalis* est vérifié après l'expérience par dissection des graines et seules les observations correspondantes sont conservées. Un témoin est réalisé en présentant dans les mêmes conditions un choix entre deux graines renfermant chacune un hôte sain.

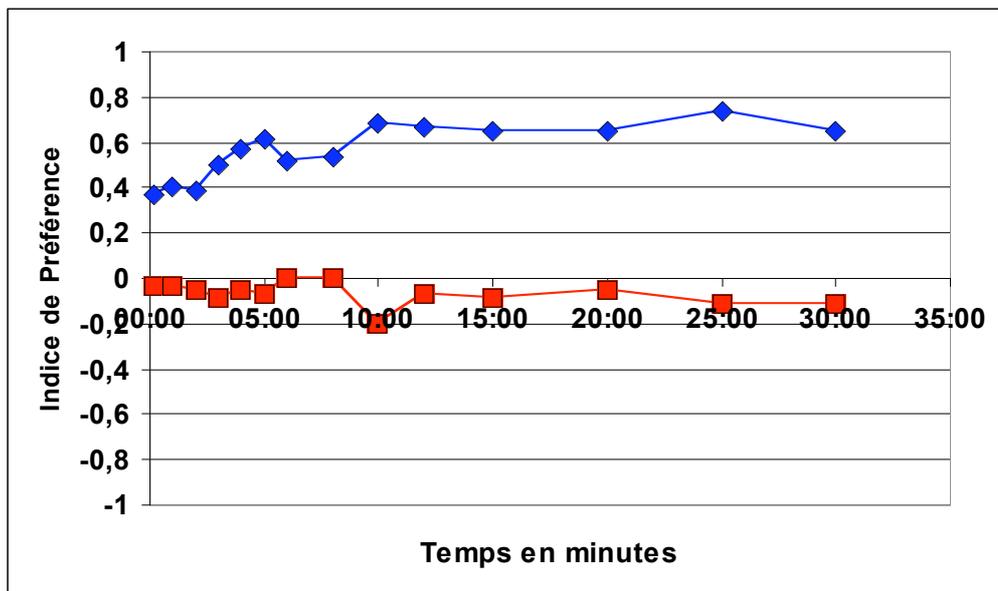


Figure 21 – Evolution de la préférence des femelles *E. vuilleti* au cours de l'expérience en situation de choix entre une graine contenant un hôte sain et une graine contenant un hôte parasité par *D. basalis*. Les erreurs standards, par construction de l'indice, n'apportent que peu d'information et affecte la lisibilité. Elles ne sont donc pas figurées.

■ : Témoin graines ; ◆ : Test graines.

1-1-2 Résultats

En situation de choix entre deux graines renfermant chacune un hôte sain (témoin), nous obtenons un Indice de Préférence moyen (IP) neutre de $-0,07$, traduisant une absence de préférence logique pour l'un des deux hôtes identiques présentés. Lorsqu'on place des femelles *E. vuilleti* en présence d'un choix entre une graine renfermant un hôte sain et une graine renfermant un hôte parasité, nous obtenons un Indice de Préférence moyen positif de $0,57$ (Fig. 21), significativement différent de celui de la population témoin (MW : P-value < $0,001$). Si l'on considère l'indice de préférence à chaque temps d'observation, correspondant à la position moyenne des femelles, cet indice varie au cours de l'observation, de $0,37$ à 10 secondes, il augmente pour atteindre un plateau à la dixième minute et reste supérieur à $0,6$ jusqu'à la fin de l'observation (Fig. 22).

La préférence pour la graine contenant l'hôte parasité par *D. basalis* apparaît durant les phases précoces du comportement d'exploitation de l'hôte par les femelles *E. vuilleti*, 87% des femelles ayant visité au moins une des graines présentées ont visité la graine contenant l'hôte parasité en premier. De plus, une fois le premier choix réalisé, les changements de graine au cours de l'expérience, bien que rares ($0,6$ changements par femelle) sont plus fréquents dans le sens hôte sain \rightarrow hôte parasité (59%) que dans le sens hôte parasité \rightarrow hôte sain (41%).

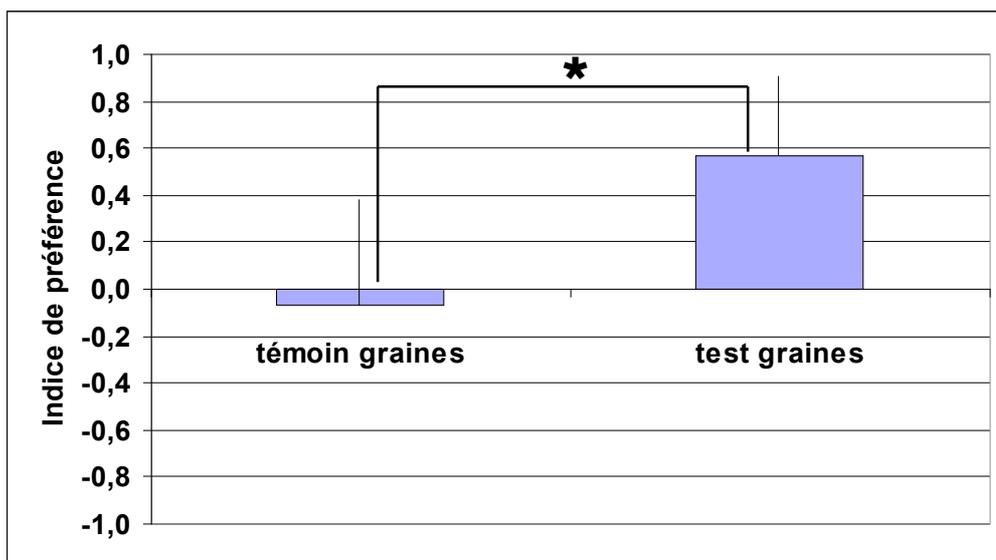


Figure 22 – Indice de Préférence moyen (+ s.e.m.) des femelles *E. vuilleti* en situation de choix entre deux graines contenant chacune un hôte sain (témoin) ou une graine contenant un hôte sain et une graine contenant un hôte parasité par *D. basalis* (test).

★ : significatif (MW ; P-value < α)

1-2 Sur Gélules

1-2-1 Procédure expérimentale

Le test biologique est réalisé en proposant à 60 femelles *E. villetti* accouplées et expérimentées à la ponte sur gélules un choix entre deux gélules : une gélule renfermant un hôte sain et une gélule exploitée par *D. basalis* renfermant un hôte parasité 24 heures avant l'expérience. Le parasitisme par *D. basalis* est vérifié avant l'expérience par observation grâce à une loupe binoculaire d'un œuf de *D. basalis*.

Un témoin est réalisé en présentant à 60 femelles *E. villetti* dans les mêmes conditions un choix entre deux gélules renfermant chacune un hôte sain.

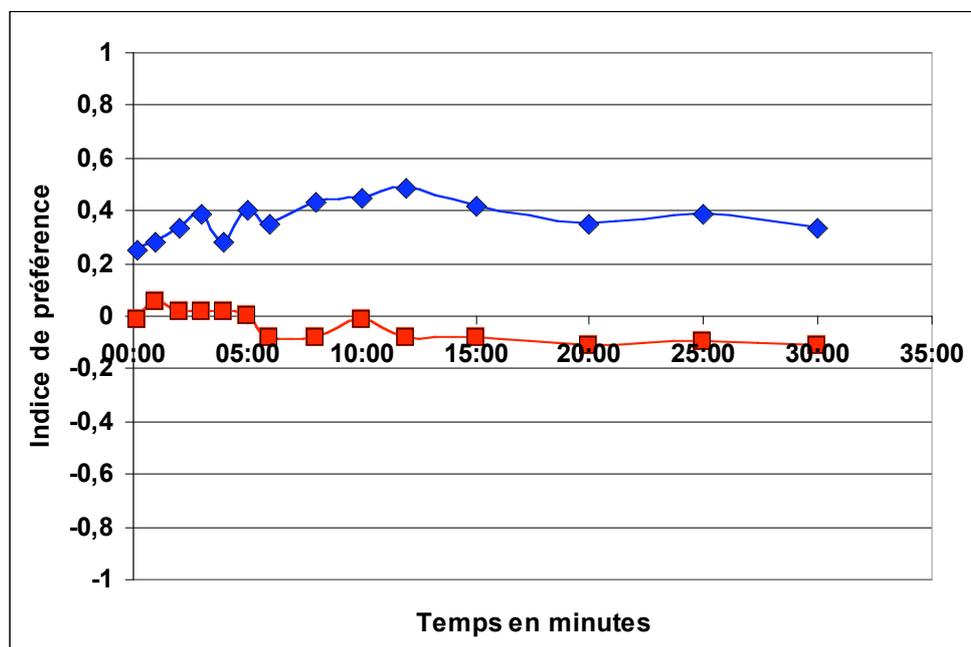


Figure 23 – Evolution de la préférence des femelles *E. villetti* au cours de l'expérience en situation de choix entre une gélule contenant un hôte sain et une gélule contenant un hôte parasité par *D. basalis*. Les erreurs standards, par construction de l'indice, n'apportent que peu d'information et affecte la lisibilité. Elles ne sont donc pas figurées.

■ : Témoin gélules ; ◆ : Test gélules.

1-2-2 Résultats

L'expérience témoin sur gélule nous donne un indice de préférence sensiblement identique à celui obtenu sur graine, de $-0,04$ en moyenne. Lorsque des femelles *E. villetti* sont en situation de choix entre deux gélules, une saine et une parasitée par *D. basalis*, nous obtenons un indice de préférence de $0,36$ significativement différent de celui obtenu en situation témoin (MW : P-value $< 0,01$) (Fig. 24). *E. villetti* préfère donc les gélules exploitées par *D. basalis* aux gélules saines. L'évolution de l'indice de préférence au cours de

l'expérience sur gélule est semblable à celui obtenu lors de l'expérience sur graine : la préférence apparaît dès les premières secondes, augmente pour atteindre un plateau à partir de la dixième minute (Fig. 23). De même, 80% des femelles ayant visité une gélule ont choisit la gélule parasitée en premier. L'indice de préférence moyen obtenu lors de l'utilisation du système artificiel gélule (0,36) est toutefois significativement inférieur à celui obtenu avec le système naturel (0,57 ; MW : P-value < 0,01), c'est à dire l'hôte à l'intérieur d'une graine de Niébé.

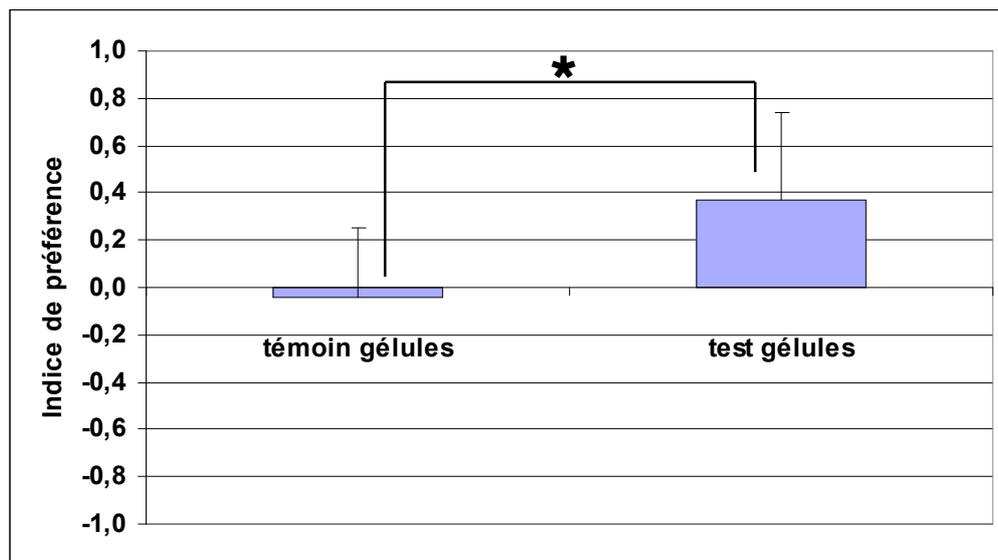


Figure 24 – Indice de Préférence moyen (+ s.e.m.) des femelles *E. villetti* en situation de choix entre deux gélules contenant chacune un hôte sain (témoin) ou une gélule contenant un hôte sain et une gélule contenant un hôte parasité par *D. basalis* (test).

* : significatif (MW ; P-value < α)

2- Influence de l'âge des femelles *E. villetti* sur l'expression de la discrimination interspécifique

Le protocole de test biologique défini et l'emploi de gélules imposent une préparation des femelles, leur permettant d'acquérir une expérience du système. Cette préparation consiste à placer les femelles *E. villetti* pendant 2 jours en présence de gélules contenant des hôtes sains, puis d'un jour d'isolement sans hôte pour augmenter la motivation à pondre et renouveler le stock d'œufs. Les femelles testées les plus jeunes étaient donc âgées de 3 jours. A l'opposé, après une semaine environ, les femelles *E. villetti* sont beaucoup moins actives et on observe une mortalité importante. Les femelles les plus âgées testées étaient âgées de 8 jours.

2-1 Procédure expérimentale

6 lots de 60 femelles *E. vuilleti* émergentes ont été prélevés dans l'élevage. A J0, un premier lot de 60 femelles est placé dans des boîtes de Pétri en présence de 60 gélules contenant des hôtes sains, de quelques mâles et d'eau sucrée. Les femelles des lots restants sont isolées avec quelques mâles dans des boîtes de Pétri sans hôte avec un coton imbibé d'eau sucrée renouvelée tous les jours. A J2, les femelles du premier lot sont isolées individuellement sans hôte dans des boîtes de Pétri, avec un coton imbibé d'eau sucrée. A J3, ces femelles subissent un test biologique de choix entre une gélule contenant un hôte parasité par *D. basalis* 24 heures avant et une gélule contenant un hôte sain. Les lots de femelles 2, 3, 4, 5 et 6 sont mis en présence d'hôtes respectivement à J1, J2, J3, J4, J5, puis isolés sans hôtes à J3, J4, J5, J6, J7. Le test biologique est ensuite effectué respectivement à J4, J5, J6, J7, J8.

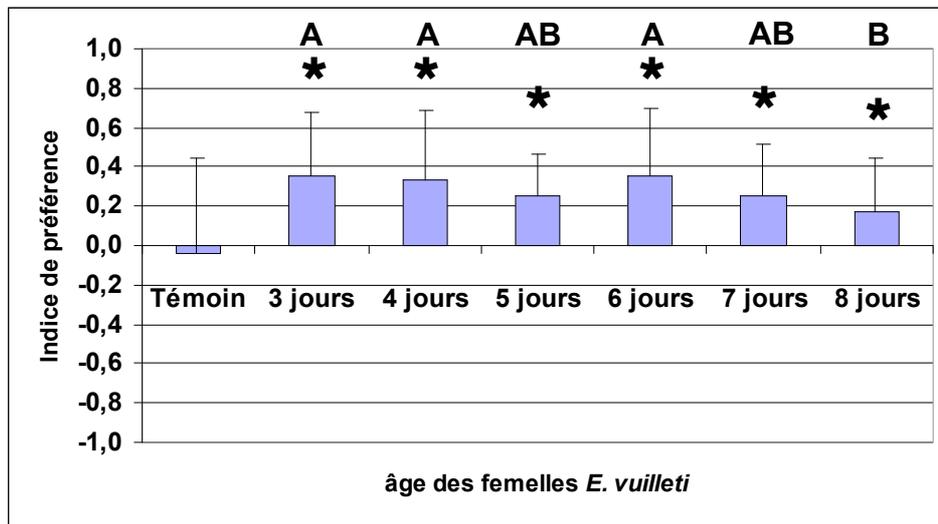


Figure 25 – Evolution de l'indice de préférence moyen (+ s.e.m.) des femelles *E. vuilleti* pour la graine contenant un hôte parasité par *D. basalis* en fonction de leur âge.

* : Significativement différent du témoin (MW ; P-value < α)

Les lettres correspondent aux regroupements effectués grâce à un test de Newman-Keuls ($\alpha = 0,05$)

2-2 Résultats (Fig. 25)

Les valeurs d'indice de préférence moyen sont respectivement de 0,36 à J3, 0,33 à J4, 0,25 à J5, 0,35 à J6, 0,25 à J7 et 0,17 à J8. Ces valeurs sont toutes significativement différentes de celle obtenue en situation témoin (-0,04 ; MW : P-value < 0,05 quel que soit l'échantillon), les femelles préfèrent l'hôte parasité par *D. basalis* quel que soit leur âge. L'analyse statistique de l'évolution de cette préférence nous donne des résultats mitigés : bien que la valeur de la P-value renvoyée par le test de Kruskal-Wallis soit inférieure à 0,05, ce qui

traduit l'existence d'une différence significative entre les échantillons, le test de Dunn-Sidak classe tous ces échantillons dans un même groupe. Ces deux tests se contredisent, probablement à cause de la faible puissance du test de Dunn-Sidak. Nous avons alors tenté d'analyser cette évolution à l'aide d'un test plus puissant, le test itératif de Newman-Keuls. Les regroupements proposés indiquent une légère tendance décroissante de la préférence avec l'âge, même si la valeur de l'indice de préférence moyen obtenu pour les femelles âgées de 6 jours est trop élevée et apparaît statistiquement identique à la valeur obtenue avec des femelles de 3 jours. L'âge des femelles *E. vuilleti* semble donc avoir une influence sur l'expression de la discrimination interspécifique.

3- Influence du délai entre les pontes sur l'expression de la discrimination interspécifique par *E. vuilleti*

Le délai entre les pontes de deux femelles parasitoïdes peut modifier le choix d'accepter ou de refuser l'hôte rencontré (Chow & Mackauer, 1986 ; Hubbard *et al.*, 1987). Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer cette influence : Strand et Godfray (1989) ont montré, grâce à des mutants couleur des yeux, que la survie de la seconde ponte du Braconidae grégaire *Bracon hebetor* était influencée par le temps entre les deux pontes. Les femelles parasitoïdes devraient attaquer préférentiellement des hôtes récemment parasités où leurs descendances ont les meilleures chances de survies (van Lenteren, 1981 ; Mackauer, 1990). Le parasitisme pourrait également affecter la qualité de l'hôte et le rendre moins attractif pour la femelle. Chez le Scelionidae *Telenomus heliothidis*, qui s'attaque aux œufs de la mite *Heliothis virescens*, la larve récemment éclosue cause la nécrose de l'hôte qui semble être répulsive pour la seconde femelle (Strand, 1986). Enfin, le signal permettant la discrimination n'a souvent qu'une durée de vie limitée (Hofsvang, 1990 ; Micha *et al.*, 1992), les hôtes parasités ne sont distinguables que durant une courte période en relation avec la nature du signal utilisé pour la discrimination, variant de 10 minutes (Ikawa & Suzuki, 1982) à plus de 72 heures (Bosque & Rabinovitch, 1979).

Nous avons étudié l'influence du délai entre les pontes sur la préférence d'*E. vuilleti* pour les hôtes parasités par *D. basalis*. L'étude du délai entre les pontes des deux parasitoïdes est limitée par l'évolution rapide de l'hôte. Les deux parasitoïdes pondent dans des stades larvaires âgés, prénymphes ou nymphes. Le test biologique réside en un choix simple entre deux hôtes, l'un sain et l'autre parasité, de même stade, et ayant subi le même traitement. Le parasitisme par la première femelle arrête le développement de l'hôte, alors que l'hôte sain

correspondant continue son développement, se nymphose et émerge. Dans les conditions d'élevage et de test biologique, un délai maximum de cinq jours suffit à une prénympe pour terminer son développement et émerger de la graine. L'étude n'a donc pu porter que sur un délai maximal de 4 jours.

3-1 Procédure expérimentale

Quatre lots de 60 femelles émergentes ont été prélevés dans l'élevage. Chacun d'entre eux a été expérimenté à la ponte sur gélule durant 2 jours. Le troisième jour, les femelles ont été isolées individuellement sans hôte avec un coton imbibé d'eau sucrée. A J4, ces quatre lots de femelles ont subi un test biologique entre une gélule renfermant un hôte sain et une gélule renfermant un hôte parasité par *D. basalis* 24h, 48h, 72h ou 96h (± 3 heures) avant le test selon le lot de femelles considéré. Vingt quatre heures après la ponte, l'œuf de *D. basalis* n'a pas encore éclos. Cette éclosion intervient après 30 heures environ (Gauthier, 1996). La gamme de délai étudiée correspond à celle utilisée par Wai & Fujii (1990) pour mettre en évidence la variation des chances de succès de la seconde ponte chez *D. basalis*.

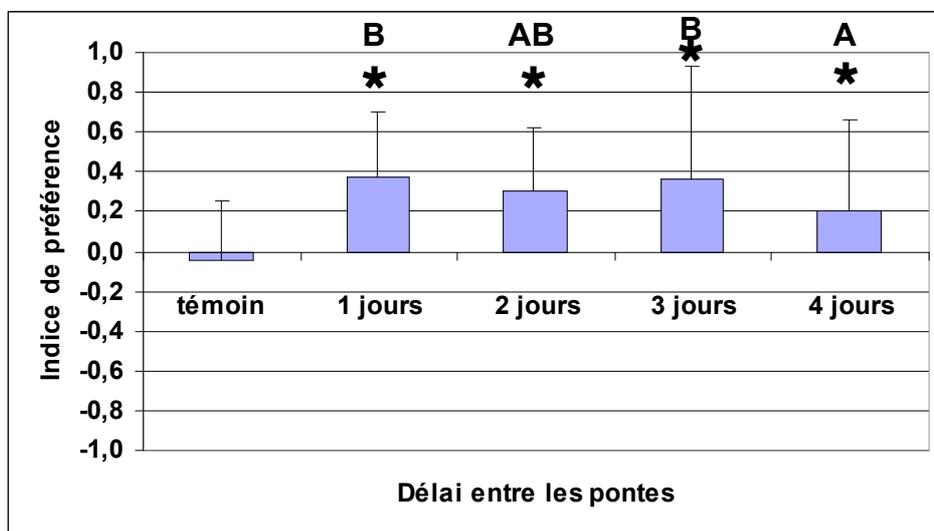


Figure 26 – Evolution de l'Indice de Préférence (+ s.e.m.) des femelles *E. vuilleti* pour les hôtes parasités par *D. basalis* en fonction du délai séparant les pontes.

* : Significativement différent du témoin (MW ; P-value < α)

Les lettres correspondent aux regroupements effectués grâce un test de Dunn-Sidak ($\alpha = 0,05$).

3-2 Résultats (Fig. 26)

L'indice moyen de préférence obtenu est significativement différent de celui correspondant au témoin quel que soit le délai séparant l'exploitation par *D. basalis* de la visite par *E. vuilleti* (WMW : P-value₁ < 0,001 ; P-value₂ < 0,001 ; P-value₃ < 0,001 ; P-value₄ = 0,008). La période durant laquelle le stimulus est perceptible par les femelles *E. vuilleti* est supérieure à celle décrite chez les espèces où l'influence du délai entre les pontes sur la discrimination intraspécifique a été étudiée (Hofsvang, 1990). L'indice de préférence moyen reste significativement identique quel que soit le délai séparant le passage des deux femelles parasitoïdes (KW : P-value = 0,12 > α = 0,05). Le délai entre les passages des deux femelles parasitoïdes ne semble pas avoir d'influence sur l'intensité de la préférence de la femelle *E. vuilleti* pour les hôtes parasités par *D. basalis* lorsqu'il n'excède pas 4 jours. Par contre, la proportion de femelle qui choisissent en premier la gélule parasitée diminue significativement avec le délai séparant les pontes ($\chi^2_{\text{obs}} = 13,70 > \chi^2_{\text{critique}} = 7,81$; 3 ddl, $\alpha = 0,05$). Elle est de 89% après 24h, 87% après 48 h, 67% après 72 h et 64% après 96 h.

4- Discussion

Lors de ces expériences préliminaires, l'indice de préférence moyen calculé à partir des positions des femelles était positif et significativement différent de celui obtenu dans l'expérience témoin, et ce quel que soit le système utilisé, naturel ou artificiel. La préférence des femelles *E. vuilleti* pour les graines contenant des hôtes parasités par *D. basalis* est vérifiée. L'analyse des positions des femelles soumises au protocole de test biologique défini permet de démontrer statistiquement une préférence éventuelle ou une absence de préférence d'*E. vuilleti* pour l'un des deux hôtes présentés. La valeur plus faible de l'Indice de Préférence moyen constatée lors de l'expérience sur gélule par rapport à celui obtenu sur graine peut s'expliquer par l'absence dans le système gélule d'un des facteurs attractifs pour la femelle *E. vuilleti*, les composés secondaires issus de la plante-hôte, le Niébé. En effet, Cortesero *et al.* (1993) ont montré à l'aide d'un olfactomètre tubulaire que l'odeur de gousses ou de graines sèches de Niébé affectent le comportement locomoteur des femelles *E. vuilleti*. Les gélules renfermant une nymphe de *C. maculatus* constitueraient un site de ponte moins attractif que le système naturel complet, sans les stimuli visuels, tactiles et surtout odorants de

la graine de Niébé. Malgré tout, ce système artificiel présente de nombreux avantages et sera donc utilisé dans la plupart des expériences de test biologique.

Dans ces expériences préliminaires, toutes les femelles *E. vuilleti* testées n'ont jamais rencontré d'hôtes parasités par *D. basalis*. Malgré cette inexpérience, une proportion importante de femelles naïves est capable de reconnaître et de préférer les hôtes parasités par *D. basalis* dès leur première rencontre avec ce type d'hôte. La discrimination semble déterminée génétiquement et ne nécessite pas d'expérience préliminaire des femelles des deux types d'hôtes pour son expression. Cette capacité des femelles naïves semble indiquer que le déterminisme de cette discrimination est différent de celui impliqué dans la plupart des cas de discrimination intraspécifique. Généralement, les femelles naïves acceptent les hôtes parasités, alors que dans les mêmes conditions, les femelles expérimentées les rejettent (van Lenteren & Bakker, 1975 ; Klomp *et al.*, 1980).

La discrimination semble intervenir avant la visite de chacune des graines ou gélules présentées. La reconnaissance des hôtes parasités doit faire intervenir un stimulus perceptible au moins à courte distance, de type visuel ou olfactif. Le stimulus impliqué est attractif et semble stimuler le comportement de ponte, il s'agit vraisemblablement d'un signal (kairomone) ou d'une trace odorante consécutive à l'exploitation de l'hôte par *D. basalis*.

Les femelles *E. vuilleti* semblent préférer les hôtes parasités par *D. basalis* quel que soit leur âge. *E. vuilleti* étant une espèce synovigénique, le stock d'œufs disponibles dépend peu de l'âge de la femelle. Il dépend plutôt du nombre d'épisodes de ponte récents, ainsi que de la disponibilité en nourriture, permettant une vitellogénèse efficace. Dans les conditions de l'expérience, les épisodes récents de ponte sont indépendants de l'âge des femelles, car la préparation des femelles *E. vuilleti* aux expériences consiste à les placer pendant deux jours en présence d'hôte, quel que soit l'âge testé. Globalement, la rétention en œuf ne semble pas influencer le choix des femelles *E. vuilleti*. L'indice de préférence moyen semble néanmoins présenter une légère tendance décroissante en fonction de l'âge. La diminution de l'activité de recherche de l'hôte et de ponte chez les femelles les plus âgées évoquée chez certaines espèces proovigéniques (Völk & Mackauer, 1990) ne semble pas pouvoir expliquer cette tendance chez l'espèce *E. vuilleti*. En effet, des études olfactométriques ont montré que si la femelle acquiert une expérience de ponte, l'hôte reste attractif jusqu'au sixième ou septième jour de la vie de la femelle (Cortesero, 1994). La préparation des femelles *E. vuilleti* pour les expériences nécessitant 3 jours, et la préférence semblant légèrement fléchir après le 5^{ème} jour

de la vie de la femelle, toutes les expériences futures vont être effectuées avec des femelles âgées de 3 ou 4 jours.

Le délai entre les passages des deux femelles ne semble pas influencer la préférence par *E. vuilleti* des hôtes déjà parasités par *D. basalis*. Des observations préliminaires ont montré qu'*E. vuilleti* semble capable de reconnaître les hôtes immédiatement après l'exploitation de l'hôte par la femelle *D. basalis*. Cette reconnaissance reste efficace jusqu'à 4 jours après l'exploitation par la femelle *D. basalis*. Ces résultats concordent avec la seule étude menée à ma connaissance sur l'influence de l'âge de la première ponte sur la découverte par un kleptoparasitoïde des hôtes parasités par l'espèce concurrente : *Pseudorhyssa sternata* perçoit les trous forés par *Rhyssa persuasoria* (Hyménoptères : Ichneumonidae) immédiatement et jusqu'à 12 jours auparavant (Spradbery, 1968). La discrimination interspécifique par *E. vuilleti* semble présenter une persistance beaucoup plus importante que les quelques heures (Klomp *et al.*, 1980 ; Chow & Mackauer, 1986 ; Strand, 1986 ; Sugimoto *et al.*, 1986) à quelques jours (Harrison *et al.*, 1985 ; Bosque & Rabinovich, 1979) mentionnées dans les études portant sur la discrimination intraspécifique. La capacité de discrimination interspécifique semble s'appuyer sur la perception d'un signal ayant une durée de vie très importante ou plus probablement sur la perception de plusieurs signaux successifs. Elle pourrait ainsi faire intervenir la détection d'un indice d'exploitation ou d'un marquage, puis de la larve en développement. Cette hypothèse est confortée par l'évolution de la proportion de femelles qui choisissent l'hôte parasité en premier. Cette proportion est importante avec un délai de 24 et 48 h, puis diminue fortement. La discrimination interspécifique après un délai de 48 h pourrait faire intervenir la perception par l'ovipositeur de la larve concurrente.

Ces observations au niveau du comportement de la femelle *E. vuilleti* en présence d'hôtes parasités par *D. basalis* concordent avec les taux de multiparasitisme observés par van Alebeek *et al.* (1993). Dans cette étude, le nombre d'œufs déposé par la femelle *E. vuilleti* sur un hôte parasité par *D. basalis* restait significativement supérieur à celui déposé sur un hôte sain avec un délai de 7 jours entre le passage des deux femelles. Cependant, après un délai aussi important, l'hôte était presque entièrement consommé par la larve *D. basalis*. La ponte sur cet hôte ne constitue plus un cas de multiparasitisme mais d'hyperparasitisme, la larve d'*E. vuilleti* se développant non plus sur la larve de *C. maculatus* mais aux dépens de celle de *D. basalis*. Les délais étudiés, de 1 à 4 jours, n'ont pas été suffisants pour permettre

l'observation d'une influence de ce délai sur le choix d'un hôte par la femelle *E. vuilleti*. Cependant, passé cette période, la qualité de l'hôte présenté diffère trop entre un hôte parasité et un hôte sain pour permettre de déterminer quel facteur influencerait sur la prise de décision.

Pour éviter que la préférence observée ne soit due à la perception de la larve de *D. basalis* et à l'hyperparasitisme, les hôtes parasités présentés aux femelles *E. vuilleti* pour les tests biologiques seront parasités depuis 24 heures (\pm 3 heures).

B- DETERMINATION DU STIMULUS IMPLIQUE DANS LA DISCRIMINATION INTERSPECIFIQUE

Il existe une grande variété de stimuli associés à un hôte parasité capables de provoquer une modification du comportement des femelles parasitoïdes conspécifiques ou allospécifiques. Plusieurs catégories ont été définies, se basant soit sur la nature du stimulus impliqué (Vinson, 1976 ; Godfray, 1993 ; Nufio & Papaj, 2001), soit sur la localisation de ce stimulus sur le système plante-hôte (Salt, 1937 ; van Lenteren, 1976 ; Hofsvang, 1990), soit enfin sur la fonction primaire de ce stimulus (Seeley, 1998 ; Nufio & Papaj, 2001). D'après ces derniers, les stimuli permettant aux femelles de distinguer les hôtes parasités des hôtes sains peuvent être qualifiés soit d'indices, soit de signaux. Un indice est le produit de la sélection d'un caractère non lié à la communication et qui ne véhicule une information qu'accidentellement. Un signal est sensé avoir été sélectionné pour véhiculer une information d'un émetteur vers un receveur, et donc constitue une véritable communication (Roitberg & Mangel, 1988). Cette distinction est parfois difficile car les systèmes de communication n'apparaissent que rarement spontanément, et les signaux impliqués ne sont souvent que des indices amplifiés par l'émetteur (Hasson *et al.*, 1992 ; Bradbury & Vehrencamp, 1998).

Les indices peuvent prendre la forme d'un stimulus visuel ou tactile : la vue d'une femelle en train de pondre (Spradbery, 1968), la perception du pédicelle de l'œuf saillant à l'extérieur de l'hôte (Takasu & Hirose, 1988) ou la perception par l'ovipositeur de la présence de la larve (Mappes & Mäkelä, 1993). Chez les endoparasitoïdes, la ponte à l'intérieur d'un hôte peut provoquer un changement de la composition de l'hémolymphe de l'hôte (Vinson & Iwatsch, 1980 ; Ferkovich *et al.*, 1983 ; Strand, 1986), ce changement est utilisé par la femelle suivante pour discriminer les hôtes sains des hôtes parasités (Fisher & Ganesalingam, 1970). L'utilisation de véritables signaux, sélectionnés pour véhiculer une information, a été décrite chez de nombreuses espèces. La femelle parasitoïde, après la ponte, dépose dans l'hôte, à la surface de l'hôte ou de la structure végétale l'hébergeant, un signal chimique permettant la discrimination intraspécifique par les femelles suivantes (King & Rafai, 1970 ; van Lenteren, 1976 ; Hofsvang, 1990 ; Godfray, 1994). Ce dépôt constitue une phéromone de marquage définie par Nufio & Papaj (2001) comme un signal chimique associé à l'hôte qui indique l'occupation par des individus conspécifiques. Habituellement perçue par chemoréception de contact, ces phéromones sont généralement produites par les femelles et déposées sur ou dans l'hôte après la ponte. Chez certaines espèces, la phéromone de marquage peut être produite

par des stades juvéniles, œuf (Gauthier & Monge, 1999) ou larve (Corbet, 1973 ; Hilker & Weitzel, 1991).

La localisation du signal ou de l'indice sur le système plante-hôte joue un rôle important, puisqu'elle conditionne la phase du comportement de recherche d'un hôte durant laquelle la discrimination est réalisée. Le marquage du patch a ainsi été décrit chez certaines espèces (Price, 1970b ; Höller & Hörmann, 1993 ; Bernstein & Driessen, 1996 ; Hoffmeister & Roitberg, 1997). Il permettrait la discrimination à distance ou durant la phase de localisation de l'habitat de l'hôte. Le marquage du patch a été très étudié d'un point de vue théorique car il pourrait permettre à la femelle de prendre des décisions optimisant sa stratégie de recherche d'un hôte (Waage, 1979 ; Hemerik *et al.*, 1993 ; Rosenheim & Mangel, 1994). Il s'agit souvent du marquage de la structure végétale pouvant contenir plusieurs hôtes (fruit, feuille ou graine) (Godfray, 1994) ou serait du à la perception à distance du marquage de l'hôte qui diffuserait dans le milieu (Potting *et al.*, 1997). Les hôtes peuvent également être marqués individuellement, la discrimination intervient alors durant la phase de sélection de l'hôte (Godfray, 1994). Le dépôt d'un signal chimique à la surface de l'hôte si celui-ci est libre ou de la structure végétale l'abritant s'il est cryptique, constitue un marquage externe. Ce marquage est perçut par des récepteurs antennaires (Nufio & Papaj, 2001), avant l'introduction de l'ovipositeur. Un marquage interne de l'hôte ou de sa loge est également décrit chez de nombreuses espèces (Hofsvang, 1990). La discrimination est alors effectuée après insertion de l'ovipositeur et ferait intervenir des récepteurs sensoriels situés sur l'ovipositeur.

Chez les hyménoptères parasitoïdes, les sites de production et de stockage de phéromone de marquage intraspécifique des hôtes parasités sont classiquement associés aux systèmes exocrines ou reproductifs (Nufio & Papaj, 2001). Les glandes accessoires et plus particulièrement la glande de Dufour (Guillot & Vinson, 1972 ; Mudd *et al.*, 1982 ; Harrison *et al.*, 1985 ; Hubbard *et al.*, 1987) et la glande à venin (Greany, 1971 ; Bragg, 1974 ; Yamaguchi, 1987) semblent être les sites de production les plus communs. Chez de rares espèces, les oviductes latéraux et plus précisément la partie glandulaire sécrétrice, le calice (Guillot & Vinson, 1972) ou les ovaires (Höller *et al.*, 1993), ont été identifiés comme étant le site de production ou de stockage. Plus rarement, chez d'autres espèces, le dépôt de la phéromone de marquage à la surface de l'hôte est associé aux pattes (Foltyn & Gerling, 1985), ou dans le cas où l'hormone juvénile fait office de phéromone de marquage, les corpora allata (Höller *et al.*, 1994).

Chez les espèces évitant le multiparasitisme, la discrimination interspécifique s'effectue généralement grâce à la perception de la phéromone de marquage de l'espèce concurrente (Hågvar, 1989) ou phylogénétiquement proche (Vet *et al.*, 1984). Chez les espèces kleptoparasitoïdes où le mécanisme permettant la reconnaissance interspécifique a été étudié, les données sont diverses. Chez *Pseudorhyssa sternata* (Hyménoptera : Ichneumonidae), le stimulus est soluble dans l'eau, il s'agirait de substances lubrifiantes de l'ovipositeur de l'espèce concurrente (Spradbery, 1968). Chez *Temelucha interruptor* (Hyménoptera : Ichneumonidea), le stimulus impliqué serait la phéromone de marquage de l'espèce concurrente, et résisterait au lavage à l'eau du substrat (Arthur *et al.*, 1964).

Nous avons tenté dans ce chapitre de déterminer la localisation du stimulus permettant la discrimination interspécifique par *E. vuilleti* des hôtes parasités par *D. basalis* sur le système plante-hôte. Nous avons ensuite étudié sa nature et son action sur le comportement de ponte de la femelle *D. basalis*. Enfin, nous avons tenté de déterminer quelle était son origine.

1- Localisation du stimulus sur le système plante-hôte

L'utilisation de gélules nous permet de séparer les trois parties les constituant, la partie inférieure de la gélule ou socle, représentant la partie inférieure de la surface interne de la loge, l'hôte, c'est à dire la nymphe de *C. maculatus*, et la partie supérieure de la gélule ou capot, constituant la surface externe du système et la partie supérieure de la surface interne de la loge. Nous pouvons ensuite reformer de nouvelles gélules constituées d'une ou plusieurs parties provenant de gélules exploitées par *D. basalis* et de parties neuves propres.

1-1 Procédure expérimentale

Deux lots de 60 femelles *E. vuilleti* accouplées et expérimentées à la ponte sur gélule ont subi un test biologique présentant un choix entre une gélule neuve renfermant un hôte sain et une gélule modifiée.

Expérience 1 : La gélule modifiée A (Fig. 27) est une gélule composée d'un capot provenant d'une gélule exploitée par *D. basalis* 24 heures avant l'expérience, l'hôte et le socle sont remplacés par un hôte sain et un socle neuf. La face interne du capot est nettoyée à l'aide d'un coton sec pour le débarrasser des œufs ou des dépôts éventuels.

Expérience 2 : La gélule modifiée B (Fig. 27) est composée d'un socle et d'un hôte provenant d'une gélule contenant un hôte parasité par *D. basalis* 24 heures avant l'expérience,

dont le capot a été remplacé par un capot neuf. La présence d'un ou de plusieurs œufs de *D. basalis* est vérifiée sous loupe binoculaire.

L'indice de préférence obtenu lors de ces expériences est comparé à celui obtenu lors de l'expérience témoin (Chap. 2 I 1-2) réalisée en présentant à 60 femelles *E. villetti* dans les mêmes conditions un choix entre 2 gélules neuves identiques, contenant un hôte sain.

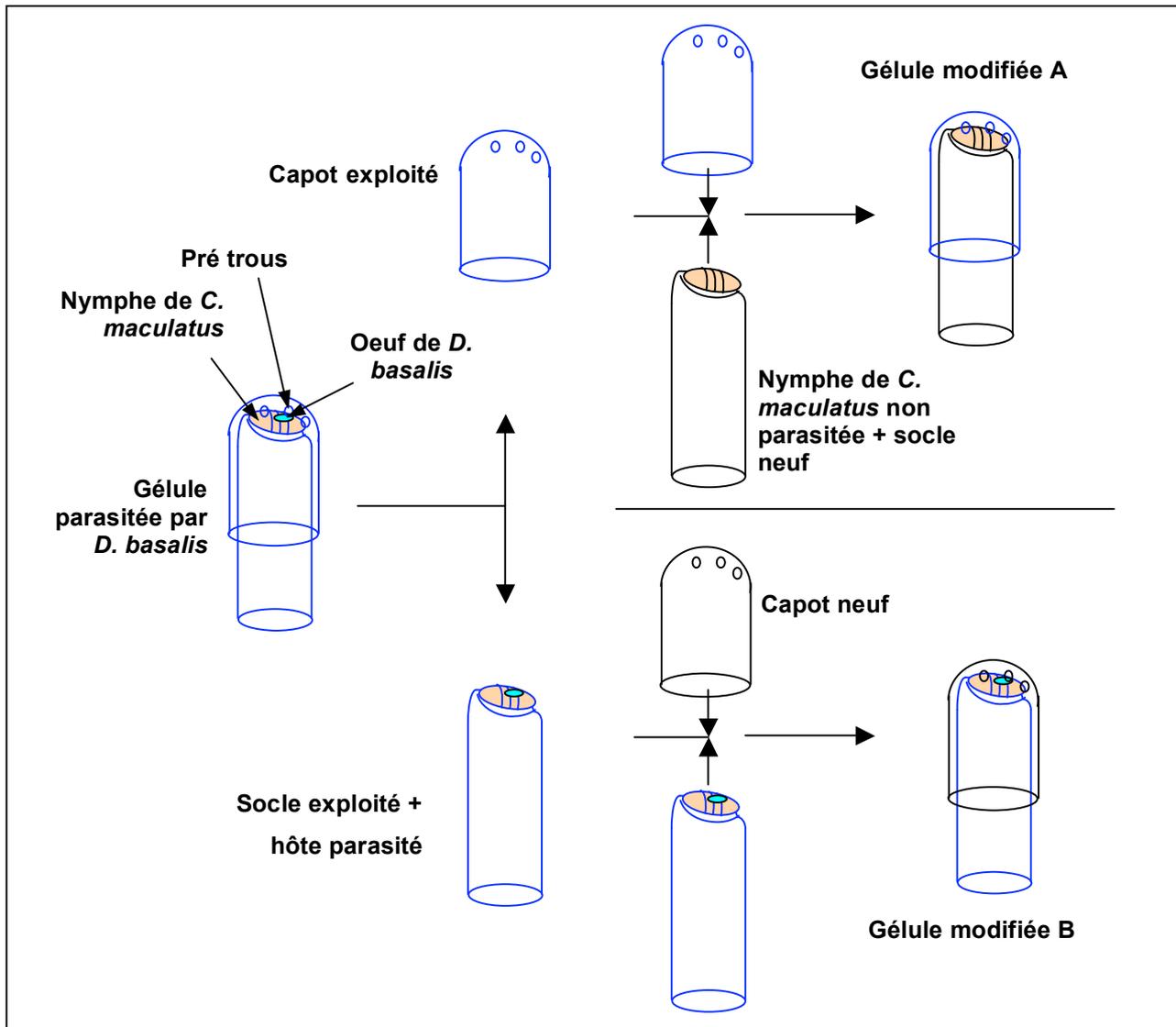


Figure 27 – Modification d'une gélule parasitée par *D. basalis*, permettant de tester séparément la surface (gélule modifiée A) du reste du système (gélule modifiée B).

1-2 Résultats (Fig. 28)

L'indice de préférence moyen obtenu lors d'un choix entre une gélule modifiée A dont seul le capot a été en contact avec une femelle *D. basalis* est positif et significativement différent de celui obtenu en situation témoin (0,46 ; MW : p-value < 0,01). Les femelles *E. villetti* préfèrent donc les gélules dont le capot provient d'une gélule contenant un hôte

parasité par *D. basalis*. Cette valeur est similaire à celle obtenue en présence d'un système gélule-hôte parasité complet (MW : p-value = 0,026). Lors de la deuxième présent un choix entre une gélule neuve renfermant un hôte sain et une gélule modifiée B composée d'un socle et d'un hôte parasité par *D. basalis* recouverts d'un capot propre, l'indice de préférence moyen est positif (0,12), bien que non significativement différent de celui obtenu lors de l'expérience témoin (MW : p-value = 0,056). Le socle et l'hôte parasité ne semblent pas ou peu attractifs pour les femelles *E. vuilleti*.



Figure 28 – Indice de Préférence (+ s.e.m.) des femelles *E. vuilleti* en situation de choix entre une gélule saine et une gélule modifiée A, une gélule modifiée B ou une gélule entière exploitée par *D. basalis*.

* : Significativement différent du témoin (MW ; P-value < α)

2- Nature du stimulus impliqué

Des observations préliminaires à la loupe binoculaire de graines ou de gélules parasitées par *D. basalis* n'ont pas permis de déceler le moindre indice visuel ou tactile capable de permettre la discrimination interspécifique par *E. vuilleti* des hôtes parasités par *D. basalis*. Les trous d'insertion de l'ovipositeur sont extrêmement discrets et difficilement discernables même à fort grossissement. D'autre part, l'hôte parasité par *D. basalis* est préféré dès le premier choix, la discrimination semble intervenir avant que la femelle ne monte sur la graine. Des stimuli tactiles ou uniquement gustatifs ne semblent pas pouvoir induire la préférence rapide à courte distance observée chez les femelles de cette espèce en situation de compétition interspécifique. Un stimulus olfactif volatil semble donc le meilleur candidat. D'autre part, chez la plupart des espèces où le stimulus permettant la discrimination a été

identifié, il s'agissait d'un dépôt odorant d'hydrocarbures perçu par les récepteurs olfactifs antennaires de la femelle (Guillot & Vinson, 1972 ; Godfray, 1994 ; Nufio & Papaj, 2001).

Nous avons voulu vérifier que le stimulus impliqué dans la discrimination interspécifique était bien de nature chimique. Pour cela, nous avons étudié son transfert d'une gélule à une autre par l'intermédiaire d'un solvant organique.

2-1 Procédure expérimentale

60 gélules contenant des nymphes de *C. maculatus* sont placées dans des boîtes de Pétri avec 60 femelles *D. basalis* accouplées et expérimentées dans les conditions photo- et thermo- périodiques de l'élevage. Après 48 heures, les femelles parasitoïdes sont retirées et le parasitisme est vérifié sous loupe binoculaire. Dans ces conditions, les hôtes sont fortement superparasités et portent de 3 à 8 œufs de *D. basalis*. Les capots des gélules parasitées sont prélevés puis plongés quelques secondes dans 2 ml de dichlorométhane. 5 µl de cet extrait sont alors déposés à la surface de 60 gélules propres contenant des hôtes sains. Le dichlorométhane s'évapore très rapidement, laissant à la surface de la gélule un dépôt chimique éventuel. Ces gélules constitueront les gélules à tester. D'autre part, les capots de 60 gélules non parasitées contenant des hôtes sains ont été lavés dans 2 ml de dichlorométhane. 5 µl de cet extrait sont alors déposés à la surface de 60 gélules neuves contenant un hôte sain. 60 femelles *E. vuilleti* subissent alors un test biologique présentant un choix entre ces deux types de gélules. L'indice de préférence obtenu est comparé à celui obtenu en situation témoin (Chap. 2 I 1-2).

2-2 Résultats (Fig. 29)

L'indice de préférence moyen obtenu lors de cette expérience est significativement différent de celui obtenu lors de l'expérience témoin (0,24 ; MW : P-value < 0,001). Les femelles *E. vuilleti* sont capables de reconnaître les gélules sur lesquelles a été déposé un extrait obtenu par lavage de la surface d'une gélule exploitée par *D. basalis*. Cependant, bien que non significativement différent (MW : P-value = 0,09), l'indice de préférence obtenu lors de cette expérience est sensiblement inférieur à celui obtenu lorsque l'on présente dans les mêmes conditions un choix entre une gélule contenant un hôte sain et une gélule contenant un hôte parasité. L'évolution de l'indice de préférence au cours de l'observation semble indiquer qu'après une augmentation similaire durant les 5 premières minutes, l'indice de préférence diminue plus rapidement lorsque la gélule testée porte uniquement un extrait au dichlorométhane. Après avoir effectué une séquence de ponte entière, les femelles ayant

choisi les gélules portant l'extrait quittent la gélule plus rapidement que lorsque le système gélule-hôte parasité est complet.

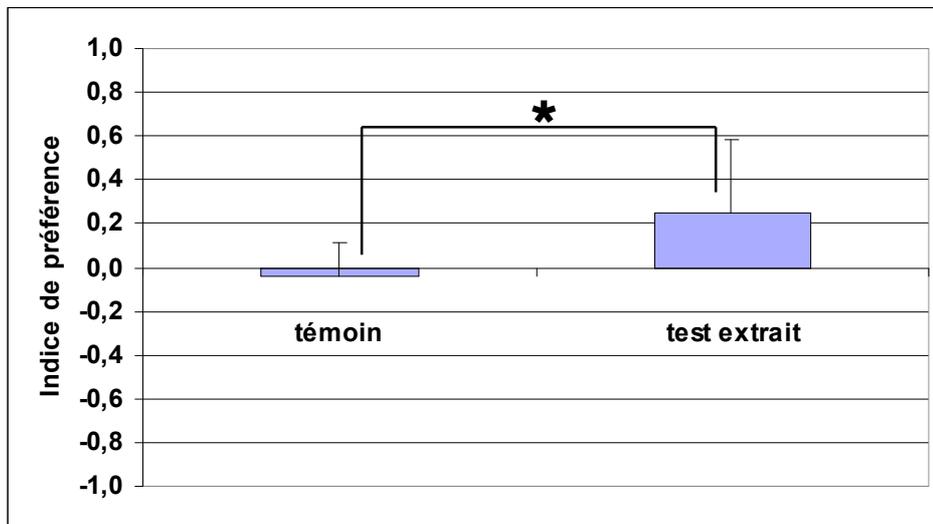


Figure 29 – Indice de Préférence moyen (+ s.e.m.) des femelles *E. vuilleti* en situation de choix entre deux gélules contenant chacune un hôte sain (témoin) ou une gélule sur laquelle a été déposé un extrait obtenu par lavage dans le dichlorométhane de gélules exploitées par *D. basalis* et une gélule sur laquelle a été déposée une quantité équivalente de dichlorométhane (test extrait).

* : significatif (MW ; P-value < α)

3- Rôle du stimulus dans la discrimination intraspécifique chez *D. basalis*

Les caractéristiques du stimulus impliqué dans la discrimination interspécifique évoque celles d'un marquage. Les marquages externes ou internes des hôtes parasités sont sensés permettre soit la discrimination des hôtes sains des hôtes parasités par les femelles conspécifiques (Bakker *et al.*, 1985 ; Turlings *et al.*, 1985) ou des hôtes parasités par une femelle conspécifique des hôtes parasités par la même femelle (Hubbard *et al.*, 1987 ; Höller *et al.*, 1991). Cette discrimination entraînerait une modification comportementale qui se traduirait par un choix préférentiel d'un des types d'hôtes présentés. Le stimulus détecté par les femelles *E. vuilleti* en présence d'hôtes parasités par *D. basalis* est-il un signal destiné à véhiculer une information participant à une communication intraspécifique entre des femelles *D. basalis*? Ce rôle peut-être difficile à mettre en évidence. En effet, chez différentes espèces capables de discrimination intraspécifique, bien que le signal soit perçu, les femelles parasitoïdes n'évitent le superparasitisme que sous certaines conditions. La réponse comportementale est modulée en fonction de l'âge de la femelle et du stock d'œufs chez certaines espèces proovigéniques (Völk & Mackauer, 1990), la densité en hôtes disponibles

(Cloutier, 1984), l'échelle à laquelle est envisagée la discrimination (Hoffmeister & Roitberg, 1997) ou la parenté de l'émettrice avec la réceptrice (van Dijken & Waage, 1987 ; Hubbard *et al.*, 1987). Les résultats concernant la réponse comportementale de femelles *D. basalis* en présence d'hôtes parasités en fonction de l'âge des femelles ou du choix entre différents patchs d'hôtes ont été exposés dans mon rapport de DEA (Jaloux, 2000), ils ne seront donc pas répétés ici. Seul les résultats de l'étude du comportement des femelles *D. basalis* en présence d'hôtes parasités par la même femelle ou par une femelle conspécifique sont présentés ici. Les principaux résultats obtenus lors de mon DEA étaient que le présumé marquage externe des hôtes parasités n'intervenait pas dans la discrimination intraspécifique quel que soit l'âge de la femelle ou le délai entre les pontes, mais plutôt dans le choix du patch d'hôtes à exploiter.

Nous avons voulu savoir si le stimulus externe impliqué dans la reconnaissance interspécifique entraînait une réponse comportementale de la part de femelles conspécifiques, notamment au niveau de leur préférence pour l'un des hôtes proposés au cours d'un test biologique.

3-1 Procédure expérimentale

Deux cent quarante femelles *D. basalis* émergentes ont été isolées individuellement dans 240 boîtes de Pétri numérotées avec 3 gélules contenant chacune un hôte sain, un mâle et un coton imbibé d'eau sucrée. Vingt quatre heures plus tard, les gélules sont retirées et le parasitisme est vérifié sous loupe binoculaire. Les gélules et les femelles sont alors utilisées pour les expériences suivantes.

Expérience 1 : Soixante femelles *D. basalis* sont placées en situation de choix entre deux gélules propres contenant chacune un hôte sain. Cette expérience constitue l'expérience témoin.

Expérience 2 : Un test biologique est réalisé en plaçant 60 femelles *D. basalis* en situation de choix entre une gélule propre contenant un hôte sain et une gélule contenant un hôte parasité par une femelle conspécifique 24 heures avant l'expérience.

Expérience 3 : Un test biologique est réalisé en plaçant 60 femelles *D. basalis* en situation de choix entre une gélule propre contenant un hôte sain et une gélule contenant un hôte parasité par la même femelle 24 heures avant l'expérience.

Expérience 4 : Un test biologique est réalisé en plaçant 60 femelles *D. basalis* en situation de choix entre une gélule propre contenant un hôte parasité par une femelle

conspécifique et une gélule contenant un hôte parasité par la même femelle 24 heures avant l'expérience.

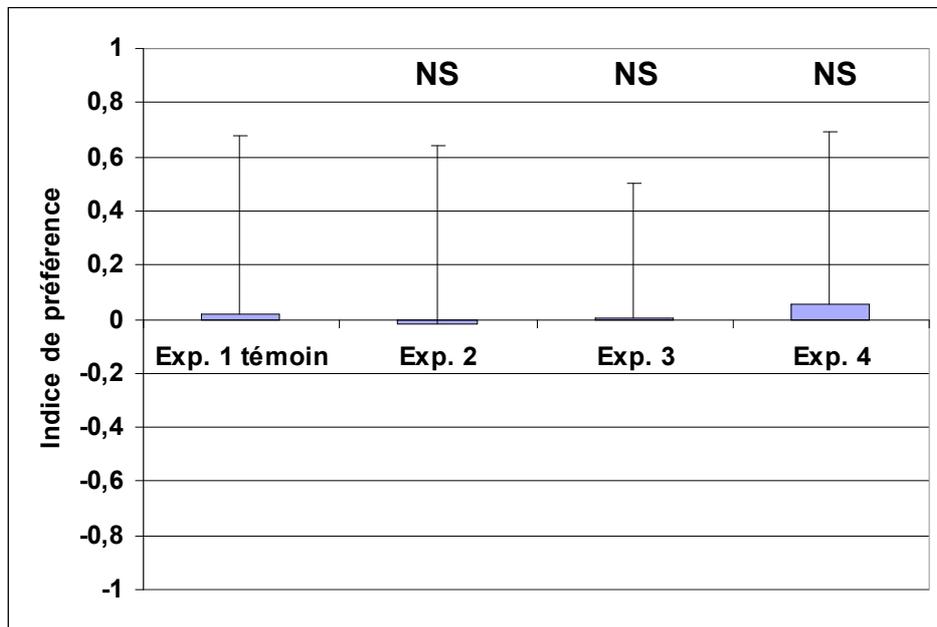


Figure 30 – Indice de Préférence (+ s.e.m.) de femelles *D. basalis* en situation de choix entre deux hôtes sains (Exp. 1), entre un hôte sain et un hôte parasité par une femelle conspécifique (Exp. 2), entre un hôte sain et un hôte parasité par la même femelle (Exp. 3), et entre un hôte parasité par la même femelle et un hôte parasité par une femelle conspécifique (Exp. 4).

NS : Non significativement différent du témoin (MW ; P-value > α).

3-2 Résultats (Fig. 30)

L'indice de préférence obtenu lors de l'expérience 1 (témoin) est logiquement neutre (0,02). Lors de chacune des expériences suivantes, l'indice de préférence obtenu n'est pas significativement différent de celui obtenu lors de l'expérience témoin, que la femelle ait à choisir entre un hôte sain et un hôte parasité par une conspécifique (-0,01 ; MW : P-value = 0,80 > α), entre un hôte sain et une gélule parasitée par elle-même (0,004 ; MW : P-value = 0,94 > α), ou entre un hôte parasité par elle-même et un hôte parasité par une conspécifique (0,05 ; MW : P-value = 0,74 > α). Les femelles *D. basalis* semblent incapables de discrimination intraspécifique, quelle que soit la femelle ayant exploité l'hôte parasité. Le stimulus impliqué dans la reconnaissance interspécifique par *E. vuilleti* des hôtes parasités par *D. basalis* ne semble pas avoir de rôle dans la discrimination intraspécifique chez *D. basalis*.

4- Activité des glandes accessoires et de l'appareil génital de la femelle *D. basalis*

Les glandes accessoires des Pteromalidae sont constituées d'une glande à venin simple et opaque se déversant dans un large réservoir, bilobé chez *D. basalis*, d'une glande de Dufour tubulaire et allongée qui se contracte en un court canal qui s'insère sur l'oviducte commun à la base du réservoir de la glande à venin (Howard & Bakker, 2003). Lors de la dissection de l'abdomen de femelles *D. basalis*, ces glandes forment un ensemble facilement séparable du reste de l'appareil génital. Nous avons testé l'activité des glandes accessoires et du tractus génital sur la préférence des femelles *E. vuilleti*.

4-1 Procédure expérimentale

Des observations préliminaires de l'appareil reproducteur de femelles *D. basalis* disséquées à différents âges ont permis de déterminer que l'état de maturation des glandes accessoires des ovaires variait avec l'âge des femelles. La glande de Dufour et le réservoir de la glande à venin sont de petite taille et peu renflés à l'émergence. Ces structures grossissent et se renflent durant les premiers jours de la vie de la femelle pour atteindre une taille plus ou moins stable à partir du quatrième jour après l'émergence. Le réservoir de la glande à venin, notamment, présent sous forme d'une petite glande à l'émergence acquiert une structure bilobée renflée à partir du quatrième jour. De plus, la quantité de corps gras, gênante pour la dissection, diminue au cours de la vie de la femelle lorsque celle-ci présente une activité de ponte régulière et que l'on ne lui fournit pas d'eau sucrée. Les femelles disséquées seront donc des femelles âgées de plus de 4 jours, accouplées et maintenues dans des boîtes de Pétri en présence de graines contenant des hôtes pendant 3 jours avec un coton imbibé uniquement d'eau puis isolées sans graine avec un coton imbibé d'eau le quatrième jour. La dissection intervient le cinquième jour.

Soixante femelles *D. basalis* ainsi préparées sont sacrifiées et leurs abdomens sont disséqués dans du liquide physiologique. Les glandes accessoires, c'est à dire la glande de Dufour, la glande à venin et son réservoir, ainsi que la première paire de valves de l'ovipositeur, sont isolées du reste du tractus génital, comprenant les ovaires, les oviductes latéraux, l'oviducte commun, la spermathèque et les glandes collatérales. Chacun de ces ensembles est prélevé et écrasé directement à la surface d'une gélule vide, sans loge ni hôte.

Expérience 1 : Une expérience témoin est réalisée en présentant à 60 femelles *E. vuilleti*, dans les conditions du test biologique défini, un choix entre deux gélules vides propres, sans loge formée ni hôtes.

Expérience 2 : Soixante femelles *E. vuilleti* sont soumises à un test biologique, en situation de choix entre une gélule vide sur laquelle ont été écrasées les glandes accessoires et une gélule vide sur laquelle a été déposée une quantité équivalente de corps gras prélevée dans l'abdomen de la femelle *D. basalis* lors de sa dissection.

Expérience 3 : Soixante femelles *E. vuilleti* sont soumises à un test biologique, en situation de choix entre une gélule vide sur laquelle a été écrasé le reste de l'appareil génital et une gélule vide sur laquelle a été déposée une quantité équivalente de corps gras prélevé dans l'abdomen de la femelle *D. basalis* lors de sa dissection.

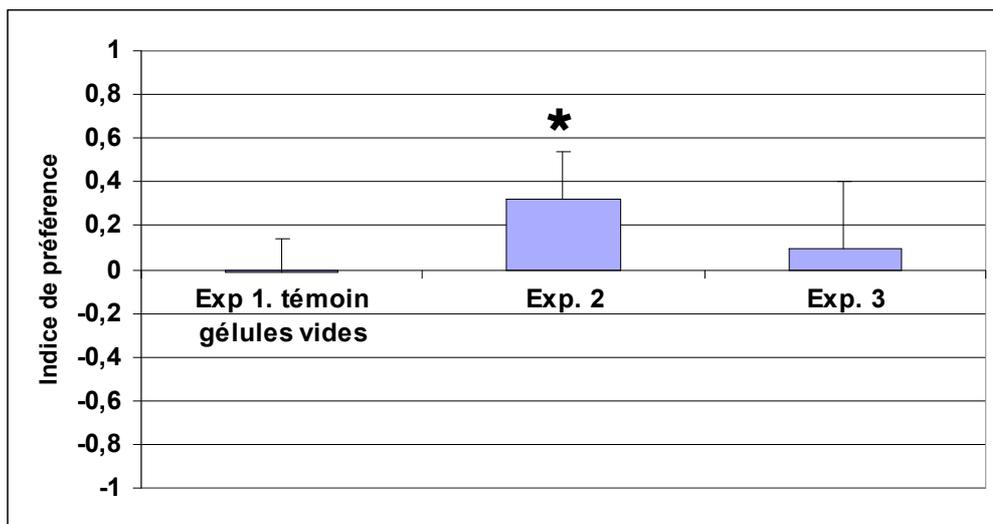


Figure 31 – Indice de Préférence (+ s.e.m.) des femelles *E. vuilleti* en situation de choix entre deux gélules vides (Exp. témoin 1), entre une gélule vide propre et une gélule vide sur laquelle ont été écrasées les glandes accessoires d'une femelle *D. basalis* (Exp. 2), et entre une gélule vide propre et une gélule vide sur laquelle a été écrasé le reste de l'appareil génital d'une femelle *D. basalis* (Exp. 3).

* : Significativement différent du témoin (MW ; P-value < α)

4-2 Résultats (Fig. 31)

L'indice de préférence obtenu lors de l'expérience témoin est neutre (0,02). L'indice de préférence obtenu lors de l'expérience 2 est positif et significativement différent de celui obtenu lors de l'expérience témoin (0,33 ; MW : P-value < 0,01). Les femelles *E. vuilleti* préfèrent donc les gélules sur lesquelles ont été écrasées les glandes accessoires de *D. basalis*, bien que ces gélules ne contiennent pas d'hôtes. Lors de l'expérience 3, l'indice de préférence, bien que légèrement positif, n'est pas significativement différent de celui obtenu lors de l'expérience témoin (0,09 ; MW : P-value = 0,06 > α). Les ovaires, oviductes latéraux et commun, glandes collatérales et spermathèque ne semblent pas impliqués dans la synthèse ou le stockage des substances chimiques reconnues par les femelles *E. vuilleti*.

Cette expérience a en outre permis d'observer un phénomène étonnant : la plupart des femelles *E. vuilleti* testées ont initié un comportement de ponte à l'endroit exact où les glandes accessoires de *D. basalis* ont été écrasées (Fig. 32). La femelle effectue une séquence de « drumming » intense sur la zone, puis s'immobilise, repli son abdomen et entreprend la perforation de la gélule. Après une courte exploration à l'aide de son ovipositeur flexible de l'espace vide à l'intérieur de la gélule, la femelle interrompt le comportement de ponte, et réitère de nombreuses fois cette séquence comportementale au même endroit. Outre la précision avec laquelle la femelle *E. vuilleti* localise les glandes pour initier un comportement de ponte, le plus surprenant réside dans « l'acharnement » des femelles sur cette zone.

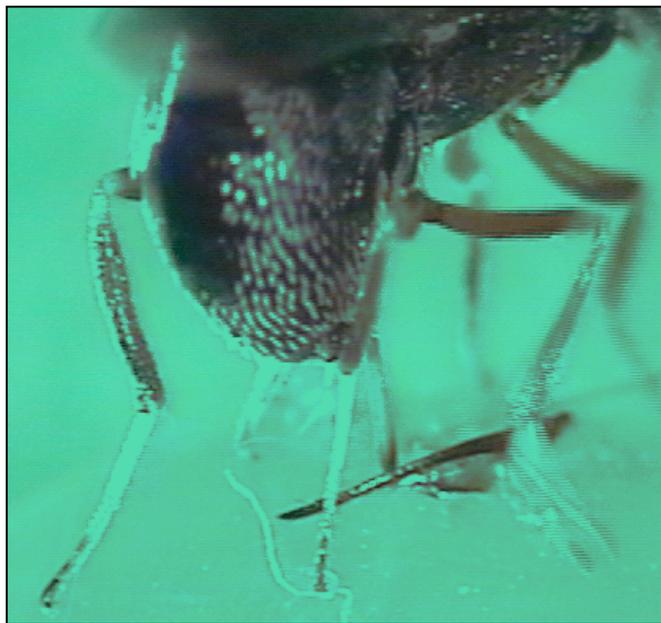


Figure 32 – Une femelle *E. vuilleti* initiant un comportement de ponte à l'endroit où ont été écrasées les glandes accessoires de *D. basalis*.

5- Caractéristiques physico-chimiques des composés actifs

Chez les différentes espèces où la phéromone de marquage a été étudiée, la substance impliquée dans la discrimination intraspécifique peut être de nature variée, parfois plusieurs signaux produits par différentes structures peuvent intervenir. Ainsi, selon Vinson & Guillot (1972), chez *Camponotus pennsylvanicus* (Formicidae), la phéromone de marquage serait composée de deux signaux, un signal externe composé d'une substance huileuse produite par la glande de Dufour, et un signal interne injecté dans l'hôte sous forme d'un fluide soluble dans du liquide physiologique, produit par les oviductes latéraux. Chez *Dendrocerus*

carpenteri (Megaspilidae), un hyperparasitoïde, Höller *et al.* (1991) retrouve aussi cette double nature du signal, mais composant un signal uniquement externe. L'un des marqueurs serait très actif, de courte durée, non détectable par chromatographie gazeuse et sensible à la congélation. Le second marqueur est moyennement actif, persistant, détectable par chromatographie gazeuse et insensible à la congélation. Chez *Nemeritis canescens* (Hubbard *et al.*, 1987), le marqueur serait uniquement composé de la sécrétion de la glande de Dufour, et permettrait une identification individuelle de la femelle ayant parasité l'hôte. Nous avons tenté de déterminer les caractéristiques chimiques des composés actifs contenus dans les sécrétions des glandes accessoires de la femelle *D. basalis*.

5-1 Procédure expérimentale

Dans cette série d'expérience, nous avons utilisé comme solvant aqueux l'eau, et comme solvant organique le dichlorométhane. Ce solvant est non miscible dans l'eau, ce qui permet d'isoler les fractions hydrophiles et hydrophobes, et n'est pas très apolaire, ce qui permet de solubiliser la majorité des composés lipidiques présents dans les sécrétions des glandes accessoires. Soixante femelles *D. basalis* âgées de quatre jours sont sacrifiées et disséquées. Les glandes accessoires sont prélevées et écrasées dans un mélange composé de 2 ml d'eau distillée et de 2 ml de dichlorométhane. Le mélange est agité vigoureusement pendant quelques secondes puis laissé au repos. Après quelques minutes, les deux solvants non miscibles se séparent pour former deux phases, une phase aqueuse au fond et une phase hydrophobe au-dessus. Les deux phases sont alors prélevées à l'aide d'une micropipette et trois extraits sont définis : extrait eau, extrait dichlorométhane, et extrait eau + dichlorométhane.

Expérience 1 : Une expérience témoin est réalisée en présentant à 60 femelles *E. vuilleti*, dans les conditions du test biologique défini, un choix entre deux gélules vides propres, sans loge formée ni hôtes.

Expérience 2 : Soixante femelles *E. vuilleti* sont soumises à un test biologique, en situation de choix entre une gélule vide sur laquelle a été déposé 10 µl d'extrait dans l'eau et une gélule vide sur laquelle a été déposé 10 µl d'eau distillée

Expérience 3 : un deuxième lot de 60 femelles *E. vuilleti* subit un test biologique, en situation de choix entre une gélule vide sur laquelle a été déposé 10 µl d'extrait dans le dichlorométhane et une gélule vide sur laquelle a été déposé 10 µl de dichlorométhane pur.

Expérience 4 : un troisième lot de 60 femelles *E. vuilleti* subit un test biologique, en situation de choix entre une gélule vide sur laquelle a été déposé 5 µl d'extrait dans le

dichlorométhane + 5 µl d'extrait dans l'eau et une gélule vide sur laquelle a été déposé 5 µl de dichlorométhane pur et 5 µl d'eau distillée.

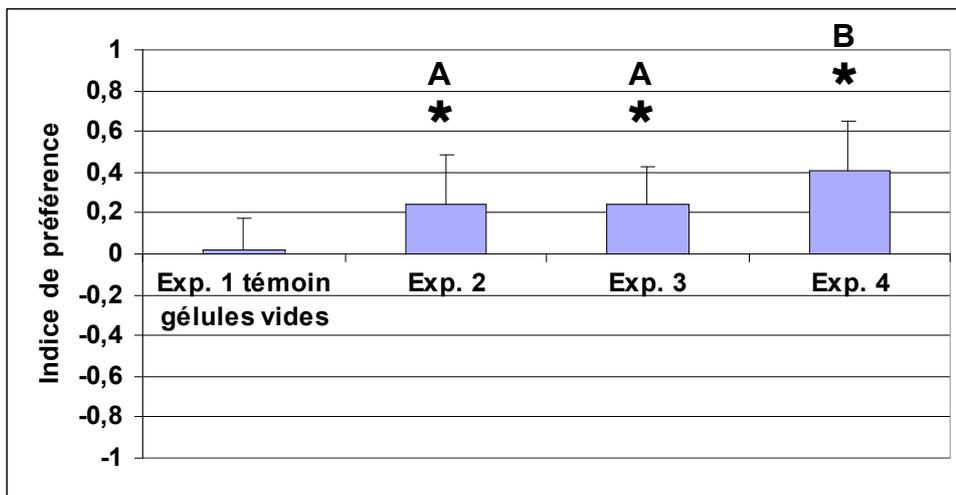


Figure 33 – Indice de Préférence (+ s.e.m.) des femelles *E. villetti* en situation de choix entre deux gélules vides (Exp. 1 témoin), une gélule vide et une gélule sur laquelle a été déposé un extrait de glandes accessoires de *D. basalis* dans le dichlorométhane (Exp. 2), une gélule vide et une gélule sur laquelle a été déposé un extrait de glandes accessoires de *D. basalis* dans l'eau (Exp. 3), et entre une gélule vide et une gélule sur laquelle a été déposé un mélange des deux extraits (Exp. 4).
 * : Significativement différent du témoin (MW ; P-value < α).
 Les lettres correspondent aux regroupements effectués grâce au test de Dunn-Sidak ($\alpha = 0,05$).

5-2 Résultats (Fig. 33)

L'indice de préférence pour la gélule sur laquelle a été déposé l'extrait de glandes accessoires est significativement différent de celui obtenu en situation témoin (Exp. 1 : 0,02), quel que soit le solvant utilisé : dichlorométhane (Exp. 2 : 0,24 ; MW : P-value < 0,01), eau (Exp. 3 : 0,24 ; MW : P-value < 0,01), ou eau + dichlorométhane (Exp. 4 : 0,41 ; MW : P-value < 0,01). Les valeurs de l'indice de préférence pour les extraits dans l'eau et dans le dichlorométhane ne sont pas significativement différentes. En revanche, la combinaison des deux extraits eau + dichlorométhane provoque chez la femelle *E. villetti* une préférence significativement plus forte, bien que la quantité déposée (5µl + 5µl) soit similaire à celle des deux autres extraits (10µl).

6- Activité de la sécrétion la glande de Dufour et de la glande à venin

Chez les Hyménoptères, le rôle et la nature des sécrétions de chacune des glandes accessoires sont très différents : La glande de Dufour produit une sécrétion huileuse (Vinson & Guillot, 1972) composée majoritairement d'hydrocarbures linéaires à longues chaînes saturées et mono-insaturées solubles dans un solvant organique généralement décrite comme la source de la phéromone de marquage des hôtes parasités (Mudd *et al.*, 1982 ; Syvertsen *et al.*, 1995 ; Marris *et al.*, 1996 ; Howard & Bakker, 2003). Cette sécrétion a aussi été décrite comme un lubrifiant facilitant le passage de l'œuf à l'intérieur de l'ovipositeur (Bender, 1943 ; Robertson, 1968 ; Copland & King, 1971). La glande à venin quand à elle est un site de production important de substances protéiques de taille variable, du peptide à la protéine de poids moléculaire important (Coudron & Brandt, 1996). Ces molécules aqueuses sont impliquées dans l'altération des réactions de défense de l'hôte, sa paralysie ou sa mort (King & Ratcliffe, 1969). La glande à venin produirait également chez certaines espèces des mucopolysaccharides empêchant l'encapsulation de l'œuf par l'hôte (Osman & Führer, 1979), des hydrocarbures, esters de stérols et acides gras (Guillot *et al.*, 1974). Après dissection et isolement des glandes accessoires de femelles *D. basalis*, nous avons réalisé différents extraits dans l'eau et dans le dichlorométhane dont nous avons comparé l'activité sur la préférence et le comportement des femelles *E. vuilleti*.

6-1 Procédure expérimentale

Cent femelles *D. basalis* âgées de quatre jours sont sacrifiées et disséquées. Les glandes accessoires sont prélevées, la glande de Dufour séparée de l'ensemble glande à venin-réservoir de la glande à venin. Quatre extraits sont alors réalisés en dilacérant les glandes dans le solvant : cinquante glandes de Dufour dans 2 ml de dichlorométhane, 50 glandes de Dufour dans 2 ml d'eau distillée, 50 glandes à venin (+ réservoir) dans 2 ml de dichlorométhane et 50 glandes à venin (+ réservoir) dans 2 ml d'eau distillée. Chaque extrait est entièrement évaporé à 25°C puis repris dans 5 ml de solvant correspondant. Quatre tests biologiques ont alors été réalisés en plaçant 60 femelles *E. vuilleti* en situation de choix entre :

Expérience 1 : deux gélules vides propres (témoin).

Expérience 2 : une gélule vide sur laquelle a été déposé 5 µl d'extrait de glandes de Dufour dans le dichlorométhane et une gélule vide sur laquelle a été déposé 5 µl de dichlorométhane pur.

Expérience 3 : une gélule vide sur laquelle a été déposé 5 µl d'extrait de glandes à venin dans le dichlorométhane et une gélule vide sur laquelle a été déposé 5 µl de dichlorométhane pur.

Expérience 4 : une gélule vide sur laquelle a été déposé 5 µl d'extrait de glandes de Dufour dans l'eau et une gélule vide sur laquelle a été déposé 5 µl d'eau distillée.

Expérience 5 : une gélule vide sur laquelle a été déposé 5 µl d'extrait de glandes à venin dans l'eau et une gélule vide sur laquelle a été déposé 5 µl d'eau distillée.

En plus des positions permettant le calcul de l'indice de préférence, le nombre de comportements de ponte initiés, caractérisés par le repli de l'abdomen de la femelle à l'endroit du dépôt, est noté pour chacune des femelles testées.

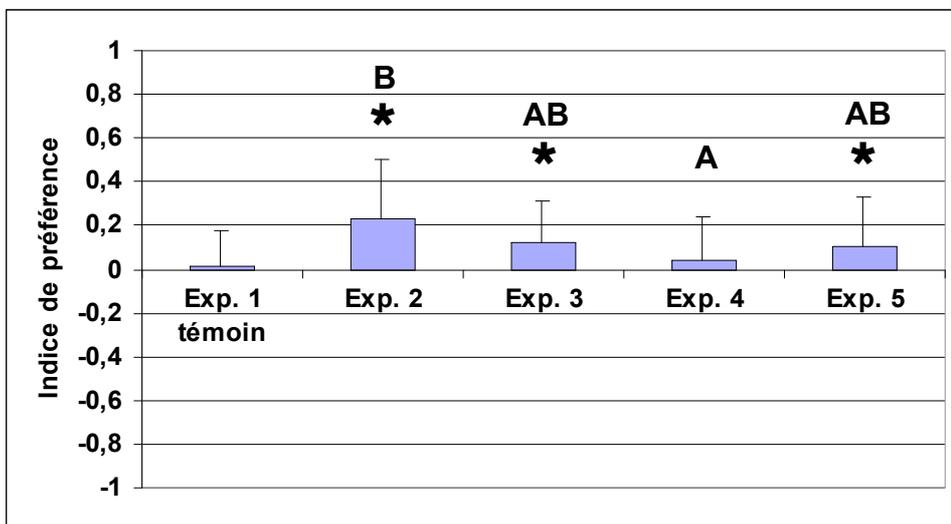


Figure 34 – Indice de Préférence (+ s.e.m.) des femelles *E. vuilleti* en situation de choix entre deux gélules vides (Exp. 1 témoin), une gélule vide et une gélule sur laquelle ont été déposés des extraits de glande accessoires de *D. basalis*:

Un extrait de glandes de Dufour dans le dichlorométhane (Exp. 2)

Un extrait de glandes à venin dans le dichlorométhane (Exp. 3)

Un extrait de glandes de Dufour dans l'eau (Exp. 4)

Un extrait de glande à venin dans l'eau (Exp. 5).

* : Significativement différent du témoin (MW ; P-value < α).

Les lettres correspondent aux regroupements effectués grâce au test de Dunn-Sidak ($\alpha = 0,05$).

6-2 Résultats (Fig. 34)

L'indice de préférence est significativement différent de celui obtenu en situation témoin (Exp. 1 : 0,02) pour trois extraits : glande de Dufour dans le dichlorométhane (Exp. 2 : 0,23 ; MW : P-value < 0,001), glande à venin dans le dichlorométhane (Exp. 3 : 0,12 ; MW : P-value < 0,001), et glande à venin dans l'eau (Exp. 5 : 0,10 ; MW : P-value = 0,03), et.

L'indice de préférence correspondant à l'extrait de glande de Dufour dans l'eau n'est pas significativement différent de celui du témoin (0,04) (MW : P-value = 0,205). Le dépôt le plus actif est l'extrait de glande de Dufour dans le dichlorométhane, les extraits de glande à venin dans le dichlorométhane et glande à venin dans l'eau présentant une valeur intermédiaire.

Parmi les quatre extraits testés, trois entraînent une stimulation significative du comportement de ponte (Fig. 35). Le nombre de comportements de ponte initiés sur la gélule portant l'extrait est significativement différent de celui sur la gélule portant uniquement le solvant pour l'extrait de glande à venin dans l'eau ($\chi^2_{\text{obs}} = 30,16 > \chi^2_{\text{critique}} = 3,84$; 1 ddl, $\alpha = 0,05$), l'extrait de glande de Dufour dans le dichlorométhane ($\chi^2_{\text{obs}} = 20,03 > \chi^2_{\text{critique}} = 3,84$; 1 ddl, $\alpha = 0,05$) et l'extrait de glande à venin dans le dichlorométhane ($\chi^2_{\text{obs}} = 36,09 > \chi^2_{\text{critique}} = 3,84$; 1 ddl, $\alpha = 0,05$). Il n'est pas significativement différent pour l'extrait de glande de Dufour dans l'eau ($\chi^2_{\text{obs}} = 0,92 < \chi^2_{\text{critique}} = 3,84$; 1 ddl, $\alpha = 0,05$). D'autre part le nombre total de comportements de ponte initiés, quelle que soit la gélule, diffère selon l'extrait considéré ($\chi^2_{\text{obs}} = 92,96 > \chi^2_{\text{critique}} = 7,81$; 3 ddl, $\alpha = 0,05$). Il est nettement plus important pour l'extrait de glande à venin dans l'eau. Cet extrait semble stimuler le comportement de ponte sur la gélule portant l'extrait, mais aussi sur la gélule portant le solvant.

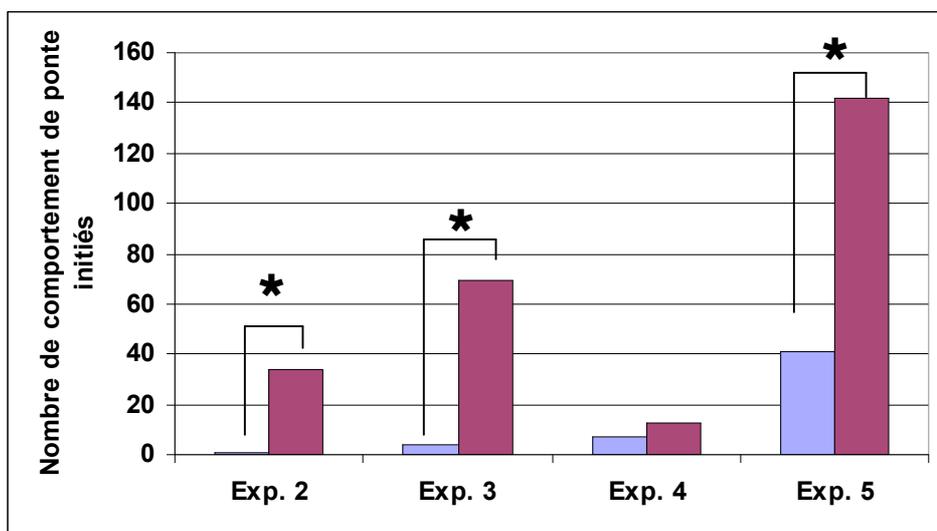


Figure 35 – Nombre total de comportements de ponte initiés par les femelles *E. vuilleti* sur la gélule portant le solvant (■), et la gélule portant l'extrait de glandes accessoires de *D. basalis* (■) :
 Glandes de Dufour dans le dichlorométhane (Exp. 2)
 Glandes à venin dans le dichlorométhane (Exp. 3)
 Glandes de Dufour dans l'eau (Exp. 4)
 Glande à venin dans l'eau (Exp. 5).
 * : Significativement différent ($\chi^2_{\text{obs}} > \chi^2_{\text{critique}}$; 1 ddl, $\alpha = 0,05$)

7- Rôle des hydrocarbures cuticulaires

Chez de nombreuses espèces d'Hyménoptères, les hydrocarbures cuticulaires et ceux produits par la glande de Dufour présentent une grande similarité, tant au niveau de leur nature que de leurs taux respectifs. Cette similarité a été rapportée chez plusieurs espèces de bourdons (Oldham *et al.*, 1994), chez des guêpes polistes (Dani *et al.*, 1996), chez l'abeille *Apis mellifera* (Gozansky *et al.*, 1997), et assez récemment chez les hyménoptères parasitoïdes dont un Braconidae, *Cardiochiles nigriceps* (Syvertsen *et al.*, 1995), deux Bethyilidae, *Cephalonomia tarsalis* et *C. waterstoni*, et surtout deux Pteromalidae, *Anisopteromalus calandrae* et *Pteromalus cerealellae* (Howard & Bakker, 2003). De plus, chez de nombreuses espèces d'hyménoptères sociaux, ces hydrocarbures cuticulaires sont des indices impliqués dans la reconnaissance du genre ou de l'espèce d'un individu allospécifique (Ali & Morgan, 1990 ; Bagnères *et al.*, 1991 ; Howard, 1993 ; Lahav *et al.*, 1999 ; Wagner *et al.*, 2000). Ils sont donc potentiellement capables de constituer un indice impliqué dans la reconnaissance interspécifique. Nous avons testé l'activité des hydrocarbures cuticulaires de femelles *D. basalis* sur la préférence des femelles *E. vuilleti*.

7-1 Procédure expérimentale

Expérience 1 : Une expérience témoin est réalisée en présentant à 60 femelles *E. vuilleti*, dans les conditions du test biologique défini, un choix entre deux gélules contenant chacune un hôte sain.

Expérience 2 : Vingt femelles *D. basalis* émergentes sont isolées dans 2 boîtes de Pétri sans hôte pendant 3 jours, avec un coton imbibé d'eau uniquement. Les boîtes de Pétri sont renouvelées chaque jour pour éliminer toute poudre de Niébé, dont les femelles parasitoïdes sont en partie couvertes à l'émergence ainsi que les traces de fèces. Le quatrième jour, ces femelles sont plongées entières et vivantes 10 secondes dans 5 ml de dichlorométhane. 5 µl de cet extrait sont déposés à la surface de 60 gélules vides, sans loge ni hôte. Ces gélules sont alors proposées à 60 femelles *E. vuilleti* expérimentées en situation de choix simple avec 60 gélules vides sur lesquelles ont été déposés 5 µl de dichlorométhane.

Expérience 3 : L'abdomen de 60 femelles *D. basalis*, préparées comme pour l'expérience 2, est frotté à la surface de 60 gélules contenant chacune un hôte sain. Le frottement consiste à saisir la femelle par le thorax à l'aide de pinces souples et à froter délicatement 4 ou 5 fois la face supérieure (tergites) de l'abdomen resté libre à la surface de la gélule, juste au dessus de la loge artificielle, en évitant l'extrémité de l'abdomen, pour éviter

la contamination avec des sécrétions de la glande de Dufour. Ces gélules sont ensuite présentées à 60 femelles *E. vuilleti* en situation de choix avec 60 gélules propres contenant chacune un hôte sain.

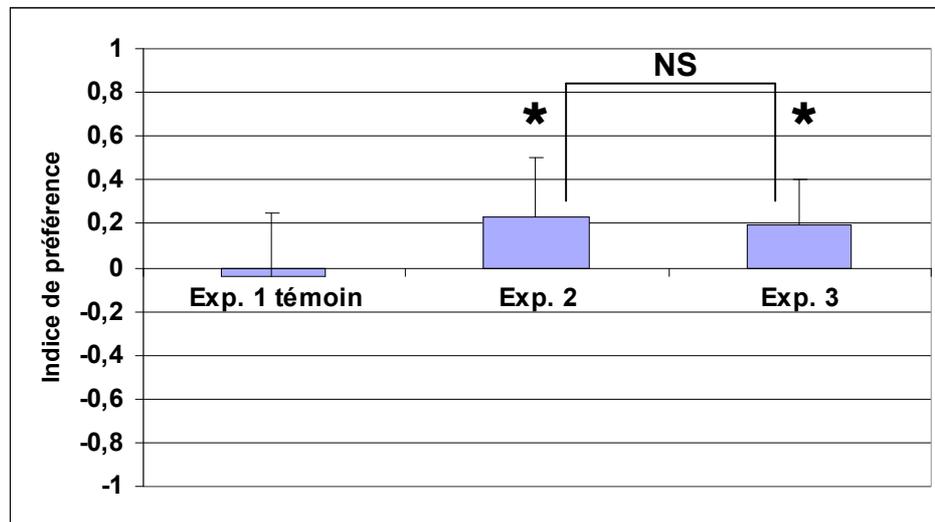


Figure 36 – Indice de Préférence (+ s.e.m.) des femelles *E. vuilleti* en situation de choix entre deux gélules identiques contenant chacune un hôte sain (Exp. 1), ou deux gélules dont l'une porte un extrait cuticulaire dans le dichlorométhane (Exp. 2), ou sur laquelle a été frotté l'abdomen d'une femelle *D. basalis* (Exp. 3).

* : Significativement différent du témoin (MW ; P-value < α).

7-2 Résultats (Fig. 36)

L'indice de préférence obtenu lors du test de l'activité des hydrocarbures cuticulaires (Exp. 2) est positif (0,27) et significativement différent de celui obtenu lors de l'expérience témoin (0,02), présentant un choix entre 2 gélules contenant chacune un hôte sain (MW : P-value < 0,001). L'extrait cuticulaire est donc actif et induit une préférence similaire à celle obtenue avec un extrait de glande de Dufour (paragraphe 3 ; MW : P-value = 0,92 > α), mais légèrement plus faible que celle induite par la gélule parasité complète (Chap I 1-2 ; MW : P-value < α).

Lors de l'expérience 3, l'indice de préférence est également significativement différent de celui du témoin (0,19 ; MW : P-value < 0,001). Bien que légèrement inférieur, il n'est pas significativement différent de celui obtenu avec l'extrait cuticulaire (Exp. 2) (MW ; P-value = 0,49). Le frottement de l'abdomen de la femelle *D. basalis* semble donc suffisant pour permettre la discrimination par la femelle *E. vuilleti* des hôtes parasités par *D. basalis*.

8- Discussion

Le stimulus permettant la discrimination interspécifique serait un dépôt à la surface du système plante-hôte, lié à l'exploitation de cet hôte par la femelle *D. basalis*. En effet, une gélule dont seul le capot a été exploité par une femelle *D. basalis* induit une préférence équivalente à celle observée en présence de la gélule parasitée complète. La surface de la gélule semble suffisante pour permettre la discrimination interspécifique par les femelles *E. vuilleti* des hôtes parasités par *D. basalis*. Le signal ou l'indice impliqué est donc déposé à la surface de la graine ou de la gélule par la femelle *D. basalis* lors de l'exploitation de l'hôte. Il pourrait s'agir d'un signal intraspécifique externe, sous forme d'une phéromone de marquage intraspécifique (Nufio & Papaj, 2001) ou d'un indice, tactile, visuel, olfactif ou gustatif. Le résultat intermédiaire obtenu dans le deuxième lot peut faire intervenir un signal complémentaire interne ou plus vraisemblablement un signal externe résiduel notamment sur la partie postérieure du socle, exposée à la femelle *D. basalis* durant l'exploitation de la gélule.

Ces résultats concordent avec ceux de Spradbery (1968) chez l'Ichneumonidae kleptoparasitoïde *Pseudorhyssa sternata*. Les trous forés par l'espèce concurrente *Rhyssa persuasoria* à la surface d'une feuille de carton, sous laquelle ont été ménagées des cavités contenant des hôtes, sont attractifs pour les femelles *P. sternata*, alors que des trous artificiels n'entraînent pas de sondage. La reconnaissance des hôtes parasités par un kleptoparasitisme semble faire intervenir un stimulus externe attractif.

Le stimulus est une substance odorante constituée d'un ou de plusieurs composés lipidiques solubles dans le dichlorométhane. Ces caractéristiques concordent avec les observations de Guillot et Vinson (1972) au sujet de la phéromone de marquage permettant la discrimination intraspécifique chez le braconidae *Campoletis perdistinctus*. Néanmoins, en présence de gélules sur lesquelles un extrait dans le dichlorométhane de ce dépôt a été déposé, la réponse des femelles *E. vuilleti* est plus faible que lorsqu'elles sont en présence de gélules parasitées complètes. Plusieurs hypothèses pourraient expliquer cette différence :

① Soit une partie seulement du stimulus impliqué est soluble dans le dichlorométhane, les gélules testées ne porteraient alors qu'un stimulus partiel.

② Soit la quantité déposée très approximativement serait différente de celle présente à la surface d'une gélule parasitée.

③ Soit enfin le dépôt de dichlorométhane pourrait avoir un effet néfaste sur la qualité de l'hôte à l'intérieur de la loge, ce qui induirait un départ plus rapide de la femelle parasitoïde. Après observation à la loupe d'hôtes contenus dans une gélule sur laquelle a été déposé 5 µl de dichlorométhane, aucune nécrose n'a pu être observée.

En présence du stimulus impliqué dans la discrimination interspécifique, les femelles *D. basalis* ne semblent éviter ni le superparasitisme conspécifique, ni le self-superparasitisme. Bien que la femelle adopte fréquemment après la ponte une posture semblable à la posture de marquage décrite par Salt (1937), la discrimination chez *D. basalis* ne semble pas faire intervenir la reconnaissance d'un marquage externe déposé par la femelle précédente. Plusieurs éléments viennent étayer cette thèse :

① Tout d'abord, la posture de marquage ne semble pas être systématique. Lors d'expériences préliminaires, seules 71% des pontes étaient suivies d'une posture de marquage, et près de 22% des postures observées intervenaient sans qu'un œuf puisse être observé après dissection des graines.

② Malgré l'adoption de cette posture, aucun dépôt n'a pu être observé. Cependant, l'observation visuelle d'un dépôt n'est que très rarement rapporté chez les hyménoptères parasitoïdes (Rabb & Bradley, 1970), plus fréquemment chez les diptères phytophages (Averill & Prokopy, 1988) chez lesquels, cependant, ce dépôt n'est pas nécessairement associé avec le dépôt d'une phéromone de marquage (Prokopy & Koyama, 1982 ; Fitt, 1984).

③ Enfin, il existe chez cette espèce un marquage interne suffisant pour permettre la discrimination intraspécifique. Selon Gauthier *et al.* (1996), la capacité de discrimination serait basée sur la détection d'un facteur interne lié à l'œuf parasitoïde ou encore d'un signal transféré de l'œuf vers l'hôte parasite (Gauthier & Monge, 1999). Cette détection fait intervenir des récepteurs situés sur l'ovipositeur, elle n'intervient pas sur le choix de l'hôte mais sur l'acceptation de l'hôte une fois le comportement de ponte engagé.

De nombreuses expériences ont été réalisées au laboratoire pour déterminer le rôle d'un supposé marquage externe des hôtes parasités par *D. basalis*. Aucune réponse claire n'a pu être mise en évidence, la discrimination entre les hôtes sains et les hôtes parasités semblant essentiellement basée sur la reconnaissance d'un marquage interne. Cependant, des expériences menées au niveau de la discrimination entre des patchs composés d'hôtes sains et des patchs d'hôtes dont une proportion importante est parasitée semblent montrer que *D. basalis* préfère les patchs sains (Jaloux, 2000), la discrimination intervenant à courte distance.

Bien que le stimulus permettant la discrimination n'ait pu être identifié, un signal externe, volatil semble plus à même de permettre ce type de discrimination qu'un signal interne. L'évaluation du taux de parasitisme d'un patch pourrait présenter un avantage important dans ce système, où les hôtes sont distribués en patch (une graine peut renfermer une dizaine d'hôtes), et où l'exploration individuelle de chaque hôte nécessite du temps et de l'énergie (la discrimination n'est effectuée qu'après insertion de l'ovipositeur).

Le rôle intraspécifique de ce présumé signal reste obscur et ne correspond pas à celui décrit chez les espèces possédant un système de discrimination intraspécifique basée sur la détection d'une phéromone de marquage. Ce dépôt ne semble pas être impliqué dans l'évitement du superparasitisme à proprement parler, assuré par la perception du marquage interne. Il permettrait plutôt à la femelle suivante d'éviter les patches déjà fortement exploités. L'information véhiculée par ce signal n'est donc pas équivalente pour les deux espèces : pour *D. basalis*, il permettrait d'évaluer la qualité d'un patch pour éviter les patches fortement parasités; pour *E. vuilleti*, il permet la discrimination entre les hôtes sains et les hôtes parasités et entraîne une préférence forte de ces derniers.

Les glandes accessoires des femelles *D. basalis* semblent être le site de production et/ou de stockage de la substance chimique constituant le stimulus externe reconnu par les femelles *E. vuilleti*. Ces résultats concordent avec la majorité des travaux ayant étudié les sites de production de la phéromone de marquage intraspécifique des hôtes parasités (Guillot & Vinson, 1972 ; Mudd *et al.*, 1982 ; Harrison *et al.*, 1985 ; Hubbard *et al.*, 1987 ; Nufio & Papaj, 2001). Les sécrétions des glandes accessoires de *D. basalis* pourraient être déposées à la surface de la graine activement durant la posture de marquage. D'autre part, de nombreux auteurs ont attribué aux sécrétions des glandes accessoires des hyménoptères un rôle dans la lubrification de l'ovipositeur (Porter, 1961) ou de l'œuf à l'intérieur de l'ovipositeur (Gnatzy *et al.*, 2004). Le retrait de l'ovipositeur après la ponte pourrait s'accompagner d'un dépôt passif des substances lubrifiantes sur les rebords du trou. Ainsi chez le kleptoparasitoïde *Pseudorhyssa sternata*, les glandes accessoires des femelles *Rhyssa persuasoria*, impliquées dans la lubrification de l'ovipositeur (Robertson, 1968) semblent être le site de production du stimulus chimique permettant aux femelles *P. sternata* de reconnaître les hôtes parasités (Spradbery, 1968).

Bien que l'oviducte ait été décrit comme un site de synthèse de la phéromone de marquage intraspécifique chez quelques rares espèces (Guillot & Vinson, 1972), la légère préférence observée lors de l'expérience où le tractus génital est testé pourrait n'être due qu'à

une contamination de l'oviducte par les sécrétions des glandes accessoires. Ces glandes se déversant au niveau de l'oviducte commun, la contamination semble inévitable.

Les sécrétions des glandes accessoires semblent avoir deux effets distincts sur le comportement des femelles *E. vuilleti* : d'une part un effet attractif, au moins à courte distance, qui oriente le déplacement de la femelle et permet la localisation précise du dépôt. D'autre part, il provoque une stimulation du comportement de ponte, observable même en absence de stimuli issus de la plante ou de l'hôte. Visuellement, cet effet inducteur se traduit par une « excitation intense » ou un « acharnement » des femelles. Ce deuxième effet a une influence sur l'indice de préférence : une fois l'hôte parasité choisi, la femelle pond puis reste sur cet hôte et initie de nouveaux comportements de ponte, ce qui augmente la durée de résidence de la femelle sur cet hôte et donc l'indice de préférence correspondant.

Ce double effet attractif et stimulateur a déjà été mentionné lors de la description du comportement des femelles *Temelucha interruptor*, un Ichneumonidae kleptoparasitoïde qui préfère les hôtes parasités par l'espèce concurrente sympatrique *Orgilus obscurator* (Braconidae) (Juillet, 1960 ; Arthur *et al.*, 1964), et *Pseudorhyssa sternata*, kleptoparasitoïde de *Rhyssa persuasoria* (Ichneumonidae) dans deux des rares cas de kleptoparasitisme étudiés. Juillet (1960) observe que les femelles *T. interruptor* sont attirées et explorent très activement avec l'ovipositeur des pommes de pin sur lesquelles des femelles *O. obscurator* auraient laissé des traces odorantes. Spradbery (1968) décrit les trous forés par *R. persuasoria* comme attractifs et stimulateurs du comportement de sondage par l'ovipositeur des femelles *P. sternata*. Les mécanismes permettant la recherche du multiparasitisme chez ces espèces relativement éloignées phylogénétiquement de *E. vuilleti* sont très semblables.

Les deux phases, aqueuse et hydrophobe, sont actives et induisent chez les femelles *E. vuilleti* la même préférence pour la gélule sur laquelle a été déposé l'extrait. Deux hypothèses peuvent alors être avancées :

① Soit la substance chimique est soluble dans les deux solvants, eau et dichlorométhane, les extraits seraient donc équivalents. En effet, le dichlorométhane et un solvant peu apolaire, et bien que non miscible dans l'eau, certains composés pourraient être solubles dans les deux phases.

② Soit le stimulus reconnu par la femelle *E. vuilleti* est formé de deux parties distinctes, une aqueuse et une hydrophobe, ayant deux actions complémentaires. La plus forte préférence observée lorsque le dépôt est constitué des deux phases tend à privilégier la seconde. Ces résultats corroborent l'hypothèse d'Höller *et al.* (1991) selon laquelle la phéromone de marquage externe intraspécifique, serait composée de deux signaux chimiques

de nature fondamentalement différente, ayant un effet sensiblement différent lorsqu'ils sont séparés, l'un fortement actif mais instable, et l'autre moins actif et persistant. L'effet conjugué de ces deux signaux aurait un effet synergique.

Les tests des extraits aqueux et dans le dichlorométhane de la glande de Dufour et de la glande à venin font apparaître les deux effets décrits dans le paragraphe précédent : un effet sur la préférence de l'hôte, associé principalement à une sécrétion hydrophobe de la glande de Dufour qui s'apparente à une attraction. Cet effet est cependant également décelé pour les extraits de glande à venin dans l'eau et dans le dichlorométhane. Ces résultats concordent en partie avec les observations de Guillot & Vinson (1972). Dans la première étude ayant mentionné le rôle de la glande de Dufour dans la sécrétion de la phéromone de marquage, ils avaient également identifié une seconde substance soluble dans du liquide physiologique, produite par les oviductes latéraux, et ayant également une action sur le comportement des femelles *Campolepis perdistinctus* conspécifiques. Chez cette espèce, la sécrétion de la glande à venin ne semble pas intervenir dans la discrimination intraspécifique.

Le deuxième effet, la stimulation du comportement de ponte, est maximal pour l'extrait de glande à venin dans l'eau, et intermédiaire pour les extraits de glande à venin dans le dichlorométhane et de glande de Dufour dans le dichlorométhane. Ces valeurs intermédiaires, témoignant de la dissociation imparfaite des deux effets pourrait faire intervenir une contamination croisée des extraits lors de la dissection et de la séparation des deux glandes. D'autre part, ces effets sont en fait intimement imbriqués : l'attraction des femelles sur la gélule portant l'extrait augmente la probabilité que l'initiation d'un comportement de ponte s'effectue sur la gélule portant l'extrait. A l'inverse, la stimulation du comportement de ponte augmente le temps de résidence de la femelle sur la gélule et donc son indice de préférence.

Le rôle des hydrocarbures produits par la glande de Dufour dans la discrimination est communément acquis lorsque l'on étudie les phéromones de marquages intraspécifiques (Guillot & Vinson, 1972 ; Mudd *et al.*, 1982 ; Harrison *et al.*, 1985 ; Hubbard *et al.*, 1987). La stimulation de la ponte par la sécrétion de la glande à venin est beaucoup plus original. Cette sécrétion est plus généralement décrite comme un poison injecté par la femelle à l'intérieur de l'hôte jouant un rôle dans la paralysie, la dépression immunitaire ou la mort de l'hôte. Lors de la prospection de la loge d'un hôte parasité, cette sécrétion pourrait être détectée par les chémorécepteurs de l'ovipositeur de la femelle *E. vuilleti*, et associée à la présence d'un œuf ou d'une larve *D. basalis*. Autre hypothèse, après avoir été injectée par l'intermédiaire de l'ovipositeur dans le corps de l'hôte, une petite quantité de cette sécrétion pourrait être

essuyée à l'intérieur de la galerie de forage jusqu'à la surface, lors du retrait de l'ovipositeur. Ce dépôt résiduel pourrait alors être détecté par les chémorécepteurs des antennes, permettrait la localisation précise du point d'insertion de l'ovipositeur de la femelle *D. basalis* et pourrait être impliqué dans la réutilisation de ce trou par la femelle *E. vuilleti* (Spradbery, 1968). La perception de cette substance entraîne une forte excitation de la femelle et pourrait même être impliquée dans le déclenchement du comportement ovicide ou larvicide fréquemment observé chez cette espèce (van Alebeek, 1991 ; Leveque *et al.*, 1993).

La sécrétion de la glande de Dufour et de la cuticule semble présenter la même activité sur le comportement de ponte d'*E. vuilleti*. Ces résultats concordent avec les travaux de Vinson (1978) et Syvertsen *et al.* (1995) sur le comportement d'accouplement chez *Cardiochiles nigriceps*. Chez cette espèce, la glande de Dufour et la cuticule des femelles semblent produire la phéromone sexuelle stimulant la cour des mâles. Ces résultats semblent indiquer que les substances sécrétées au niveau de la cuticule et de la glande de Dufour seraient identiques, comme l'ont montré Howard & Bakker (2003) chez deux espèces de Pteromalidae. L'analyse chimique des deux types d'extraits en chromatographie gazeuse permettra de vérifier cette hypothèse.

L'expérience de frottement de l'abdomen de femelles *D. basalis* à la surface de gélules démontre que la posture de marquage n'est pas nécessaire à la discrimination interspécifique par les femelles *E. vuilleti*. Deux hypothèses peuvent expliquer ce phénomène :

① Soit le frottement de l'abdomen de la femelle *D. basalis* à la surface de la graine lors des différentes phases comportementales associées ou non à la ponte constituerait un indice d'exploitation suffisant à la femelle *E. vuilleti* pour reconnaître et rechercher les hôtes parasités, cet indice n'étant pas un caractère sélectionné pour permettre la discrimination intraspécifique (Seeley, 1998). Cette hypothèse concorde avec les observations effectuées chez le kleptoparasitoïde *T. interruptor*. Chez cette espèce, le simple passage de femelles de l'espèce concurrente *O. obscurator* sur des pommes de pin saines ne contenant pas d'hôte suffit à attirer et à stimuler le comportement de ponte de femelles *T. interruptor* (Juillet, 1960 ; Arthur, 1964). Des traces cuticulaires indépendantes de l'exploitation de l'hôte pourraient ainsi constituer l'indice permettant la discrimination interspécifique.

② Soit la posture de marquage de la femelle *D. basalis* constitue un véritable marquage mais aurait été sélectionné par amplification d'un indice d'exploitation (Hasson *et al.*, 1992). Le marquage des hôtes parasités ne serait constitué que d'un frottement de l'extrémité de l'abdomen de la femelle à la surface de l'hôte ou de la structure végétale, et pas

du dépôt direct d'une sécrétion de la glande de Dufour. Cette dernière hypothèse permet d'expliquer l'existence d'une posture de marquage chez la femelle *D. basalis* et l'absence paradoxale de dépôt, de « goutte » lors de cette posture de marquage.

C- COMPOSITION DES SECRETIONS IMPLIQUEES DANS LA DISCRIMINATION INTERSPECIFIQUE

Nous avons dans ce chapitre tenté de déterminer la composition des sécrétions produites par *D. basalis* et ayant une action sur le comportement des femelles *E. vuilleti*. Ces sécrétions sont au nombre de 3 : la sécrétion de la glande à venin, la sécrétion de la glande de Dufour et les hydrocarbures cuticulaires. La sécrétion de la glande à venin, est réputée essentiellement protéique, et semble avoir un effet stimulant sur le comportement de ponte des femelles *E. vuilleti*. L'analyse chimique de cette sécrétion fait appel à des techniques d'analyse protéique. Les sécrétions cuticulaires et de la glande de Dufour sont lipidiques, elles présentent le même effet attractif sur les femelles *E. vuilleti* et peuvent toutes deux être analysées par Chromatographie Gazeuse. Nous allons donc tout d'abord présenter les résultats concernant la composition de la sécrétion de la glande à venin, puis ceux concernant la composition des sécrétions cuticulaires et de la glande de Dufour. Une comparaison de la composition des sécrétions de ces deux dernières structures sera effectuée.

I- Composition de la sécrétion de la glande à venin de *D. basalis*

La glande à venin de femelles *D. basalis* semble être le site de production d'un facteur stimulant le comportement de ponte des femelles *E. vuilleti*. Ce rôle stimulateur de cette glande n'a jamais été décrit chez les parasitoïdes. La sécrétion de la glande à venin n'est mentionnée comme la source d'une substance pouvant agir sur le comportement de femelles conspécifiques que chez *Ascogaster reticulatus*, un Braconidae endoparasitoïde des œufs et des larves de Lépidoptères (Yamaguchi, 1987) chez qui elle permettrait la reconnaissance des hôtes parasités par une femelle conspécifique. La nature des substances actives chez cette espèce n'a pas été découverte. La glande à venin, ou glande acide, est réputée n'avoir qu'un rôle physiologique et être le site de synthèse de sécrétions venimeuses injectées dans l'hôte au moment de la ponte (Doutt, 1959 ; Vinson & Iwantsch, 1980 ; Stoltz, 1986 ; Doury, 1995). Ce venin a particulièrement bien été étudié chez les endoparasitoïdes, chez qui le parasitisme implique de contrer les systèmes de défense physiologiques sélectionnés par l'hôte. La sécrétion de cette glande est aqueuse, et contient des substances protéiques. Les molécules toxiques impliquées sont souvent de petits peptides (Godfray, 1994), bien que chez certaines espèces, il puisse s'agir de plusieurs protéines de poids moléculaire élevé (Piek & Spanjer,

1986 ; Quistad *et al.*, 1994). La glande à venin peut contenir des protéines jusqu'à plus de 130 kDa et fortement glycosylées chez *Chelonus* sp. *Near curvimaculatus* (Piek & Spanjer, 1986). Nous avons étudié la fraction protéique de la sécrétion de la glande à venin de femelles *D. basalis*. Si la détermination d'une protéine active et son séquençage paraît illusoire, nous avons tenté, en collaboration avec Corinne Labrosse (IRBI, Tours), de caractériser précisément les protéines produites par la glande à venin de femelles *D. basalis* ayant une activité stimulatrice du comportement de ponte de la femelle *E. vuilleti*.

1- Analyse de la fraction protéique de la sécrétion de la glande à venin

Cette analyse consistait en un test colorimétrique de Bradford pour évaluer la quantité de protéines contenue dans la sécrétion de la glande à venin, suivi d'une électrophorèse en conditions dénaturantes pour estimer le poids moléculaire des protéines majoritaires présentes.

1-1 Procédure expérimentale

1-1-1 Préparation de l'extrait de glande à venin

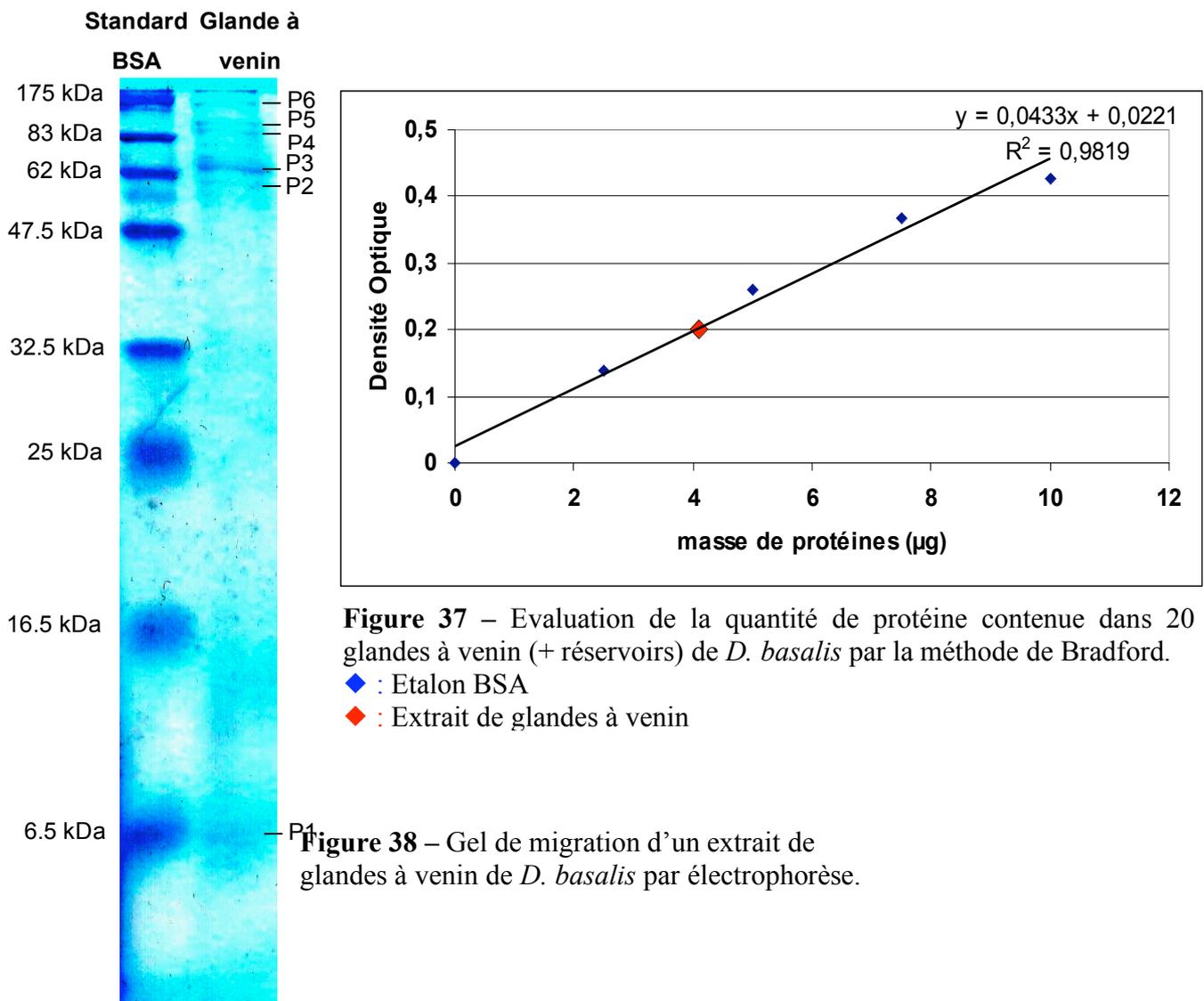
40 femelles *D. basalis* émergentes sont isolées dans des boîtes de Pétri sans hôte, avec un coton imbibé d'eau sucrée et quelques mâles durant 3 jours. Le quatrième jour, ces femelles sont sacrifiées et l'abdomen est disséqué dans du liquide physiologique (0,9 % NaCl). La glande à venin et le réservoir de chacune des femelles sont délicatement isolés et dilacérés dans un tube Eppendorf contenant 200 µl de liquide physiologique. L'extrait total est alors centrifugé à 12000 g pendant 10 minutes pour précipiter les débris cellulaires. Le surnageant est récupéré et séparé en deux nouveaux extraits utilisés l'un pour le test colorimétrique et l'autre lors de l'électrophorèse.

1-1-2 Test colorimétrique de Bradford

La quantité de protéines de l'extrait est déterminée par colorimétrie par la méthode standard de Bradford (1976) : Une gamme étalon est réalisée en mesurant la densité optique (DO) à 595 nm de solution d'albumine de sérum bovin (BSA) à différentes concentrations connues et une goutte bleu de Coomassie G 250. La comparaison de la DO obtenue pour l'échantillon avec la gamme étalon nous permet de déterminer sa concentration en protéine, et par extrapolation d'évaluer approximativement la quantité de matériel protéique contenue à l'intérieur de la glande à venin et de son réservoir.

1-1-3 Electrophorèse

15 µl d'extrait de glande à venin sont dilués dans un tampon dénaturant (0.125 M Tris-HCl, 12% [v/v] glycerol, 0.005% [w/v] bleu de bromophénol, 6% [w/v] Sodium Dodecyl Sulfate (SDS), 12% [v/v] 2-mercaptoethanol, pH 6.8). L'échantillon est alors déposé dans un puit du gel de concentration, puis séparé sur gel SDS-PAGE (8 % polyacrylamide) sous 150 V. Après migration, le gel est fixé (45% éthanol, 10% acide acétique) pendant 2 heures puis teinté pendant 30 minutes dans la solution de fixation contenant 0.2 [w/v] de bleu de Coomassie G 250 et enfin révélé par plusieurs bains de solution aqueuse (25% éthanol, 7% acide acétique). Un standard utilisant l'albumine de sérum bovin (BSA) a été utilisé pour déterminer le poids moléculaire des différentes bandes protéiques éventuelles.



1-2 Résultats

Le test colorimétrique de Bradford (Fig. 37) nous a permis d'estimer la quantité de protéine à environ 4 µg dans l'extrait correspondant à 20 glandes, soit 0,2 µg de protéine/glande.

Bien que la faible quantité de protéines contenue dans la glande et son réservoir ne permette pas une révélation précise, l'électrophorèse de l'extrait de glande à venin en conditions dénaturantes nous a permis d'identifier 6 bandes (Fig. 38). Elles correspondent à des protéines majoritaires dont le poids moléculaire a été évalué à 6,5 kDa (P1), 70 kDa (P2), 77 kDa (P3), 89 kDa (P4), 92 kDa (P5) et 100 kDa (P6). La protéine P3, correspondant à la bande la plus intense semble être en concentration plus importante. Ce profil protéique semble cohérent avec les travaux portant sur le venin de l'espèce la plus étudiée, *Bracon hebetor*, tant au niveau du nombre de protéines que de la gamme de poids moléculaire considérée (Piek & Spanjer, 1986 ; Quistad *et al.*, 1994).

2- Sensibilité de l'activité de la sécrétion de la glande à venin à la Protéinase-K

Ce test a été réalisé dans le but de prouver que l'activité stimulatrice du comportement de ponte d'*E. vuilleti* de la sécrétion de la glande à venin de *D. basalis* est due à la fraction protéique de cette sécrétion.

2-1 Procédure expérimentale

Un nouvel extrait est réalisé avec les glandes à venin et les réservoirs de 40 femelles. Ces glandes sont dilacérées dans un Eppendorf contenant 250 µl de Ringer. Après centrifugation, cet extrait est divisé en deux, 100 µl de surnageant sont prélevés et déposés dans deux Eppendorfs. On ajoute alors dans l'un des Eppendorfs l'équivalent de 10 µg de Protéinase-K, le second servant de témoin. Les deux extraits sont alors mis à incuber au bain-marie à 37°C durant 4 heures.

Deux tests biologiques sont alors réalisés en présentant à des femelles *E. vuilleti* le choix entre deux gélules :

Expérience 1 : 60 femelles *E. vuilleti* sont soumises à un test biologique présentant un choix entre une gélule vide sur laquelle a été déposé 5 µl d'extrait de glande à venin traité à la protéinase K et une gélule vide sur laquelle a été déposé 5µl de Ringer.

Expérience 2 : 60 femelles *E. vuilleti* sont soumises à un test biologique présentant un choix entre une gélule vide sur laquelle a été déposé 5 µl d'extrait de glande à venin non traité et une gélule vide sur laquelle a été déposé 5µl de Ringer.

Les comportements de ponte initiés, c'est à dire le nombre de replis de l'abdomen au-dessus du dépôt, ont été enregistrés pour chacune des femelles testées.

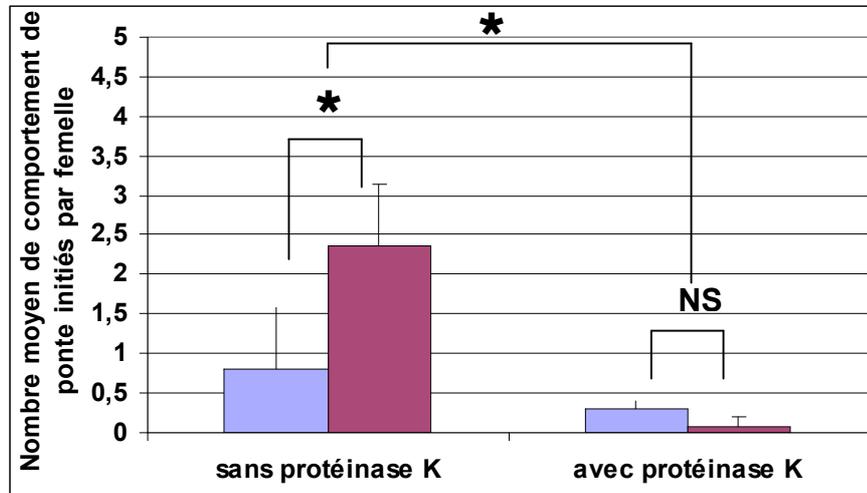


Figure 39 – Nombre de comportements de ponte (+ s.e.m.) initiés par femelle *E. vuilleti* sur la gélule vide propre (■) et sur la gélule vide portant l'extrait de glandes à venin de *D. basalis* (■) avant ou après traitement à la protéinase-K.

* : Significativement différent ($\chi^2_{\text{obs}} > \chi^2_{\text{critique}}$; 1 ddl, $\alpha = 0,05$).

2-2 Résultats (Fig. 39)

Le traitement à la protéinase-K de l'extrait de glande à venin semble lui faire perdre toute activité stimulatrice sur le comportement de ponte des femelles *E. vuilleti*. Ainsi le nombre de comportements de ponte total initiés quelle que soit la gélule est significativement plus important pour l'expérience 2 où l'extrait n'est pas traité (190 piqûres observées) que pour l'expérience 1 où l'extrait testé a été traité à la protéinase-K (23 piqûres) ($\chi^2_{\text{obs}} = 77,35 > \chi^2_{\text{critique}} = 3,84$; 1 ddl, $\alpha = 0,05$). De plus, dans l'expérience 2, ces piqûres sont significativement plus nombreuses sur la gélule portant l'extrait de glande à venin non traité que sur la gélule où a été déposé une goutte de Ringer ($\chi^2_{\text{obs}} = 24,77 > \chi^2_{\text{critique}} = 3,84$; 1 ddl, $\alpha = 0,05$). Dans l'expérience 1, les femelles *E. vuilleti* ont initié significativement plus de comportements de ponte sur la gélule sur laquelle a été déposé 5 μ l de Ringer ($\chi^2_{\text{obs}} = 3,99 < \chi^2_{\text{critique}} = 3,84$; 1 ddl, $\alpha = 0,05$).

3- Discussion

Ces expériences confirment l'activité de synthèse protéique de la glande à venin. La quantité de protéines totales contenue dans la glande et son réservoir a été évaluée à 0,2 μ g.

Au regard des volumes respectifs du réservoir et de la lumière de la glande, cette quantité représente essentiellement le matériel protéique contenu à l'intérieur du réservoir. Cette quantité est faible en comparaison des 8,7 µg de protéines totales contenus en moyenne dans le réservoir de la glande à venin des femelles *Eupelmus orientalis*, une espèce proche et légèrement plus grosse que *E. vuilleti* (Doury, 1995). Outre la taille différente entre les espèces *D. basalis* et *E. orientalis*, cette différence pourrait s'expliquer par le fait que chez *D. basalis*, contrairement aux observations effectuées chez *E. orientalis* (Doury, 1995) et *E. vuilleti* (Cortesero, 1994), la femelle ne pique l'hôte que très rarement (Gauthier, 1996). La sécrétion produite par la glande à venin de cette espèce ne serait pas injectée dans l'hôte, et n'aurait pas de rôle paralysant. La production massive de protéines venimeuses ne serait donc pas nécessaire chez cette espèce.

La sécrétion de la glande à venin de la femelle *D. basalis* est constituée d'un ensemble de protéines de poids moléculaires importants, de 6,5 à 100 kDa, dont une protéine P3 de 77 kDa apparemment en plus forte concentration. Ce profil protéique semble cohérent, tant au niveau du nombre de protéines que de la gamme de poids moléculaire considérée, avec les travaux portant sur le venin de l'espèce la plus étudiée, *Bracon hebetor* (Piek & Spanjer, 1986 ; Quistad *et al.*, 1994) ou d'autres espèces d'hyménoptères parasitoïdes (Leluk *et al.*, 1989 ; Gnatzy & Volkandt, 2000) chez lesquelles cette sécrétion est injectée dans l'hôte.

L'activité de la sécrétion de la glande à venin est sensible au traitement à la protéinase K, donc un polypeptide ou un mélange de différents polypeptides de cette sécrétion serait la molécule active. De nombreuses expériences complémentaires ont été tentées pour déterminer quelle protéine parmi les 6 identifiées était la substance active. Des électrophorèses en gel natif ont été réalisées, suivies du découpage du gel en bandes correspondantes aux différentes protéines identifiées. Ces morceaux de gel de migration ont été déposés sur des gélules vides et présentées à des femelles *E. vuilleti*, mais aucune ne semblait induire de comportement de ponte. Au contraire, le gel de polyacrylamide semblait répulsif. D'autres électrophorèses ont été réalisées, suivies du découpage puis de l'élution et du test biologique séparé de chacun des extraits ainsi récoltés, mais elles n'ont donné aucun résultat. Prises séparément, ni la protéine P3 ni aucune des protéines majoritaires identifiées ne semblent avoir d'effet stimulateur du comportement de ponte d'*E. vuilleti*. Les différents solvants utilisés lors de l'électrophorèse peuvent cependant être répulsifs pour la femelle ou avoir dénaturé les molécules actives. La femelle *E. vuilleti* peut également reconnaître une protéine ou un peptide minoritaire ou un ensemble de protéines dans des proportions définies.

II- Composition des sécrétions de la cuticule et de la glande de Dufour de *D. basalis*

La glande de Dufour chez les hyménoptères contient un large spectre de composés chimiques qui ont été impliqués dans un grand nombre de fonctions physiologiques et sémiouchimiques (Blum, 1985 ; Ali & Morgan, 1990). Les sécrétions de la glande de Dufour ont été bien étudiées chez de nombreuses espèces de fourmis, abeilles et guêpes supérieures (Billen & Morgan, 1998), notamment pour leur intervention dans la communication et la cohésion des colonies. Beaucoup plus rares sont les études portant sur les sécrétions de cette glande chez les hyménoptères parasitoïdes (Jervis & Kidd, 1996 ; Quicke, 1997). La glande de Dufour renferme une sécrétion huileuse composée essentiellement d'hydrocarbures (Guillot *et al.*, 1974) pouvant servir de phéromone de marquage intraspécifique (Vinson & Guillot, 1972) ou de phéromone sexuelle (Syvertsen *et al.*, 1995). L'identification des hydrocarbures contenus dans la glande de Dufour n'a été réalisée que chez 6 hyménoptères parasitoïdes, un Ichneumonidae, *Venturia canescens* (Mudd *et al.*, 1982 ; Marris *et al.*, 1996), un Braconidae, *Cardiochiles nigriceps* (Syvertsen *et al.*, 1995), deux Bethyilidae, *Cephalonomia tarsalis* et *C. waterstoni*, et deux Pteromalidae, *Anisopteromalus calandrae* et *Pteromalus cerealellae* (Howard & Bakker, 2003). Il semble qu'il existe une grande diversité dans la composition de cette sécrétion en fonction de la famille considérée, tant au niveau du nombre et du type d'hydrocarbure, que de la gamme de nombre de carbones. Chez les deux dernières espèces citées, proches phylogénétiquement de *D. basalis*, la sécrétion de la glande de Dufour contient un mélange d'hydrocarbures saturés à longues chaînes (de C₂₇ jusqu'à C₃₈) presque identiques dans leur nature et leur proportion à ceux retrouvés sur la cuticule.

Nous avons dans ce chapitre tenté d'identifier les différents hydrocarbures contenus dans la glande de Dufour et sur la cuticule des femelles *D. basalis*. Ces analyses chimiques ont été réalisées en GC-MS (Chromatographe phase Gazeuse couplé à un Spectromètre de Masse), en collaboration avec Christine Errard (IRBI, Tours), Nathalie Mondy (IRBI, Tours) pour l'extraction et l'obtention des chromatogrammes et Abraham Hefetz (Department of Zoology, Tel Aviv University, Israel) pour l'analyse des spectrogrammes et l'identification des composés. Nous avons ensuite déterminé les similarités et les différences au niveau de la

composition des sécrétions de la glande de Dufour et de la cuticule. L'origine de cette similarité est discutée.

1-Procédure expérimentale

1-1 Obtention des femelles *D. basalis* pour les extraits

Dans le but de supprimer les contaminations possibles issues de la plante *V. unguiculata* ou de l'hôte *C. maculatus*, les femelles *D. basalis* utilisées pour les extraits cuticulaires et de glandes de Dufour ont subi un développement larvaire dans des gélules contenant un hôte, puis, à partir du stade nymphal, dans des gélules sans hôte :

120 femelles *D. basalis* accouplées, expérimentées à la ponte sur gélule et âgées de 4 jours, ont été réparties en 6 lots de 20 femelles dans 6 boîtes de Pétri en plastique avec, dans chaque boîte, un coton imbibé d'eau sucrée et cinquante gélules contenant une nymphe de *C. maculatus*. Ces boîtes ont été placées dans une étuve, dans les conditions d'élevage pendant 24 heures. La présence d'un œuf était vérifiée par transparence sous loupe binoculaire et seules les gélules contenant un œuf de *D. basalis* étaient conservées. Ces boîtes ont été ensuite placées dans l'étuve d'élevage des parasitoïdes pendant 15 jours, durée suffisante pour l'accomplissement du développement larvaire de la majorité des pontes. Les gélules étaient alors ouvertes, et les nymphes de *D. basalis* prélevées et débarrassées de la poussière de graine et des fèces de l'hôte. Les nymphes de *D. basalis* étaient alors placées dans de nouvelles gélules propres sans hôte, formées d'un socle et d'un capot neuf ménageant une loge. La loge était comblée par une boule de coton empêchant tout mouvement potentiel ultérieur de l'imago. Ces gélules étaient placées dans l'étuve 24 heures. Après la mue imaginale, les adultes n'ont donc eu aucun contact physique direct ni avec *V. unguiculata*, ni avec *C. maculatus* et ne peuvent se toiletter avant l'ouverture des gélules.

1-2 Dissection et collecte des extraits

Les gélules sont alors surveillées pour observer la mue imaginale. 5 lots de 10 femelles sont alors réalisés : Pour les lots 1, 2, 3 et 4, les gélules sont ouvertes dès la métamorphose. Les extraits de cuticules et de glandes de Dufour sont alors réalisés immédiatement (Cut0, Duf0), 1 heure (Cut1, Duf1), 24 heures (Cut24, Duf24) et 72 heures (Cut72, Duf72) après la mue imaginale. Pour le lot 5, l'heure de la mue imaginale est notée et la femelle reste immobilisée dans la gélule jusqu'à son ouverture, 72 heures plus tard.

Immédiatement après l'ouverture des gélules, les extraits Cut72bloc et Duf72bloc sont réalisés.

La partie du corps de la femelle à utiliser pour effectuer les extraits cuticulaires pose problème. En effet, pour éviter toute contamination ou relargage de la glande de Dufour sur la cuticule, la dissection puis l'extraction des thorax isolés semble appropriée. Cependant, la dissection des femelles pour isoler les thorax entraîne la contamination des extraits par du corps gras ou des fluides corporels, comme l'hémolymphe ou le contenu du tube digestif. Des expériences préliminaires ont montré que les profils en hydrocarbures cuticulaires étaient identiques que les extraits soient réalisés à partir de thorax uniquement ou de femelles entières plongées dans le pentane. Oldham *et al.* (1994) ont démontré chez les bourdons que les hydrocarbures cuticulaires étaient identiques quelle que soit la partie du corps de l'animal utilisée pour réaliser l'extrait. Nous avons donc effectué des extraits cuticulaires en plongeant les femelles entières dans le pentane. Ce solvant est bien adapté à l'analyse d'hydrocarbures en chromatographie gazeuse. Pour chaque lot, les extraits ont été obtenus en plongeant 10 femelles vivantes dans 100 µl de pentane (GC grade, 99%) pendant 10 secondes. Les parasitoïdes meurent instantanément. L'extrait est homogénéisé au Vortex pendant quelques secondes. Les femelles sont alors retirées et disséquées. La dissection est réalisée dans du liquide physiologique (0,9 % NaCl). L'abdomen est séparé du thorax, les tergites retirés et la plaque sous génitale isolée. Après s'être débarrassé du corps gras, du tube digestif et des ovaires, la glande de Dufour est prélevée et dilacérée dans 50 µl de pentane. Chaque extrait est réalisé avec les glandes de Dufour des 10 femelles utilisées pour l'extrait cuticulaire correspondant.

1-3 Analyses chimiques

Les analyses chimiques ont été réalisées en GC-MS grâce à un appareil Perkin-Elmer Turbomass system de paillasse. Le chromatographe est équipé d'un injecteur en mode split-splitless. La colonne capillaire BP 1,25×0,32 mm ID distribuée par SGE est recouverte d'une phase de polydiméthylsiloxane de 0,5 µm d'épaisseur. La température du port d'injection était de 200°C et le gaz vecteur utilisé était de l'hélium (99,99%). Le gradient de température dans la colonne était le suivant :

50°C $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 280°C (10 min).

Les chromatogrammes en courant ionique total (TIC) et les spectres de masse ont été enregistrés en mode ionisation d'impact électronique à 70 eV. L'interface et la température de source étaient maintenues à 150 °C. Les différents hydrocarbures ont été identifiés par comparaison de leur temps de rétentions avec une gamme d'hydrocarbures standards connus (C₁₅ à C₃₃) injectés dans les mêmes conditions (Howard *et al.*, 1978), ainsi que l'analyse des spectres de masse, basée sur leurs caractéristiques de fragmentation EI-MS.

La composition des sécrétions cuticulaires et de la glande de Dufour ont été comparées par une analyse multivariée sous Xlstat v. 6.1.9 pour déterminer la similarité des profils chimiques à différents âges.

2- Résultats

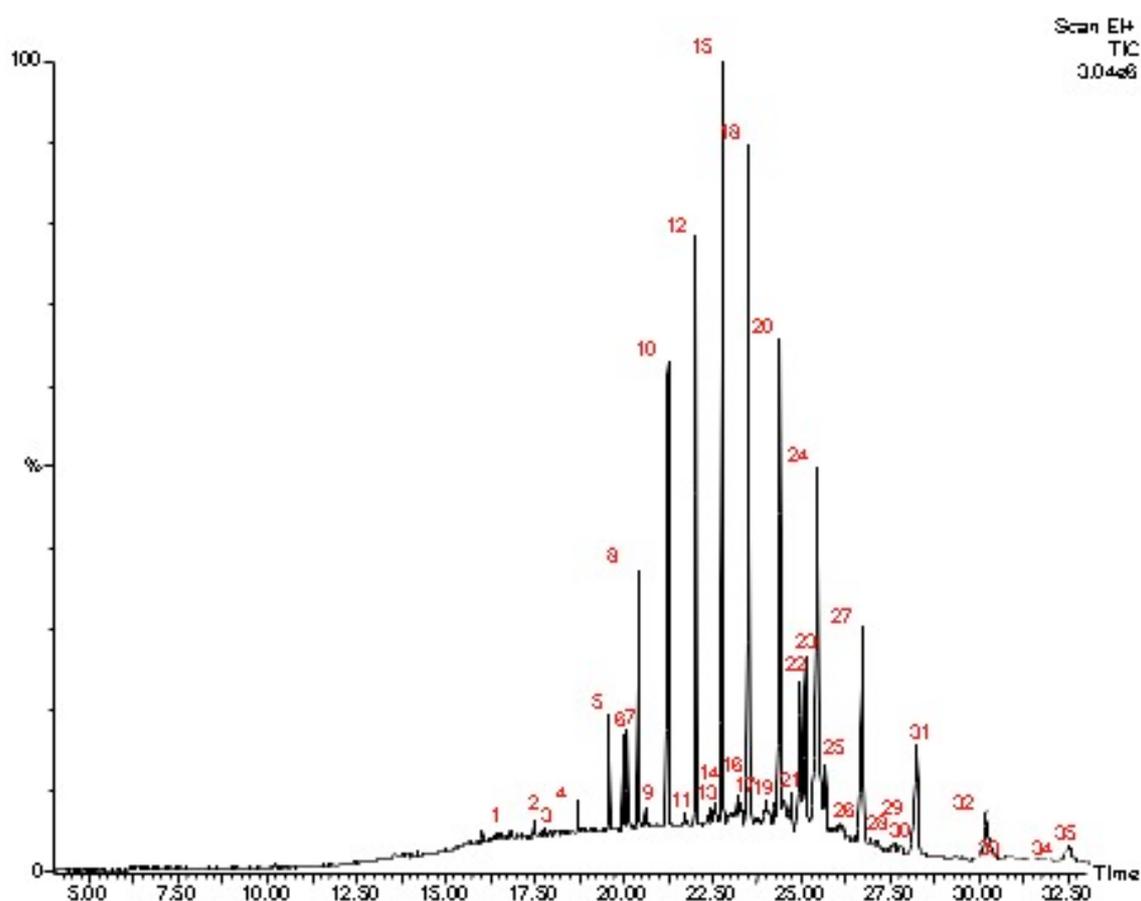


Figure 40 – Chromatogramme phase gazeuse d'un extrait de glande de Dufour (Duf72) de *D. basalis*.

Tableau 1 : Identification des hydrocarbures contenus dans la glande de Dufour de *D. basalis*

Pic N°	RT	Formule	CN	Pourcentage moyen (N=5)	±	S. D.	Composé
1	16,05	non identifié	-	1,09	±	0,65	-
2	17,51	non identifié	-	1,90	±	1,42	-
3	17,82	C ₂₁ H ₄₄	21	1,28	±	0,93	Hénicosane
4	18,73	C ₂₂ H ₄₆	22	2,39	±	1,22	Docosane
5	19,61	C ₂₃ H ₄₈	23	4,74	±	2,83	Tricosane
6	20,02	non identifié	-	2,68	±	1,84	contaminant
7	20,14	non identifié	-	3,10	±	1,65	contaminant isomère du 6
8	20,45	C ₂₄ H ₅₀	24	6,66	±	3,01	Tetracosane
9	20,63	non identifié	-	0,65	±	0,49	identique 6, 7
10	21,25	C ₂₅ H ₅₂	25	9,58	±	1,70	Pentacosane
11	21,73	2-CH ₃ C ₂₅ H ₅₁	26	0,43	±	0,24	2-méthylpentacosane
12	22,02	C ₂₆ H ₅₄	26	8,82	±	1,10	Hexacosane
13	22,42	10-+12-CH ₃ C ₂₆ H ₅₃	27	0,25	±	0,20	10-+12-méthylhexacosane
14	22,57	C ₁₅ H ₃₁ -COO-C ₁₀ H ₂₁	26	0,96	±	0,20	decylpalmitate
15	22,77	C ₂₇ H ₅₆	27	9,79	±	3,38	Heptacosane
16	23,18	3,9-(CH ₃) ₂ C ₂₇ H ₅₄	29	0,48	±	0,17	3,9-diméthylheptacosane
17	23,28	3-CH ₃ C ₂₇ H ₅₅	28	0,56	±	0,30	3-méthylheptacosane
18	23,51	C ₂₈ H ₅₈	28	8,05	±	3,20	Octacosane
19	24,06	non identifié	-	0,53	±	0,10	-
20	24,39	C ₂₉ H ₆₀	29	7,07	±	3,77	Nonacosane
21	24,72	ester non identifié	-	0,96	±	0,64	-
22	24,97	non identifié	-	4,50	±	1,89	contaminant
23	25,15	non identifié	-	4,46	±	1,63	contaminant isomère du 22
24	25,45	C ₃₀ H ₆₂	30	7,64	±	3,38	Triacontane
25	25,64	ester non identifié	-	1,29	±	0,64	Insaturé du 21
26	26,12	non identifié	-	0,48	±	0,04	-
27	26,70	C ₃₁ H ₆₄	31	3,95	±	2,23	Hentriacontane
28	27,08	11-+13-+15-CH ₃ C ₃₁ H ₆₃	32	0,13	±	0,09	11-+13-+15-méthylhentriacontane
29	27,59	9,13-(CH ₃) ₂ C ₃₁ H ₆₂	33	0,27	±	0,13	9,13-diméthylhentriacontane
30	27,76	3-CH ₃ C ₃₁ H ₆₃	32	0,19	±	0,04	3-méthylhentriacontane
31	28,23	C ₃₂ H ₆₆	32	2,90	±	1,58	Dotriacontane
32	30,24	C ₃₃ H ₆₈	33	1,20	±	0,98	Tritriacontane
33	30,75	11-+13-+15-+17-CH ₃ C ₃₃ H ₆₇	34	0,16	±	0,06	11-+13-+15-+17-méthyltritriacontane
34	31,46	11,15-+13,17-(CH ₃) ₂ C ₃₃ H ₆₆	35	0,09	±	0,03	11,15-+13,17-diméthyltritriacontane
35	32,39	C ₃₄ H ₇₀	34	0,76	±	0,38	Tetratriacontane

2-1 Composition chimique de la sécrétion de la glande de Dufour (Fig. 40, Tab. 1)

La sécrétion de la glande de Dufour de *D. basalis* est composée d'hydrocarbures saturés, linéaires, branchés (mono ou diméthyl) et de trois esters minoritaires (3% du total) dont le décylpalmitate. Aucun hydrocarbure insaturé n'a été détecté, tout comme chez les deux Pteromalidae dont la composition de la glande de Dufour est connue, *A. calandrae* et *P. cerealellae* (Howard & Bakker, 2003). La gamme de nombre de carbones s'étend du C₂₁ au C₃₅ et consiste en un mélange de n-alkanes (C₂₁ à C₃₄) très majoritaires, entrant pour 74% en moyenne dans la composition de la sécrétion de la glande de Dufour, de méthyl alcanes (2 %

du total) en position 2-, 3-, 10-, 11-, 12-, 13-, 15- et 17-, et de diméthyl alcanes (1%) en position 3,9-, 9,13-, 10,12-, 11,15- et 13,17-.

La présence massive d'alcane pairs dans les mêmes proportions que les alcanes impairs est assez inhabituelle. Chez toutes les espèces d'hyménoptères parasitoïdes chez lesquelles la composition de cette sécrétion a été étudiée, les hydrocarbures impairs sont les seuls présents (Mudd *et al.*, 1982 ; Marris *et al.*, 1996) ou ultra majoritaires (Syvertsen *et al.*, 1995 ; Howard & Bakker, 2003).

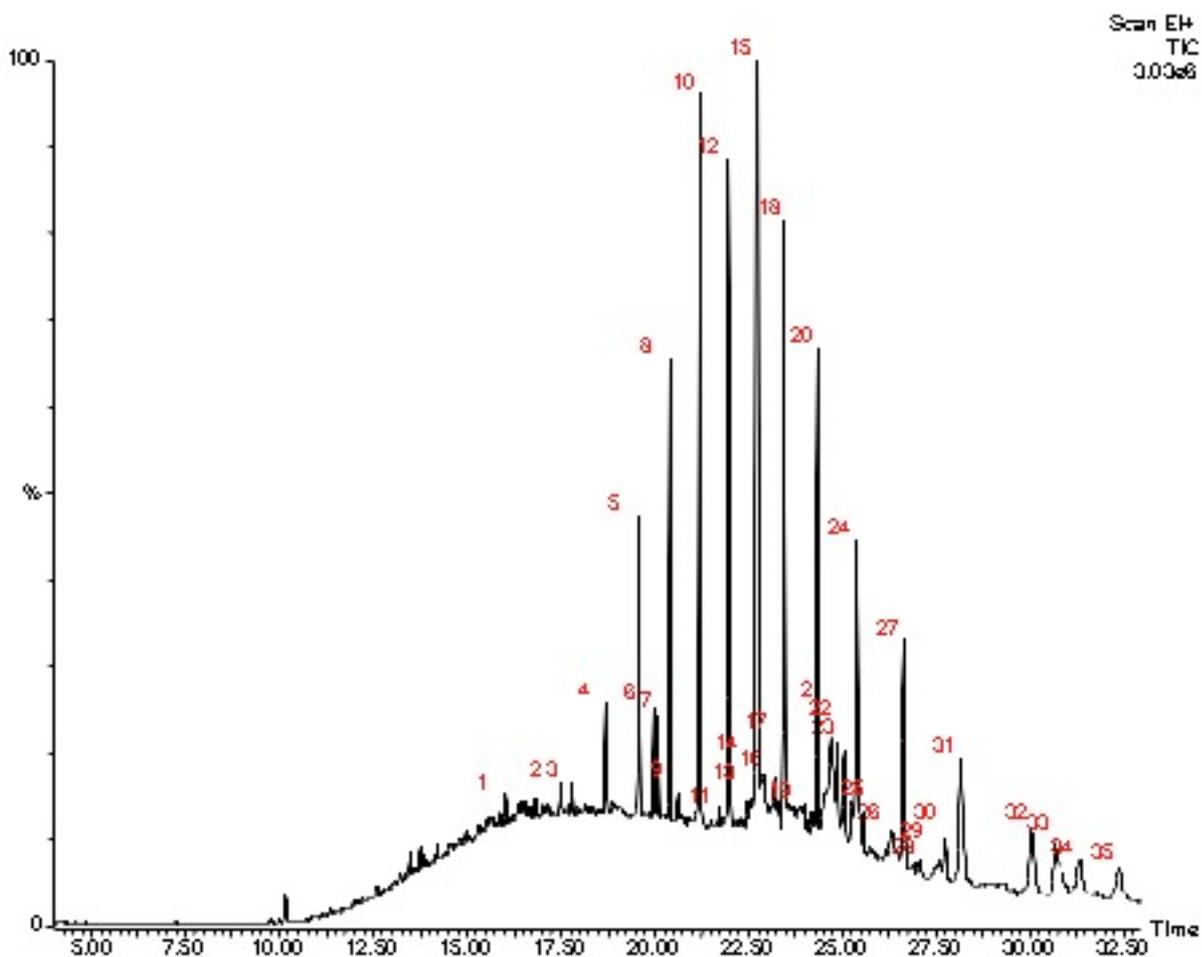


Figure 41 – Chromatogramme phase gazeuse d'un extrait cuticulaire (Cut72) de femelles *D. basalis*.

2-2 Composition chimique de la sécrétion cuticulaire (Fig. 41, Tab. 2)

Les chromatogrammes correspondant aux extraits cuticulaires sont semblables à ceux obtenus avec les extraits de la glande de Dufour. Tous les composés présents dans la sécrétion de la glande de Dufour sont communs aux deux structures, et aucun n'a pu être identifié comme une caractéristique exclusive de la cuticule ou de la glande de Dufour. Seules les différences quantitatives exprimées en proportions relatives de chaque type de composé varient légèrement. Les esters entrent pour 3% dans la composition totale, les n-alcanes constituent 73%, les monométhyl alcanes 8%, et les diméthyl alcanes 3% de la composition totale de la sécrétion cuticulaire. A partir du C₂₇, la plupart des n-alcanes, méthyl alcanes et diméthyl alcanes identifiés dans la sécrétion de la cuticule de la femelle *D. basalis* sont présents dans la sécrétion de la cuticule de *Pteromalus cerealellae* (Howard, 2001). Il existe cependant quelques différences importantes entre ces deux Pteromalidae : chez *D. basalis*, le profil cuticulaire est plus étendu, et comporte des alcanes plus légers, de C₂₁ à C₃₄, que celui de *P. cerealellae* qui s'étend de C₂₇ à C₃₅. La composition de la sécrétion de *P. cerealellae* semble également plus complexe, avec des groupements mono et diméthyl pouvant prendre de nombreuses positions sur la molécule. Chez cette espèce, il a également été détecté un triméthylalcane (3,7,11-triméthyltriacontane), qui n'a pas été détecté dans la sécrétion cuticulaire des femelles *D. basalis*.

Tableau 2 : Identification des hydrocarbures cuticulaires des femelles *D. basalis*.

Pic N°	RT	Formule	CN	Pourcentage moyen (N=5)	± S. D.	Composé
1	16,05	non identifié	-	0,89	± 0,43	-
2	17,50	non identifié	-	1,26	± 0,68	-
3	17,80	C ₂₁ H ₄₄	21	0,94	± 0,52	Hénicosane
4	18,71	C ₂₂ H ₄₆	22	1,73	± 0,55	Docosane
5	19,58	C ₂₃ H ₄₈	23	4,34	± 1,25	Tricosane
6	19,99	non identifié	-	1,59	± 0,36	contaminant
7	20,11	non identifié	-	1,55	± 0,33	contaminant isomère du 6
8	20,42	C ₂₄ H ₅₀	24	5,85	± 1,20	Tetracosane
9	20,61	non identifié	-	0,45	± 0,11	identique 6, 7
10	21,22	C ₂₅ H ₅₂	25	8,11	± 0,90	Pentacosane
11	21,71	2-CH ₃ C ₂₅ H ₅₁	26	0,37	± 0,23	2-méthylpentacosane
12	21,99	C ₂₆ H ₅₄	26	7,40	± 1,03	Hexacosane
13	22,46	10-+12-CH ₃ C ₂₆ H ₅₃	27	0,33	± 0,10	10-+12-méthylhexacosane
14	22,55	C ₁₅ H ₃₁ -COO-C ₁₀ H ₂₁	26	0,53	± 0,16	decylpalmitate
15	22,74	C ₂₇ H ₅₆	27	8,99	± 1,16	Heptacosane
16	23,19	3,9-(CH ₃) ₂ C ₂₇ H ₅₄	29	0,39	± 0,22	3,9-diméthylheptacosane
17	23,27	3-CH ₃ C ₂₇ H ₅₅	28	1,38	± 1,00	3-méthylheptacosane
18	23,48	C ₂₈ H ₅₈	28	7,46	± 1,21	Octacosane
19	24,10	non identifié	-	0,24	± 0,09	-
20	24,36	C ₂₉ H ₆₀	29	7,85	± 0,80	Nonacosane
21	24,70	ester non identifié	-	1,84	± 0,69	-
22	24,91	non identifié	-	2,36	± 0,77	contaminant
23	25,08	non identifié	-	3,14	± 0,87	contaminant isomère du 22
24	25,40	C ₃₀ H ₆₂	30	6,58	± 1,30	Triacontane
25	25,61	ester non identifié	-	0,88	± 0,20	Insaturé du 21
26	26,15	non identifié	-	0,46	± 0,48	-
27	26,66	C ₃₁ H ₆₄	31	5,50	± 0,65	Hentriacontane
28	27,08	11-+13-+15-CH ₃ C ₃₁ H ₆₃	32	1,40	± 1,47	11-+13-+15-méthylhentriacontane
29	27,58	9,13-(CH ₃) ₂ C ₃₁ H ₆₂	33	0,48	± 0,34	9,13-diméthylhentriacontane
30	27,77	3-CH ₃ C ₃₁ H ₆₃	32	1,36	± 0,59	3-méthylhentriacontane
31	28,20	C ₃₂ H ₆₆	32	4,02	± 0,78	Dotriacontane
32	30,07	C ₃₃ H ₆₈	33	2,87	± 0,32	Tritriacontane
33	30,71	11-+13-+15-+17-CH ₃ C ₃₃ H ₆₇	34	3,32	± 1,66	11-+13-+15-+17-méthyltritriacontane
34	31,33	11,15-+13,17-(CH ₃) ₂ C ₃₃ H ₆₆	35	2,41	± 1,30	11,15-+13,17-diméthyltritriacontane
35	32,38	C ₃₄ H ₇₀	34	1,74	± 0,22	Tettriacontane

2-3 Etude de la similarité de la composition des sécrétions de la glande de Dufour et de la cuticule

Une analyse en composante principale (ACP) des extraits de glande de Dufour (Duf0, Duf1, Duf24, Duf72 et Duf72bloc) et de cuticules (Cut0, Cut1, Cut24, Cut72, Cut72bloc) réalisée avec les proportions relatives de chacun des composés, permet de regrouper les extraits en deux groupes : les extraits de glande de Dufour et ceux de la cuticule (Fig. 42). Ces résultats sont confirmés par une analyse factorielle discriminante (AFD), les barycentres des groupes Dufour et Cuticule sont significativement différents (test du Lambda de Wilks ; P-

value < 0,001). Une classification ascendante hiérarchique (CAH) basée sur la distance euclidienne nous montre cependant que la ségrégation Cuticule-glande de Dufour n'est pas totale (Fig. 43). Les extraits de glande de Dufour 24 et 72 heures après l'émergence sont plus proches des extraits cuticulaires que des extraits de glandes de Dufour immédiatement et 1 heure après l'émergence. L'âge auquel est réalisé l'extrait ne semble cependant pas intervenir de façon significative dans la similarité ou la différence de la composition de la sécrétion de la glande de Dufour et de la cuticule. L'immobilisation des femelles à l'intérieur des gélules ne modifie pas non plus le profil général en hydrocarbures, ni dans la glande de Dufour, ni sur la cuticule.

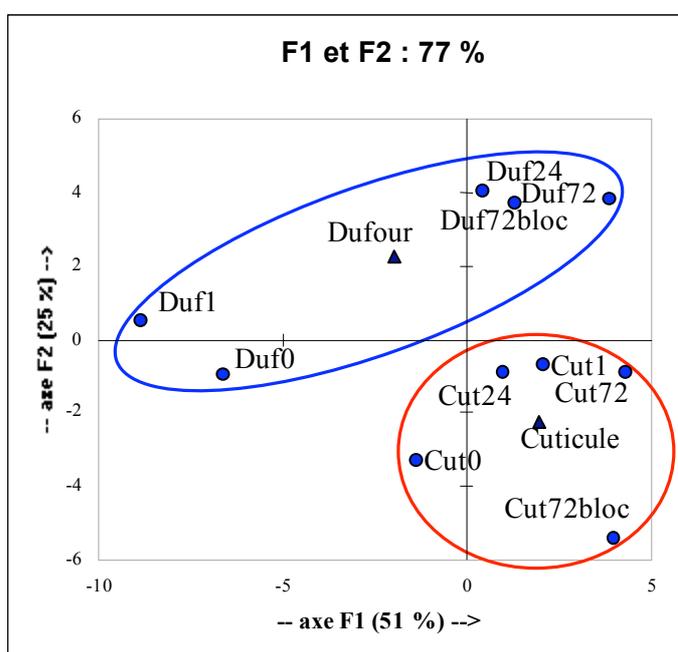


Figure 42 – Analyse en composante principale des proportions relatives de chacun des composés présents dans les sécrétions cuticulaires et de glandes de Dufour de *D. basalis*.

Les triangles représentent les barycentres des groupes Dufour et Cuticule.

Nous avons ensuite déterminé quels composés étaient impliqués dans la ségrégation entre les extraits cuticulaires et de glande de Dufour (Fig. 44). Les extraits de glande de Dufour sont caractérisés par une abondance relative significativement plus importante des composés correspondant aux pics 7 (non identifié), 14 (décylpalmitate) et 19 (non identifié) (MW ; P-value <0,05). Les extraits cuticulaires sont caractérisés quand à eux par une abondance relative significativement plus importante du composé 17 (3-méthylheptacosane) et surtout des alcanes les plus lourds, les composés 28 (11-+13-+15-méthylhentriacontane), et

de 30 à 35 (3-méthylhentriacontane, Dotriacontane, Tritriacontane, 11-+13-+15-+17-méthyltritriacontane, 11,15-+13,17-diméthyltritriacontane et Tetratriacontane).

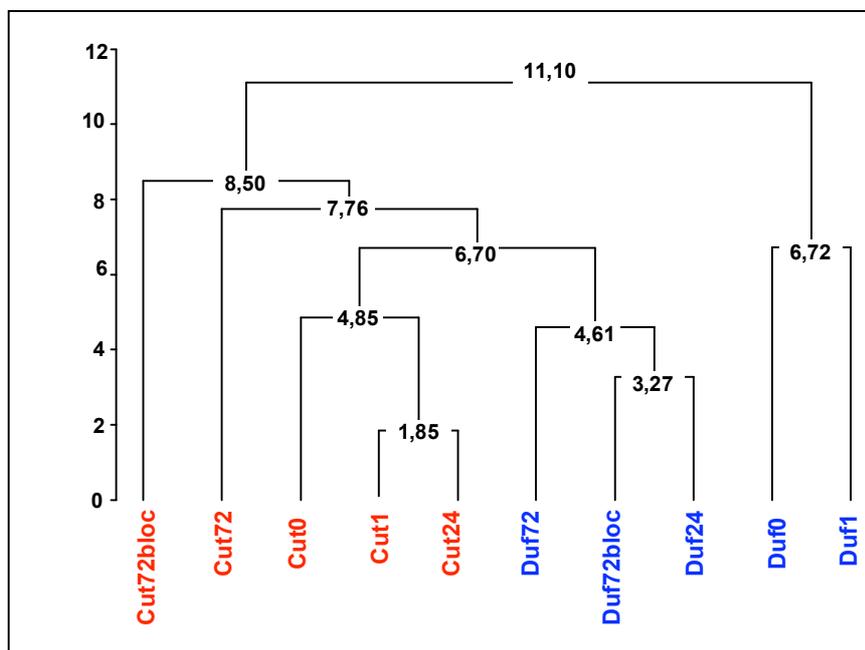


Figure 43 – Dendrogramme obtenu par classification ascendante hiérarchique (CAH) des proportions relatives des composés présents dans les extraits cuticulaires ou de glandes de Dufour.

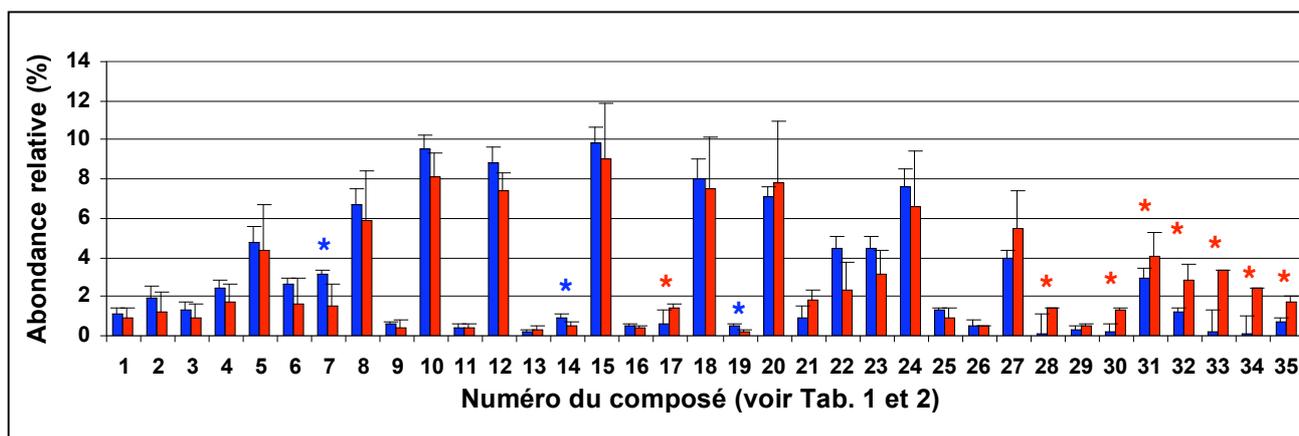


Figure 44 – Abondance relative (+ s.e.m.) de chacun des composés identifiés dans les extraits de cuticule (■) et de glandes de Dufour (■) de *D. basalis*.

★ : composé significativement plus abondant dans la glande de Dufour (MW ; P-value < α).

★ : composé significativement plus abondant sur la cuticule (MW ; P-value < α).

3-Discussion

La composition de la sécrétion de la glande de Dufour n'a été étudiée que chez un nombre réduit d'espèces d'hyménoptères parasitoïdes, bien que son rôle dans la discrimination des hôtes parasités soit connu depuis le début des années 1970 (Vinson & Guillot, 1972). Chez l'Ichneumonidae *Venturia canescens*, la sécrétion de la glande de Dufour est un mélange simple de 3 hydrocarbures saturés (C_{21} , C_{23} et C_{25}) et leurs 5 homologues mono insaturés ((Z)-8-, 9-, et 10-Héneicosène, (Z)-10-Tricosène et (Z)-10-Pentacosène) avec un composé très majoritaire, le Z-10-Tricosène représentant plus de 60% du mélange (Mudd *et al.*, 1982 ; Marris *et al.*, 1996). Chez le Braconidae *Cardiochiles nigriceps*, la glande de Dufour produit une sécrétion également composée uniquement d'hydrocarbures, mais avec un spectre de carbone plus large (C_{23} à C_{35}), et consiste en un mélange de séries homologues de n-alcanes, Z-monoènes, et Z,Z-alkadiènes. Ces composés sont identiques à ceux retrouvés sur la cuticule (Syvertsen *et al.*, 1995). Chez les bethylidae *Cephalonomia tarsalis* et *C. waterstoni*, la composition est plus variée, avec un grand nombre de n-alcanes de C_{23} à C_{33} , des méthyl- et diméthyl- alcanes et des mono-alcènes (Howard & Bakker, 2003). La sécrétion de la glande de Dufour de *D. basalis* est composée d'un mélange complexe de n-alcanes, mono et diméthyl alcanes, de C_{21} à C_{34} . Cette composition est proche de celles des deux Pteromalidae étudiés, *Anisopteromalus calandrae* et *Pteromalus cerealellae*, et plus particulièrement de cette dernière espèce (Howard & Bakker, 2003) : la gamme d'hydrocarbures cuticulaires de *D. basalis* (C_{21} - C_{35}) est plus proche de celle de *P. cerealellae* (C_{24} - C_{37}) que de celle d'*A. calandrae* qui comprend beaucoup d'hydrocarbures à plus longue chaîne (C_{29} - C_{38}). De plus, comme chez *P. cerealellae* (Howard & Bakker, 2003), seul le groupement méthyl, à un ou deux exemplaires, est présent dans la sécrétion de la glande de Dufour de *D. basalis*.

Tout comme chez le Braconidae *Cardiochiles nigriceps* (Syvertsen *et al.*, 1995), les deux Bethylidae *Cephalonomia tarsalis* et *C. waterstoni* et les deux Pteromalidae *Anisopteromalus calandrae* et *Pteromalus cerealellae* (Howard & Bakker, 2003), où les deux sécrétions ont été étudiées, les hydrocarbures constituant la sécrétion de la glande de Dufour sont retrouvés également sur la cuticule. Cependant, chez *C. waterstoni*, *A. calandrae* et *P. cerealellae*, certains composés sont strictement spécifiques de la sécrétion de la glande de Dufour et ne sont pas présents dans la sécrétion cuticulaire. Chez *D. basalis*, aucun composé ne constitue une caractéristique qualitative d'une des deux structures, bien que des contaminations entre les extraits soient possibles. Il semble au contraire que la cuticule soit

caractérisée par une abondance massive d'hydrocarbures lourds, présents en très petite quantité dans la sécrétion de la glande de Dufour.

Cette similarité de la composition de la cuticule et de la glande de Dufour au sein d'une même espèce contraste avec l'extraordinaire diversité interspécifique (Mudd *et al.*, 1982 ; Marris *et al.*, 1996 ; Syversten *et al.*, 1995 ; Howard & Bakker, 2003). La différence au niveau du nombre d'hydrocarbures, de leur nature (saturé-insaturé), de la gamme de longueur de chaîne carbonée, du nombre de groupements méthyl et leurs positions sur la chaîne principale semble lié à la phylogénie des espèces. La composition des sécrétions des Ichneumonidae et Braconidae (superfamille : Ichneumonoidea) est assez simple, caractérisée par un petit nombre de composés, saturés et insaturés, de C₂₁ à C₂₉, non branchés (Syversten *et al.*, 1995 ; Marris *et al.*, 1996). Les Bethyloidea (Bethyloidea) et les Pteromalidae (Chalcidoidea) sont caractérisés par une plus grande quantité et diversité d'hydrocarbures à longue chaîne (C₂₁-C₃₈), dont certains portent des groupements méthyl, et l'existence (Bethyloidea) ou non (Pteromalidae) d'hydrocarbures insaturés.

Le profil cuticulaire et de la glande de Dufour semble peu évoluer durant les trois premiers jours de la vie de la femelle *D. basalis*. Les femelles *D. basalis* disposeraient de sécrétions de composition similaire sur la cuticule et dans la glande de Dufour dès l'émergence. La classification hiérarchique semble cependant indiquer une faible tendance à une augmentation de la similarité entre les structures avec l'âge des femelles. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus chez les hyménoptères plus évolués tels que les guêpes polistes (Gamboa, 1996 ; Panek *et al.*, 2001), les fourmis (Morel *et al.*, 1988 ; Soroker *et al.*, 1995 ; Dahbi *et al.*, 1999 ; Lenoir *et al.*, 1999) et les abeilles (Breed *et al.*, 1988) chez lesquels le profil cuticulaire colonial n'est acquis qu'après quelques heures à quelques jours et nécessite le contact d'autres membres de la colonie. Si la qualité et la proportion relative des composés n'évoluent que faiblement, la quantité et la concentration des sécrétions pourraient augmenter avec l'âge. Les analyses chimiques effectuées n'ont pas permis d'obtenir des informations quant à la concentration totale des différents hydrocarbures contenus dans les sécrétions. Les observations préliminaires de glande de Dufour de femelles âgées de quelques heures (chap. 3) ont montré que l'aspect et le volume de la glande de Dufour changent durant les premiers jours et suggèrent que la quantité d'hydrocarbures change avec l'âge.

L'activité similaire des deux sécrétions démontrée dans le chapitre 3 nous porte à croire que les composés actifs sur le comportement des femelles *E. vuilleti* feraient plutôt partie des composés communs aux deux sécrétions, et non des composés présents en quantité significative uniquement dans une des deux sécrétions. Déterminer un unique composé actif

semble difficile, d'autant que les nombreux travaux portant sur le rôle de la sécrétion de la glande de Dufour dans la communication chez les abeilles (Hefetz, 1987) et les fourmis (Billen & Morgan, 1998) ont montré que la reconnaissance s'effectue au niveau de la combinaison des différents hydrocarbures à des concentrations précises. Généralement, chacun des composés pris séparément n'a aucune activité dans la reconnaissance.

La composition identique tant au niveau qualitatif que quantitatif des sécrétions cuticulaire et de la glande de Dufour est troublante. Cette similarité, qui n'a été décrite que depuis une dizaine d'années, semble pourtant répandue chez les Hyménoptères. Elle a notamment été retrouvée chez des bourdons (Oldham *et al.*, 1994), chez des guêpes polistes (Dani *et al.*, 1996), chez l'abeille *Apis mellifera* (Gozansky *et al.*, 1997) et chez plusieurs familles d'hyménoptères parasitoïdes (Syvertsen *et al.*, 1995 ; Howard & Bakker, 2003). Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette similarité:

① Soit une des structures, probablement la glande de Dufour, est sécrétrice, et la sécrétion est répandue à la surface de la cuticule durant les phases de toilette fréquentes chez cette espèce. Les extraits effectués à différents âges et après immobilisation des femelles semblent montrer que cette similarité apparaît très tôt, bien avant les premières phases de toilette. Le comportement de toilette ne semble pas jouer de rôle déterminant dans l'apparition de la similarité de la composition des deux sécrétions, mais pourrait jouer un rôle non négligeable dans l'homogénéisation des deux sécrétions.

② Soit les structures sécrétrices au niveau de la cuticule et de la glande de Dufour produisent les mêmes hydrocarbures dans des proportions similaires. Les hydrocarbures à la surface de la cuticule sont présumés produits par de petites structures glandulaires épidermiques, qui déchargeraient leurs sécrétions au niveau de pores cuticulaires. Les glandes à venin et de Dufour sont dérivées de tissus épidermiques et possèdent une paroi cuticulaire. Des tissus ayant la même origine pourraient produire des composés similaires (Oldham *et al.*, 1994).

③ Soit enfin la production s'effectue en amont et les hydrocarbures sont transportés vers la glande de Dufour et la cuticule, où ils sont excrétés. Aucune étude n'a démontré clairement que la glande de Dufour était le site de biosynthèse des hydrocarbures contenus dans la sécrétion. Cette glande peut être une structure d'excrétion et de stockage de composés produits ailleurs dans l'organisme. Différentes études physiologiques chez les insectes démontrent que les hydrocarbures de la cuticule et de la glande de Dufour proviennent d'œnocytes qui libèrent les hydrocarbures dans l'hémolymphe. Ils sont alors pris en charge par une lipophorine, principale classe de protéine de l'hémolymphe des insectes, transportés

et libérés à travers les membranes cuticulaires ou à travers la membrane des glandes spécialisées (van der Horst *et al.*, 1993 ; Blomquist *et al.*, 1998 ; Schal *et al.*, 1998 ; Jurenka & Subchev, 2000). Cependant, si cette hypothèse peut expliquer les similarités des profils de la glande de Dufour et de la cuticule, l'origine des hydrocarbures les plus lourds, retrouvés presque exclusivement sur la cuticule, reste à découvrir. Soit des mécanismes excluent certains hydrocarbures du transport vers la glande de Dufour ou permettent une absorption sélective différente par la membrane des cellules de la glande de Dufour et de la cuticule (Schal *et al.*, 1998), soit les hydrocarbures lourds sont synthétisés localement, au niveau d'une des nombreuses glandes cuticulaires.

↳ Chapitre 3 : Aspects évolutifs de la discrimination interspécifique ↳

Les études ayant porté sur l'évolution de la discrimination interspécifique ont presque toutes en commun l'à priori que cette discrimination aboutit à l'évitement du multiparasitisme (Gofray, 1994). Dans ces conditions, la discrimination interspécifique est généralement considérée comme n'étant pas une stratégie évolutive stable (ESS), sauf dans les situations où le nombre d'hôtes exploitables est limitant et quand les chances de survie dans un hôte parasité par une femelle allospécifique sont plus faibles que dans un hôte sain (Bakker *et al.*, 1985). Turlings *et al.* (1985), ont modélisé l'évolution de la discrimination interspécifique entre deux parasitoïdes sympatriques de drosophile et ont conclu que l'évolution de la discrimination interspécifique était improbable. La seule situation pouvant aboutir à la discrimination interspécifique selon ce raisonnement serait liée à une proximité phylogénétique (Rosen & De Bach, 1979 ; Vet *et al.*, 1984 ; Mc Brien & Mackauer, 1991). Deux espèces proches, dont la séparation est intervenue récemment à partir d'un ancêtre commun capable de discrimination intraspécifique, pourraient avoir conservé ce caractère et reconnaîtraient les hôtes parasités par l'espèce proche. Ce raisonnement est inapproprié dans le cadre du kleptoparasitisme, où la discrimination aboutit non pas à l'évitement mais à la recherche du multiparasitisme et où le déficit en survie lié à la ponte dans un hôte parasité est annulé par le comportement ovicide. Pour van Alphen & Visser (1990), la reconnaissance du marquage et la ponte sur un hôte parasité par une femelle allospécifique ne peut être avantageux pour un parasitoïde, que si cette espèce est un compétiteur supérieur, c'est à dire qu'il gagne toujours la compétition intrinsèque, et que les chances de survie de sa descendance sont plus élevées sur un hôte parasité par le compétiteur inférieur que sur un hôte sain. Cet avantage pourrait selon les auteurs être à l'origine de l'évolution du kleptoparasitisme. D'autre part, de nombreux auteurs suggèrent que l'apparition de la discrimination interspécifique serait liée à l'asymétrie entre les aptitudes compétitives respectives des espèces (Leveque *et al.*, 1993 ; Mc Brien & Mackauer, 1990). La compétition interspécifique agirait alors comme une pression de sélection puissante modelant les stratégies des parasitoïdes. Ce lien entre la compétition interspécifique et l'apparition de stratégies d'exploitation impliquant des phénomènes de discrimination interspécifique des hôtes parasités n'a jamais été prouvé. D'autre part, sur le terrain, les conditions de compétition varient localement et temporellement. La stratégie adoptée par une femelle *E. vuilleti* devrait dépendre de l'intensité locale de la compétition interspécifique.

Nous avons dans ce chapitre tenté de déterminer quels processus évolutifs avaient pu permettre la sélection chez *Eupelmus vuilleti* de la discrimination interspécifique des hôtes parasités par *Dinarmus basalis*. Pour cela, nous avons tout d'abord étudié la spécificité de

cette reconnaissance, puis nous avons tenté de déterminer si la discrimination interspécifique des hôtes parasités présentait des bénéfices suffisants pour expliquer l'apparition et la sélection de ce comportement. Enfin, nous avons voulu déterminer si l'expression de cette stratégie était liée à des conditions environnementales particulières, et si des mécanismes permettaient l'adaptation de la stratégie dans des conditions environnementales fluctuantes.

A- SPECIFICITE DE LA DISCRIMINATION INTERSPECIFIQUE

Bien que la discrimination des hôtes parasités par des femelles allospécifiques soit difficilement interprétable comme un phénomène adaptatif (Bakker *et al.*, 1985 ; Turlings *et al.*, 1985 ; Ueno, 1999), deux situations ont été décrites comme potentiellement capables d'expliquer l'apparition d'un tel comportement (Godfray, 1994) :

① Lorsque les espèces considérées sont phylogénétiquement proches (Rosen & De Bach, 1979 ; Vet *et al.*, 1984 ; Mc Brien & Mackauer, 1991) : La discrimination interspécifique serait un comportement relique d'une discrimination intraspécifique existante chez un ancêtre commun. Elle est alors interprétée comme une erreur par confusion de la phéromone de marquage allospécifique avec la phéromone de marquage conspécifique de composition proche.

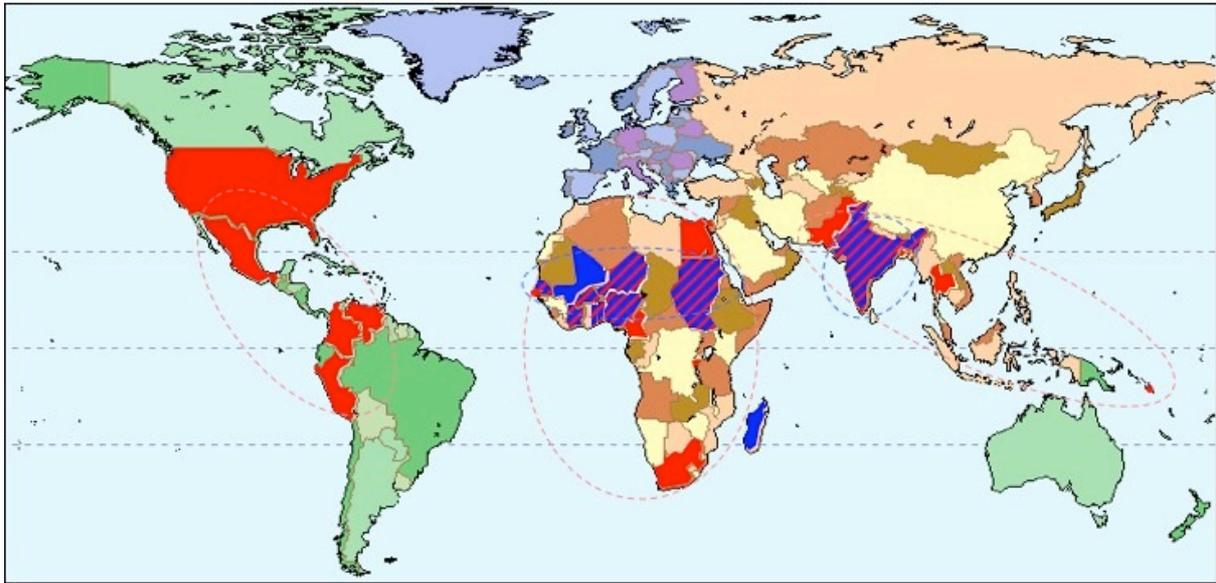
② Lorsque les espèces considérées sont sympatriques et entrent en concurrence pour le même type d'hôte (Browning & Oatman, 1984 ; Chow & Mackauer, 1984) : L'issue de la compétition interspécifique dépend des mêmes facteurs qu'en situation de compétition intraspécifique, notamment du délai entre les pontes, mais dépend également des adaptations particulières de chacune des espèces à la compétition (Mc Brien & Mackauer, 1990). Généralement, l'espèce la moins compétitive est capable de reconnaître les hôtes parasités par l'espèce la plus compétitive et évite le multiparasitisme (Bai & Mackauer, 1991 ; McBrien & Mackauer, 1991 ; Scholz & Holler, 1992 ; Pijls *et al.*, 1995).

Lorsque les espèces sont phylogénétiquement proches, la discrimination peut être réciproque entre les espèces concernées (Vet *et al.*, 1984 ; McBrien & Mackauer, 1990). Entre deux espèces sympatriques, en revanche, la discrimination est généralement sélectionnée chez l'espèce la moins compétitive qui évite les hôtes parasités par l'espèce la plus compétitive. Chez d'autres espèces enfin les deux processus pourraient intervenir : *Anaphes n. sp.* est capable de reconnaître les hôtes parasités par *Anaphes sordidatus* (Hymenoptera : Mymaridae), une espèce proche et sympatrique (van Baaren *et al.*, 1994). L'étude de la spécificité de la reconnaissance et de l'influence de la position phylogénétique des espèces concurrentes sur la reconnaissance doit nous permettre d'identifier le ou les processus impliqués dans la sélection chez *E. vuilleti* de la discrimination interspécifique des hôtes parasités par *D. basalis*.

Si *E. vuilleti* et *D. basalis* sont inféodés aux mêmes espèces hôtes, la répartition mondiale des deux parasitoïdes est très différente (Fig. 45). *D. basalis* est un parasitoïde

Figure 45 – Répartition mondiale de *D. basalis* et de *E. villetti*.

Les pays où *D. basalis* a été décrite sont colorés en rouges (■) et ceux où *E. villetti* a été décrite sont en bleu (■). Dans les pays hachurés (■), les deux espèces sont potentiellement sympatriques. En pointillé, les aires de répartition probables des deux espèces.



tropical ubiquiste, décrit dans de nombreux pays d’Afrique, de l’Egypte à l’Afrique du Sud (Rasplus, 1986 ; Alzouma, 1987 ; Rasplus, 1989 ; Monge & Huignard, 1991 ; Ouedraogo *et al.*, 1996; Amevoïn *et al.*, 2003), en Amérique du Nord et du Sud (Rasplus, 1989, Schmale *et al.*, 2001) et en Asie, de l’Inde aux Fidji (Rasplus, 1989 ; Verma, 1990 ; Wai & Fujii, 1990 ; Nishimura, 1993 ; Islam & Kabir, 1995). *E. villetti* quant à lui est une espèce décrite uniquement dans l’ancien monde, en Afrique intertropicale (Crawford, 1913 ; De Luca, 1965 ; Prevet, 1966 ; Rasplus, 1986 ; Alzouma, 1987 ; Germain, 1988 ; Monge & Huignard, 1991 ; Sankung, 1994 ; Tchassanti, 1995) et en Inde (Nikol’skaya, 1963). Ces deux espèces ne sont donc sympatriques que dans une partie de leurs aires de répartition respectives, et principalement en Afrique de l’Ouest. Même dans les pays où les deux espèces ont été décrites, au niveau local, l’observation simultanée des deux espèces dans les greniers de Niébé dépend des caractéristiques climatiques des zones de culture. Ainsi, au Togo, l’espèce *E. villetti* n’est rencontrée fréquemment que dans la zone sèche dite soudanienne (ou sahéenne) du Nord du pays, alors que *D. basalis* est présente aussi bien en zone soudanienne au Nord qu’en zone guinéenne humide au Sud (Amévoïn *et al.*, 2003).

Les espèces d’insectes qui ont une aire de répartition très large présentent fréquemment des variations géographiques au niveau de la composition des sécrétions ayant un rôle dans la communication intraspécifique (Cruz-Lopez *et al.*, 2001). Ces variations géographiques peuvent prendre la forme de différences quantitatives (Hansson *et al.*, 1990) et qualitatives (Aldrich, 1988). Le profil cuticulaire, et particulièrement le ratio des hydrocarbures majoritaires, est décrit chez les hyménoptères sociaux comme caractéristique

d'une population ou d'une colonie particulière (Cervo *et al.*, 2003). Les profils des sécrétions cuticulaires et de la glande de Dufour de populations de *D. basalis* isolées géographiquement pourraient présenter des différences quantitatives ou qualitatives. Si la sélection de la discrimination interspécifique est liée à la compétition, *E. vuilleti* ne devrait reconnaître que la population de *D. basalis* sympatrique dont la compétition affecte son succès reproducteur (Nufio & Papaj, 2001). La signature géographique potentielle pourrait aboutir à une variation de la préférence d'*E. vuilleti* pour les hôtes parasités par différentes populations de *D. basalis*.

Nous avons tenté de déterminer les conditions ayant permis, chez *E. vuilleti*, la sélection de la discrimination interspécifique des hôtes parasités par *D. basalis*. Pour cela, nous avons testé l'étendue de la reconnaissance interspécifique de femelles *E. vuilleti* pour huit espèces d'hyménoptères parasitoïdes plus ou moins proches phylogéniquement de *D. basalis* ou de *E. vuilleti*.

Nous avons ensuite comparé la composition de la sécrétion cuticulaire de femelles de *D. basalis* issues de quatre populations d'origines géographiques différentes : la population originaire du nord du Togo (zone soudanienne), sympatrique de la population de *E. vuilleti* étudiée, utilisée dans toutes les expériences précédentes, et trois populations originaires de régions différentes où *E. vuilleti* est commune, rare, ou absente. Nous avons ensuite tenté de déterminer si ces différences éventuelles au niveau de la composition des traces cuticulaires se traduisaient par une variation dans la reconnaissance par *E. vuilleti* d'hôtes parasités par les différentes populations.

1- Etendue spécifique de la discrimination

Les espèces que nous avons testées n'étant pas toutes des parasitoïdes de bruche, nous n'avons pas pu réaliser les tests à partir d'hôtes parasités. Nous avons uniquement testé l'activité des sécrétions cuticulaires sur le comportement des femelles *E. vuilleti*. Hormis *E. vuilleti* et *D. basalis*, cinq autres espèces de parasitoïdes ont été testées, choisies pour leurs positions systématiques plus ou moins proches de *D. basalis* ou pour leur sympatrie avec les populations de *E. vuilleti* et *D. basalis* étudiées.

Ces expériences ont été réalisées avec la participation de Brianda Guillem Sempere au cours de son stage de maîtrise.

1-1 Procédure expérimentale

Anisopteromalus calandrae (Howard) (Fig. 46) est un Hyménoptère Pteromalidae de la sous famille des Pteromalinae, tout comme *D. basalis*. C'est donc une espèce assez proche, bien que d'un genre différent. C'est un parasitoïde cosmopolite tropical et subtropical ectoparasitoïde de larves et de nymphes de nombreuses espèces de coléoptères phytophages ravageurs des stocks de céréales (Ghani & Sweetman, 1955). Cette espèce n'a cependant jamais été décrite comme faisant partie du cortège parasitaire à l'intérieur des greniers de Niébé en Afrique de l'Ouest (Sou, 1998) et ne peut donc pas être considérée comme une espèce sympatrique de *D. basalis* et *E. vuilleti*. Si la discrimination intraspécifique n'a pas été démontrée chez cette espèce, il semble que les femelles ne pondent qu'un seul œuf par hôte (Menon *et al.*, 2002), ce qui peut être interprété comme un système d'évitement du superparasitisme. Chez cette espèce, comme chez *D. basalis*, les sécrétions cuticulaires et de la glande de Dufour sont similaires, composées uniquement d'hydrocarbures saturés. Ces sécrétions diffèrent cependant entre *A. calandrae* et *D. basalis*, au niveau de la gamme de nombre de carbones considérée, et des composés présents (Howard & Bakker, 2003). La population de *A. calandrae* testée provient d'un élevage au laboratoire sur des graines de Niébé contenant des larves de *C. maculatus*.



Figure 46 – *Anisopteromalus calandrae* femelle.
Posture de ponte (× 40)

Pachycrepoideus dubius (Ashmead) (Fig. 47) est également un Hyménoptère Pteromalidae de la sous famille des Pteromalinae, comme *D. basalis* et *A. calandrae*. C'est un ectoparasitoïde idiobiont solitaire cosmopolite (Crandell, 1939) de pupes de nombreuses espèces de Diptères (Nostvik, 1954). Il peut aussi se développer en hyperparasitoïde facultatif

de différentes espèces de parasitoïdes primaires de drosophile (van Alphen & Thunnissen, 1983) et notamment de *Trybliographa rapae* (Hymenoptera : Eucoilidae) (Grandgirard *et al.*, 2002), comme *E. vuilleti* peut se développer en hyperparasitoïde facultatif sur les larves de *D. basalis* âgées (van Alebeek *et al.*, 1993). *Pachycrepoideus dubius* pratique également l'ovicide (Goubault, 2000), est capable de discrimination interspécifique en présence d'hôtes parasités par *T. rapae* mais évite le multiparasitisme (Grandgirard *et al.*, 2002). Les femelles testées nous ont été gracieusement fournies par le laboratoire d'Ecobiologie des Insectes Parasitoïdes de Rennes 1, et proviennent d'un élevage sur des pupes de *Delia radicum* (Diptera : Anthomyiidae).



Sonia Dourlot Univ-Rennes1

Figure 47 - *Pachycrepoideus dubius* femelle
(× 40)

Cotesia glomerata (= *Apanteles glomeratus*) (Linnaeus) (Fig. 48) est un Hyménoptère Ichneumonidea Braconidae et constitue donc une espèce éloignée phylogénétiquement de *D. basalis*. C'est un endoparasitoïde grégaire des trois premiers stades larvaires de *Pieris brassicae* et *Pieris rapae* (Lepidoptera) (Laing & Levin, 1982). Les femelles de cette espèce posséderaient la capacité de reconnaître les hôtes sains des hôtes parasités par une conspécifique, probablement par détection d'un indice interne durant la phase d'insertion de l'ovipositeur dans l'hôte (le Masurier, 1990). Cette discrimination intraspécifique permet généralement à la femelle d'éviter le superparasitisme mais lorsque les hôtes sont parasités depuis peu de temps, elle se traduit par une préférence pour les hôtes parasités (Gu *et al.*, 2003). Les compositions des sécrétions cuticulaires et de la glande de Dufour n'ont pas été déterminées chez cette espèce, mais Syvertsen *et al.* (1995), chez un autre Braconidae, *Cardiochiles nigriceps* ont décrit les sécrétions de la glande de Dufour et de la cuticule comme un mélange identique d'alcanes, d'alkènes et d'alkadiènes assez différent

de la composition déterminée chez *D. basalis*. Les populations de *C. glomerata* testées étaient issues d'un élevage au laboratoire sur des chenilles de *Manduca sexta* (Lepidoptera).



Figure 48 – *Cotesia glomerata* femelle ($\times 40$)

Eupelmus orientalis (Crawford) (Fig. 49) est une espèce Hyménoptère Eupelmidae proche d'*E. vuilleti*. C'est un ectoparasitoïde solitaire des larves et des nymphes de bruches en Afrique et en Inde (Nikol'skaya, 1963), retrouvé fréquemment en Afrique de l'Ouest, dans les stocks de Niébé exploitant les mêmes hôtes que *D. basalis* et *E. vuilleti* (Sou, 1998). Pour Ndoutoume *et al.* (2000), *E. orientalis* est une espèce présentant un potentiel reproducteur supérieur à *E. vuilleti* en conditions hivernales mais identique en été. Cependant, *E. orientalis* semble peu adaptée aux conditions de stockage (lumière et dispersion) et serait un mauvais compétiteur en présence de *D. basalis* ou *E. vuilleti*. Lorsque l'une de ces deux espèces est présente dans le grenier, *E. orientalis* devient rapidement minoritaire dans les greniers (Ndoutoume-Dong, 1996). Les populations testées proviennent d'élevage au laboratoire sur des graines de Niébé contenant des larves et des nymphes de *C. maculatus*.



Figure 49 – *Eupelmus orientalis* femelle ($\times 40$)

Trybliographa rapae (Westwood) (Fig. 50) est un Hyménoptère Figitidae Eucoilinae répandu en Europe et en Amérique du Nord (Wishart & Monteith, 1954). C'est un parasitoïde solitaire spécialiste des larves de *Delia radicum* (Diptera : Anthomyiidae). Cette espèce koinobionte présente une phase endoparasitoïde puis une phase ectoparasitoïde. Cette espèce éloignée phylogénétiquement de *D. basalis*, est fréquemment décrite comme sympatrique de *P. dubius*. La compétition entre ces deux espèces est nettement défavorable à *T. rapae* (Crandell, 1939). Les femelles *T. rapae* testées nous ont été gracieusement fournies par le laboratoire d'Ecobiologie des Insectes Parasitoïdes de Rennes 1, et proviennent d'élevage sur des pupes de *Delia radicum* (Diptera : Anthomyiidae).



Sonia Dourlot Univ-Rennes1

Figure 50 – *Trybliographa rapae* femelle ($\times 40$)

Pour chaque espèce, 1 abdomen a une vingtaine de remettes a été frotté au niveau de la loge artificielle de 60 gélules contenant une nymphe de *C. maculatus*. Ces gélules ont ensuite été présentées à 60 femelles *E. vuilleti* selon le protocole de test biologique défini en situation de choix avec 60 gélules propres contenant un hôte sain. Un témoin a été réalisé en présentant un choix entre deux gélules propres contenant un hôte sain.

1-2 Résultats (Fig. 51)

D. basalis est la seule espèce dont les traces cuticulaires induisent une préférence par *E. vuilleti*, ce qui se traduit par la seule valeur de l'indice de préférence moyen significativement différent de celui obtenu lors de l'expérience témoin (MW ; P-value < 0.001). Les traces cuticulaires de *E. orientalis*, la troisième espèce sympatrique au sein des stocks de Niébé, ne semblent pas reconnues par les femelles *E. vuilleti*. Le test biologique de l'activité des traces cuticulaires de *P. dubius*, une espèce proche de *D. basalis*, aboutit à un

indice de préférence moyen légèrement positif, bien que non significativement différent de celui du témoin. Le test des traces cuticulaires de *E. vuilleti* sur la préférence par des femelles conspécifiques semble indiquer que cette espèce ne possède pas de discrimination intraspécifique ou que cette discrimination n'est pas basée sur la reconnaissance de traces cuticulaires déposées à la surface du système.

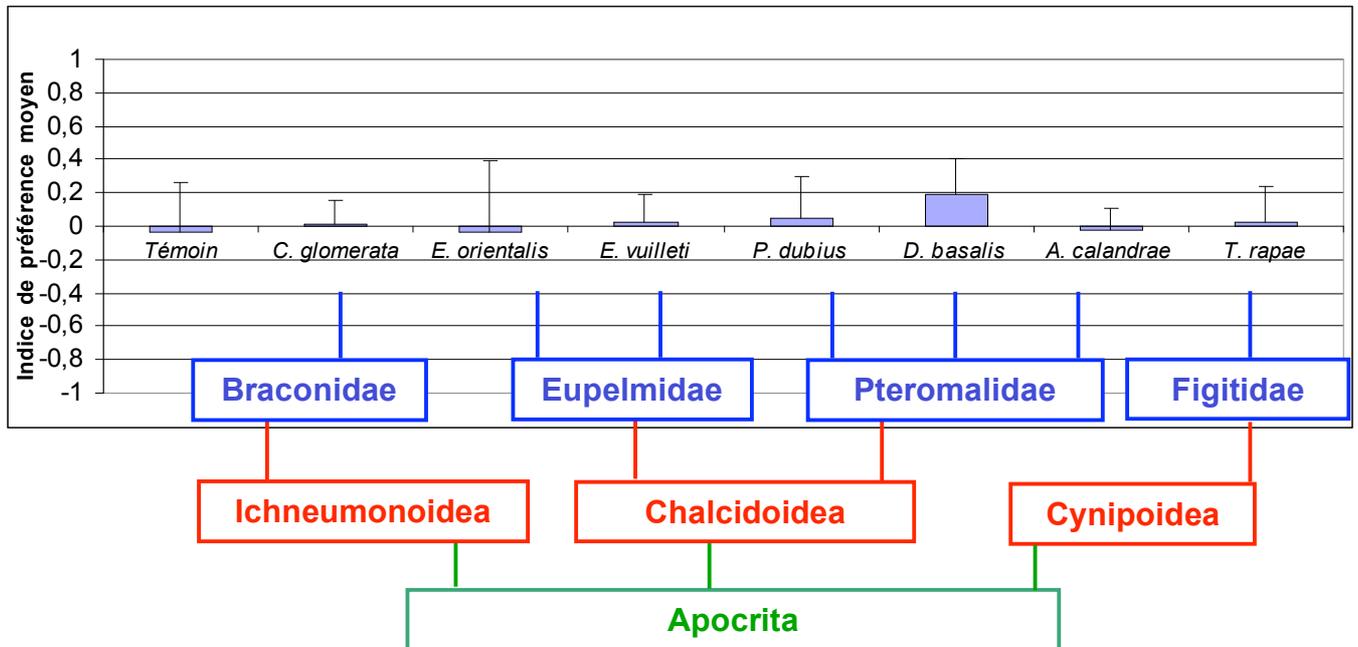


Figure 51 – Préférence des femelles *E. vuilleti* en situation de choix entre une gélule propre contenant un hôte sain et une gélule contenant un hôte sain sur la quelle a été frotté l'abdomen de femelles de différentes espèces.

* : Significativement différent du témoin (MW ; P-value < α)

2- Variation biogéographique de la discrimination interspécifique

2-1 Procédure expérimentale

2-1-1 Les différentes souches utilisées

La population **soudanienne** correspond à la souche utilisée jusqu'à présent dans ce mémoire. Elle est originaire des environs de Dapaong à l'extrême Nord du Togo (Fig. 52), dans la région des Savanes caractérisée par une seule saison sèche, et où les deux espèces *D. basalis* et *E. vuilleti* coexistent dans les greniers.

La population **guinéenne** est originaire de la capitale, Lomé, à l'extrême Sud du Togo (Fig. 52). Dans la région Maritime, caractérisée par deux saisons sèches, *D. basalis* est commun, alors que *E. vuilleti* est beaucoup plus rare (Amévoïn *et al.*, 2003). Les zones

soudanienne et guinéenne sont séparées dans la région Centrale par un massif peu élevé, les monts Togo. La souche guinéenne est issue de graines de niébé cultivées sur une parcelle expérimentale sur le campus de l'université de Lomé. Elle a été maintenue au laboratoire sur des larves de *C. maculatus* dans des graines de Niébé quelques mois avant de succomber à une attaque d'acariens.



Figure 52 – Origine des populations africaines de *D. basalis* testées.

- ★ : Région d'origine de la population guinéenne de *D. basalis*.
- ★ : Région d'origine de la population soudanienne de *D. basalis*.
- ★ : La région d'origine de la population béninoise est inconnue.

La population **béninoise** de *D. basalis* provient d'individus qui ont émergé de graines de Niébé achetées sur un marché de la région de Cotonou, la capitale du Bénin. La zone de culture de ces graines est inconnue. Dans le nord de ce pays voisin du Togo, les deux espèces de parasitoïdes coexistent dans des greniers semblables à ceux utilisés au Togo. Cette souche a été rapportée par le Docteur Ketho (Université du Bénin, Lomé, Togo) lors d'une

collaboration et a été maintenue au laboratoire sur des larves de *C. maculatus* dans des graines de Niébé. Elle a aussi été détruite par une attaque d'acariens.

La population **mexicaine** de *D. basalis* est originaire de Malinalco, au sud de Mexico. Elle a été rapportée par l'équipe du professeur Betty Benrey (Institut de Zoologie, Université de Neuchâtel, Suisse) était maintenue en Suisse sur des larves de *Zabrotes subfaciatus* dans des graines de haricot (*Phaseolus vulgaris*). Au laboratoire, cette souche a été développée sur des larves de *C. maculatus* dans des graines de Niébé (*V. unguiculata*), le changement d'hôte s'est effectué sans aucune difficulté (Campan & Benrey, 2004).

Nous avons également sollicité l'envoi d'autres populations, notamment asiatiques. Un échantillon japonais, provenant d'une souche japonaise et maintenue au Japon en laboratoire sur des larves de *Callosobruchus chinensis* sur des graine de Niébé, nous a été envoyée par le Dr Suzuki (Institute of Applied Biochemistry, University of Tsukuba, Japon). Cette souche n'a pu être maintenue à l'IRBI, le changement d'hôte n'ayant pu être réalisé. De même, un échantillon bangladaise de graines infestées de larves de *C. chinensis* parasitées nous a été envoyé par le Dr Islam (Institute of Biological Sciences, Rajshahi University, Bangladesh). Une seule femelle a émergé, rendant l'utilisation de cette souche impossible.

2-1-2 Obtention des extraits

Les femelles *D. basalis* étaient issu d'élevages séparés de chacune des souches géographiques sur larve de *C. maculatus* dans des graines de Niébé. Dix femelles émergentes de chaque souche ont été placées avec quelques mâles dans des boîtes de Pétri sans hôte avec un coton imbibé d'eau sucrée pendant 3 jours. Le troisième jour, les extraits ont été réalisés en plongeant les 10 femelles vivantes dans 100 µl de pentane (GC grade, 99,99%) pendant 10 secondes. L'extrait a été homogénéisé grâce à un agitateur pendant quelques secondes.

2-1-3 Analyse chimique

Les analyses chimiques proprement dites ont été réalisées selon le protocole décrit précisément dans le chapitre 2 avec le Perkin-Elmer Turbomass system comprenant un chromatographe phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse. La séparation a été

réalisée grâce à un programme de température de colonne, avec une température initiale de 50 °C, une température finale de 280 °C, 10°C par minute et un plateau final de 10 minutes. Les chromatogrammes en courant ionique total (TIC) ont été enregistrés en mode ionisation d'impact électronique à 70 eV.

2-1-4 Tests biologiques

Expérience 1 : Soixante femelles *E. vuilleti* expérimentées ont été soumises à un test biologique présentant un choix entre une graine à un hôte sain et une graine à un hôte parasité 24 heures avant par une femelle *D. basalis* de la population originaire de la zone soudanienne du nord du Togo, sympatrique avec la population d'*E. vuilleti* étudiée.

Expérience 2 : Soixante femelles *E. vuilleti* expérimentées ont été soumises à un test biologique présentant un choix entre une graine à un hôte sain et une graine à un hôte parasité 24 heures avant par une femelle *D. basalis* de la population provenant de la zone guinéenne au sud du Togo.

Expérience 3 : Soixante femelles *E. vuilleti* expérimentées ont été soumises à un test biologique présentant un choix entre une graine à un hôte sain et une graine à un hôte parasité 24 heures avant par une femelle *D. basalis* béninoise.

Expérience 4 : Soixante femelles *E. vuilleti* expérimentées ont été soumises à un test biologique présentant un choix entre une graine à un hôte sain et une graine à un hôte parasité 24 heures avant par une femelle *D. basalis* mexicaine.

Le parasitisme par les femelles *D. basalis* était vérifié après l'expérience par dissection des graines. Seules les observations correspondantes ont été conservées.

Un témoin a été réalisé en présentant à 60 femelles *E. vuilleti* un choix entre deux graines à un hôte contenant chacune un hôte sain.

2-2 Résultats

Les profils cuticulaires des quatre populations testées, Soudanienne, Mexicaine, Guinéenne et Béninoise (Annexe 1) sont qualitativement semblables, aucun composé majoritaire n'a pu être identifié comme caractéristique d'une population donnée.

Les deux composés supplémentaires présents dans les extraits Bénin et Togo, ayant pour temps de rétention 16,24 et 17,93, ne sont pas des hydrocarbures et semblent avoir pour origine une contamination lors de l'obtention des extraits. Les souches Bénin et Togo ayant

disparu suite à une attaque d'acariens, ces deux extraits ont été effectués antérieurement avec une méthode et un solvant différent des extraits mexicains et de zone soudanienne.

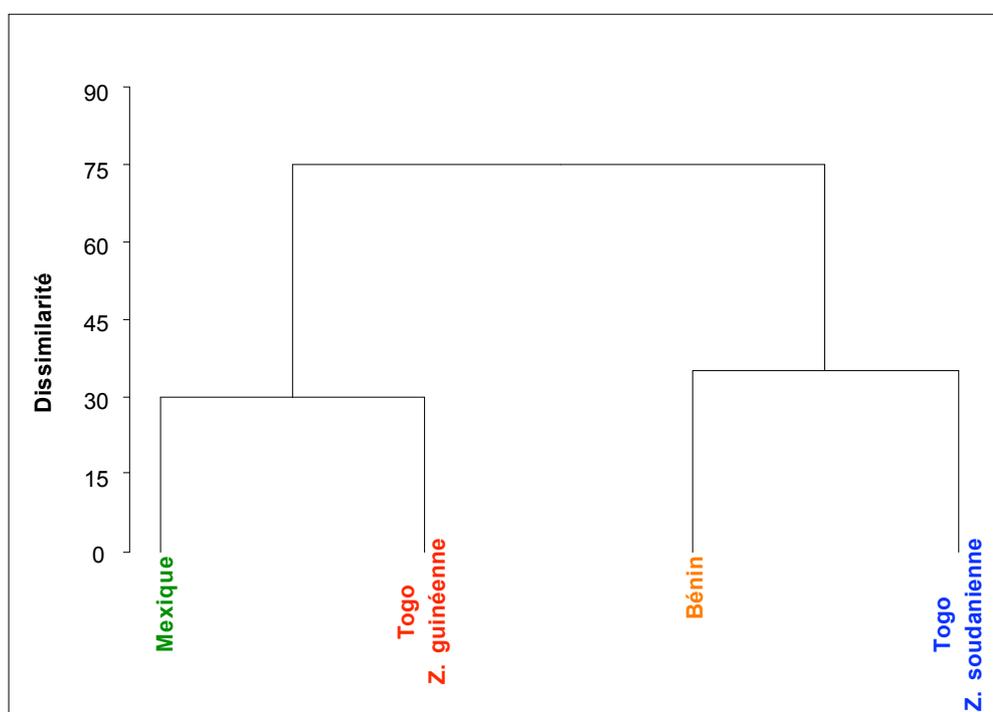


Figure 53 – Dendrogramme obtenu par classification ascendante hiérarchique des proportions relatives des composés contenus dans la sécrétion cuticulaire des différentes populations de *D. basalis*

Quelques différences quantitatives sont cependant perceptibles, au niveau des proportions relatives de chacun des composés. Une classification hiérarchique fait apparaître une grande similarité des populations Béninoise et Soudanienne, alors que les populations Guinéenne et Mexicaine forment un ensemble distinct (Fig. 53), caractérisé au niveau de leur chromatogramme par une plus faible abondance des hydrocarbures à longue chaîne.

Les tests biologiques des différentes populations de *D. basalis* semblent indiquer une variation de la préférence d'*E. vuilleti* pour les hôtes parasités en fonction de l'origine géographique de la femelle *D. basalis* (Fig. 54). Si l'indice de préférence moyen est significativement différent de celui du témoin quelle que soit la population (MW ; p-value < 0.05), il varie fortement entre ces différentes populations (KW ; p-value < 0.001). L'indice de préférence est significativement plus élevé pour la population sympatrique soudanienne que pour les trois autres populations (test de Dunn-Sidak). La population béninoise semble provoquer une préférence intermédiaire, bien que non significativement différente des populations mexicaine et guinéenne.

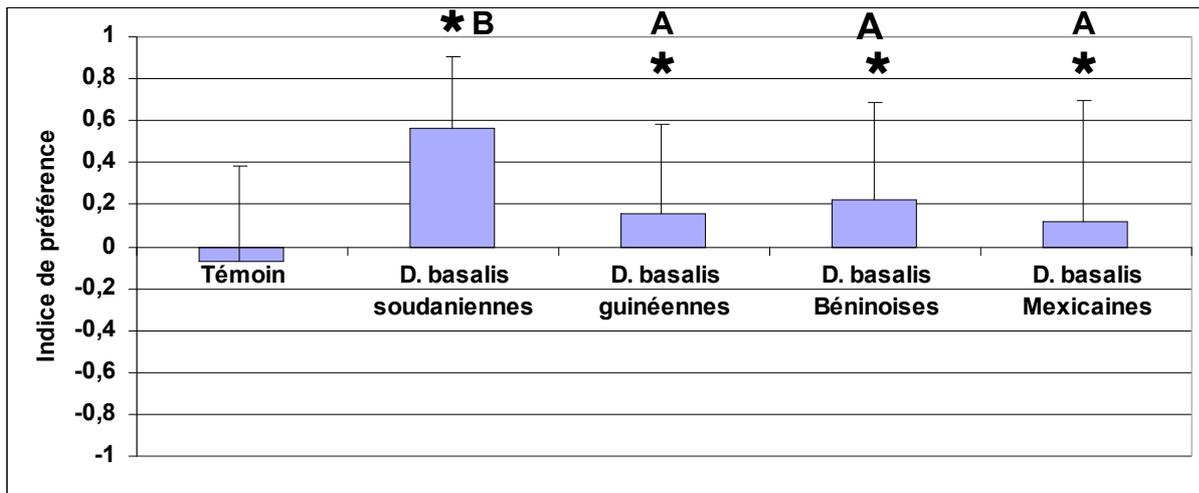


Figure 54 – Indice de Préférence (+ s.e.m.) des femelles *E. villetti* pour des graines contenant des hôtes parasités par les différentes populations de *D. basalis*.

***** : Significativement différent du témoin (MW ; P-value < α).

Les lettres correspondent aux regroupements effectués grâce au test de Dunn-Sidak ($\alpha = 0,05$).

3-Discussion

Parmi les espèces testées, seules les traces cuticulaires de l'espèce *D. basalis* semblent induire une préférence. La reconnaissance interspécifique des hôtes parasités par *E. villetti* semble extrêmement restreinte, les traces cuticulaires d'espèces proches de *D. basalis* (*P. dubius* et *A. calandreae*) ne sont pas reconnues. Cependant, bien qu'appartenant à la même tribu, ces espèces ne sont pas suffisamment proches pour conclure que *D. basalis* est l'unique espèce reconnue. Nous n'avons pas testé d'autres espèces du genre *Dinarmus*, dont les profils cuticulaires pourraient être suffisamment proches pour induire une préférence de la part d'*E. villetti*.

Chez les Pteromalidae, l'analyse chimique des hydrocarbures cuticulaires a été réalisée chez *Rhopalicus pulchripennis* (Espelie *et al.*, 1990), *Theocolax elegans* (Howard and Liang, 1993), *Pteromalus cerealellae* (Howard, 2001), *Anisopteromalus calandreae* (Howard & Bakker, 2003) et *D. basalis* dans la présente étude. Les profils chimiques des sécrétions cuticulaires sont très différents tant au niveau du type de composés (mono, di, tri ou tétraméthyl alcanes saturés ou insaturés), de leur variété, de la gamme de nombre de carbones considérée. Les sécrétions cuticulaires chez cette famille d'Hyménoptères semblent caractéristiques de l'espèce, comme cela a été décrit chez de nombreuses espèces d'insectes sociaux (Howard & Blomquist, 1982 ; Bonavita-Cougourdan *et al.*, 1987 ; Bagnères *et al.*,

1990) et chez les bourdons (Tengö *et al.*, 1991 ; Oldham *et al.*, 1994). Chez les insectes sociaux, les hydrocarbures cuticulaires sont utilisés comme des signatures odorantes permettant la reconnaissance du genre, de l'espèce, de la colonie ou de l'individu et peuvent jouer le rôle de phéromones, allomones ou kairomones (Howse, 1975 ; Blomquist *et al.*, 1998). Les quelques études réalisées sur la composition des hydrocarbures cuticulaires chez les pteromalidae et plus généralement chez les hyménoptères parasitoïdes (Lockey, 1988 ; Espelie *et al.*, 1990 ; Howard, 1993 ; Howard, 2001) semblent indiquer que cette composition est au moins caractéristique de l'espèce et pourrait même être caractéristique des niveaux inférieurs tels que populations, apparentés ou individus, comme le suggèrent les études portant sur la reconnaissance inter-individuelle intraspécifique (Hubbard *et al.*, 1987 ; Höller *et al.*, 1991).

L'hôte aux dépens duquel s'est développé le parasitoïde ne semble pas déterminant puisque les parasitoïdes autres que *D. basalis* ne sont pas reconnus, qu'ils aient été élevés sur le même hôte que *E. vuilleti* et *D. basalis* (*A. calandrae* et *E. orientalis*), sur des larves de Diptères (*P. dubius* et *T. rapae*) ou des chenilles de Lépidoptères (*C. glomerata*). Le test de des traces cuticulaires de souches de *D. basalis* maintenues sur différentes espèces de bruches aurait pu étayer cette hypothèse. Ce phénomène pourrait être lié à l'indépendance de la composition de la sécrétion cuticulaire de l'hôte sur lequel les insectes ont été élevés, comme cela est généralement admis chez les insectes parasitoïdes et prédateurs (Espelie *et al.*, 1990 ; Howard & Liang, 1993 ; Howard, 2001), excepté pour les espèces inquilines de société d'insectes (Howard, 1993).

E. vuilleti ne semble ni éviter ni rechercher les hôtes associés à des traces cuticulaires conspécifiques. Deux hypothèses peuvent expliquer cette absence de préférence :

① Soit la discrimination intraspécifique n'existe pas chez cette espèce. Cette hypothèse concorde avec les forts taux de superparasitisme (36%) observés par Cortesero (1994) qui en a déduit que les femelles *E. vuilleti* n'évitent pas le superparasitisme.

② Soit la discrimination est réalisée après prospection interne des hôtes parasités, comme le suggère Terrasse (1986). L'issue de cette discrimination reste cependant floue : pour Terrasse, les femelles *E. vuilleti* éviteraient le superparasitisme, alors que selon nos propres observations, les femelles *E. vuilleti* semblent préférer les hôtes parasités.

Les femelles *E. vuilleti* ne montrent pas de préférence pour les hôtes associés à des traces cuticulaires de *E. orientalis*, qui est pourtant une espèce phylogénétiquement assez proche de *E. vuilleti*, sympatrique et concurrente pour le même stade de la même espèce hôte. Cette absence de reconnaissance pourrait être due à l'infériorité compétitive d'*E. orientalis*

(mauvaise adaptation aux conditions de stockage et à la compétition) (Ndoutoume-Dong, 1996). La compétition avec *E. orientalis* ne présenterait pas de coûts suffisants pour qu'*E. vuilleti* développe une stratégie d'exploitation dirigée contre cette espèce. *E. vuilleti* ne reconnaîtrait que l'espèce qui possède des capacités intrinsèques (parasitaire, de fécondité, de longévité et de dispersion) supérieures (Sanon, 1997). Cette situation correspond aux cas d'évitement du multiparasitisme chez des espèces sympatriques (Bai & Mackauer, 1991 ; McBrien & Mackauer, 1991 ; Scholz & Holler, 1992 ; Pijls *et al.*, 1995). Cependant, dans notre système, la recherche du multiparasitisme associée au comportement ovicide et à la supériorité des larves d'*E. vuilleti* lors de combat larvaire inverse les rapports de force, et c'est *E. vuilleti*, au final, qui devient l'espèce dominante en situation de compétition avec *D. basalis*.

Le profil cuticulaire de populations de *D. basalis* isolées géographiquement diffère dans l'abondance relative des hydrocarbures présents. La population béninoise de *D. basalis* présente un profil en hydrocarbures cuticulaires très proche de celui de la population du nord du Togo. Bien que l'endroit exact de culture des graines contenant les *D. basalis* béninois n'ait pu être déterminé, il est possible que cette souche soit originaire du nord du Bénin, la région principale de culture du niébé. Les deux populations béninoise et soudanienne seraient alors proches géographiquement, uniquement séparées par une frontière politique.

Le profil de la population guinéenne présente un déficit en hydrocarbures à longue chaîne. Les monts Togo pourraient constituer une barrière géographique ayant partiellement isolé les populations soudanienne au nord et guinéenne au sud. Cet isolement a pu se traduire par une différenciation de la signature cuticulaire des deux populations.

La population de *D. basalis* américaine est particulièrement intéressante. Elle est séparée des populations africaines probablement depuis longtemps, bien qu'aucune donnée ne soit disponible quant à la date de cette séparation. Elle pourrait être intervenue récemment, à la faveur d'une introduction accidentelle. Bien que se développant aux dépens d'une espèce hôte essentiellement américaine, la bruche mexicaine *Zabrotes subfasciatus* (B.) à l'intérieur de haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.), ce parasitoïde a pu suivre *Callosobruchus maculatus* (Rasplus, 1989), introduit vraisemblablement sur le continent américain au XVIII^{ème} siècle grâce au commerce et à l'importation de la culture du niébé vers le nouveau monde (Larson & Fisher, 1938), et trouver sur place un hôte propice indigène. La similarité des profils cuticulaires des populations mexicaine et guinéenne semble accréditer l'hypothèse d'une introduction récente à partir d'une souche guinéenne côtière.

La préférence des femelles *E. vuilleti* pour les hôtes parasités varie selon l'origine géographique des femelles *D. basalis*. Cette variation pourrait être due aux différences constatées au niveau des profils en hydrocarbures cuticulaires, bien que le lien entre ces deux phénomènes n'ait pu être établi. Une variation quantitative du signal pourrait également être évoquée, comme cela a été décrit chez *Callosobruchus maculatus* (Messina, 1989 ; Messina *et al.*, 1991). Chez cette espèce qui possède un système de marquage par dépôt d'une phéromone sur les graines sur lesquelles la femelle a déjà pondu, il existe une variation dans le degré d'évitement des graines exploitées en fonction de la souche génétique. Cette variation serait due à une différence dans l'intensité du marquage par la femelle émettrice, et dans l'intensité de la réponse de la femelle réceptrice, pour une intensité de marquage donné. Il semble donc qu'il existe chez *C. maculatus* une variation qualitative et quantitative de la marque, associé à une variation de la réponse. Dans notre système, la reconnaissance par *E. vuilleti* est désavantageuse pour la femelle *D. basalis* puisqu'elle est synonyme d'une destruction de la descendance. Il semble peu probable que la population de *D. basalis* sympatrique de *E. vuilleti* ait sélectionné une intensité de marquage plus importante. Une variation qualitative des sécrétions cuticulaires, associée à une variation de la reconnaissance d'*E. vuilleti* semble plus probable.

La variation de l'indice de préférence en fonction de la population de *D. basalis* correspond en fait à une variation du nombre de femelles qui préfèrent l'hôte parasité. La préférence fait intervenir deux phénomènes, la discrimination, puis l'attraction

① Soit certaines femelles *E. vuilleti* ne sont capables de reconnaître que la population de *D. basalis* sympatrique. Seules les femelles qui en sont capables montreraient alors une préférence.

② Soit la reconnaissance est réalisée quelle que soit la souche de *D. basalis*, la variation de la préférence correspondrait alors à une attractivité moins importante des hôtes parasités par certaines souches géographiques. Cette plus faible attractivité pourrait être due à l'abondance relative plus faible d'un composé particulier.

③ Soit les deux phénomènes sont affectés. Les hôtes parasités par des populations non sympatriques seraient alors moins reconnus et moins attractifs.

La variation de l'attractivité des hôtes semble peu probable, les hôtes récemment parasités par *D. basalis* (avant l'initiation de la phase de nutrition) présentent à priori la même qualité pour assurer le développement de la descendance d'*E. vuilleti*. Des expériences préliminaires ont montré qu'au sein même de la population de *D. basalis* soudanienne, les profils cuticulaires de *D. basalis* pourraient présenter une certaine variabilité inter-

individuelle. En réponse, il pourrait exister dans la population d'*E. vuilleti* une variabilité de l'étendue du bouquet reconnu. Les femelles disposant d'un spectre large seraient alors capables de reconnaître les hôtes parasités par n'importe quelle souche géographique de *D. basalis*, alors que les femelles disposant d'un spectre étroit ne reconnaîtraient que les hôtes parasités par la population de *D. basalis* sympatrique.

Cette étude biogéographique est incomplète, les populations de parasitoïdes de certaines régions du monde manquent pour interpréter de façon certaine les résultats obtenus. Outre les populations de *D. basalis* asiatiques, pour lesquelles les problèmes liés au changement d'hôte devront être résolus, il serait intéressant de savoir si l'espèce *D. basalis* est présente à Madagascar, où seule *E. vuilleti* a été décrite (De Luca, 1965). Si *E. vuilleti* exploite seule les hôtes, cette population pourrait ne pas avoir sélectionné de capacité de discrimination interspécifique ou pourrait ne pas avoir développé de stratégie d'exploitation agressive dirigée contre *D. basalis*. La comparaison du succès reproducteur des populations d'*E. vuilleti* malgache et soudanienne en situation de compétition avec *D. basalis* pourrait permettre de mieux comprendre comment le kleptoparasitisme est apparu chez les populations d'*E. vuilleti* sympatriques de *D. basalis*.

B- AVANTAGES ADAPTATIFS A LA RECHERCHE DU MULTIPARASITISME

La théorie de la sélection naturelle prédit que des organismes sont sélectionnés pour maximiser leur propre succès reproducteur individuel ou le succès reproducteur des gènes qu'ils possèdent, plutôt que le succès reproducteur de la population ou de l'espèce (Fisher, 1930 ; Dawkins, 1976 ; Maynard-Smith, 1976 ; Williams, 1992). Si le rôle positif de la stratégie agressive d'*E. vuilleti* dans le maintien de cette espèce et dans la dynamique des populations dans les greniers a souvent été invoqué (Monge & Huignard, 1991 ; Leveque *et al.*, 1993 ; Tricault, 2000 ; Jaloux *et al.*, 2004), la sélection du comportement de recherche du multiparasitisme nécessite que ce caractère augmente directement le succès reproducteur des femelles qui l'expriment. Cet avantage adaptatif pourrait se traduire par une augmentation de survie ou de fécondité. Les avantages les plus fréquemment cités pour expliquer les cas de kleptoparasitisme observés résident dans l'utilisation des traces odorantes de l'espèce concurrente pour détecter la présence d'un hôte (Arthur, 1964 ; Spradbery, 1968) la réutilisation de l'orifice d'insertion de l'ovipositeur pour accéder à l'hôte (Couturier, 1949 ; Spradbery, 1968 ; Price, 1970a ; van Alebeek *et al.*, 1993, Takasu & Hirose, 1991) et l'utilisation des systèmes de virulence de la première espèce (Arthur, 1981 ; Kraaijeveld, 1999). L'utilisation des traces odorantes permettrait de réduire le temps de recherche de l'hôte, la réutilisation de l'orifice pourrait permettre à la femelle kleptoparasitoïde d'exploiter des hôtes inaccessibles par ses propres moyens, de gagner du temps et de réduire les risques de prédation. L'utilisation des systèmes de virulence consiste à bénéficier de l'inactivation de l'hôte par le venin de la concurrente ou d'éviter chez les endoparasitoïdes l'encapsulation en profitant des particules virales injectées par la première femelle. *E. vuilleti* est un ectoparasitoïde qui pique fréquemment les hôtes et leur injecte un venin paralysant (El Agoze, 1983), alors que *D. basalis* ne pique que très rarement (Cortesero, 1994). Un gain lié à l'utilisation des systèmes de virulence de *D. basalis* semble peu crédible et n'a à ma connaissance jamais été décrit chez des ectoparasitoïdes.

Des études précédentes menées au laboratoire ont montré que lorsque les hôtes sont présents en densité faible, la capacité de chacune des deux espèces à exploiter efficacement ces hôtes ne dépendait pas des mêmes paramètres : *D. basalis* est plutôt limité par le stock d'œufs disponibles, alors que *E. vuilleti* est plutôt limité par le temps (van Alebeek *et al.*, 1993). La longévité des femelles *D. basalis* est supérieure à 30 jours (Gómez Alvarez, 1980) et celle des femelles *E. vuilleti* est d'environ 20 jours (Terrasse, 1986). La fécondité totale durant la vie d'une femelle a été estimée à 50 œufs (Gómez Alvarez, 1980) pour *D. basalis*, et

à 100 œufs pour *E. vuilleti* (Terrasse, 1986). Le gain de temps semble donc être un bon candidat pour expliquer la sélection par *E. vuilleti* du comportement de recherche du multiparasitisme.

Nous avons dans ce chapitre tenté de déterminer si la recherche du multiparasitisme présentait un avantage pour la femelle *E. vuilleti*. Nous avons ensuite étudié l'influence de la compétition interspécifique sur le succès reproducteur des femelles *E. vuilleti*.

1 – Gain en temps de recherche de l'hôte

Les stimuli impliqués durant l'identification et la discrimination de l'hôte sont considérés comme essentiellement gustatifs ou tactiles (Vinson, 1985 ; Schmidt & Smith, 1989). Cependant, certaines espèces sont capables de discriminer les hôtes sains des hôtes parasités par une conspécifique à distance (van Baaren & Nenon, 1996). Cette discrimination serait due à la perception de la phéromone de marquage (van Dijken *et al.*, 1992) et modifierait le comportement locomoteur des femelles.

Lors des expériences préliminaires, il a été montré que la perception de l'indice permettant la reconnaissance par *E. vuilleti* des hôtes parasités par *D. basalis* s'effectuait au moins à courte distance, l'expression de la préférence intervenant avant la visite des deux types d'hôtes. Nous avons voulu déterminer si l'attraction à distance des femelles *E. vuilleti* se traduisait par une réduction du temps précédent la découverte de l'hôte. Des études olfactométriques menées précédemment au laboratoire ont montré que le comportement locomoteur des femelles *E. vuilleti* était stimulé par des odeurs produites par la larve hôte (Cortesero *et al.*, 1993). Nous avons voulu savoir si le parasitisme par *D. basalis* avait une influence sur le comportement locomoteur de femelles *E. vuilleti*, et plus précisément sur le temps d'arrivée sur l'hôte. Pour cela, nous avons étudié le comportement des femelles *E. vuilleti* soumises à des odeurs de graines saines, de graines contenant des hôtes sains ou de graines contenant des hôtes parasités par *D. basalis*.

1-1 Procédure expérimentale

120 femelles *E. vuilleti* émergentes ont été placées dans des boîtes de Pétri avec des graines contenant des hôtes, quelques mâles et un coton imbibé d'eau sucrée durant trois jours. Elles ont ensuite été isolées individuellement dans des boîtes de Pétri avec uniquement de l'eau sucrée pendant 24 heures, les expérimentations avaient lieu le quatrième jour.

L'olfactomètre (Fig. 55) était constitué d'un tube en verre de 15 cm de long et de 2 cm de diamètre interne. Il était placé dans une pièce climatisée à 30 ± 2 °C sous un éclairage

intense et uniforme de 450 lux. Le flux d'air provenait d'un compresseur, passait par un humidificateur, et était maintenu grâce à un débitmètre à 0.2 m/sec. à l'intérieur du tube. A une extrémité du tube était placée, sous le flux d'air, une graine de niébé saine (Exp. 1), une graine de Niébé contenant plusieurs hôtes sains (Exp. 2), ou une graine de Niébé contenant plusieurs hôtes parasités par *D. basalis* 24 heures auparavant (Exp. 3). A l'autre extrémité, une femelle *E. vuilleti* était introduite, le tube refermé par un morceau de tulle, et le chronomètre déclenché. Pour chaque expérience, le comportement de 40 femelles a été observé successivement pendant 10 minutes. Le nombre de femelles ayant atteint la graine et le temps nécessaire à l'atteindre ont été enregistrés. Un témoin a été réalisé en présence d'air pur. Le temps enregistré dans ce témoin est celui mis par la femelle pour atteindre la zone où la graine est fixée en condition expérimentale.

Les variances des échantillons n'étant pas homogènes, les résultats ont été traités grâce à un test non paramétrique de Kruskal-Wallis sous Xlstat pour déterminer l'existence d'une différence entre les échantillons.

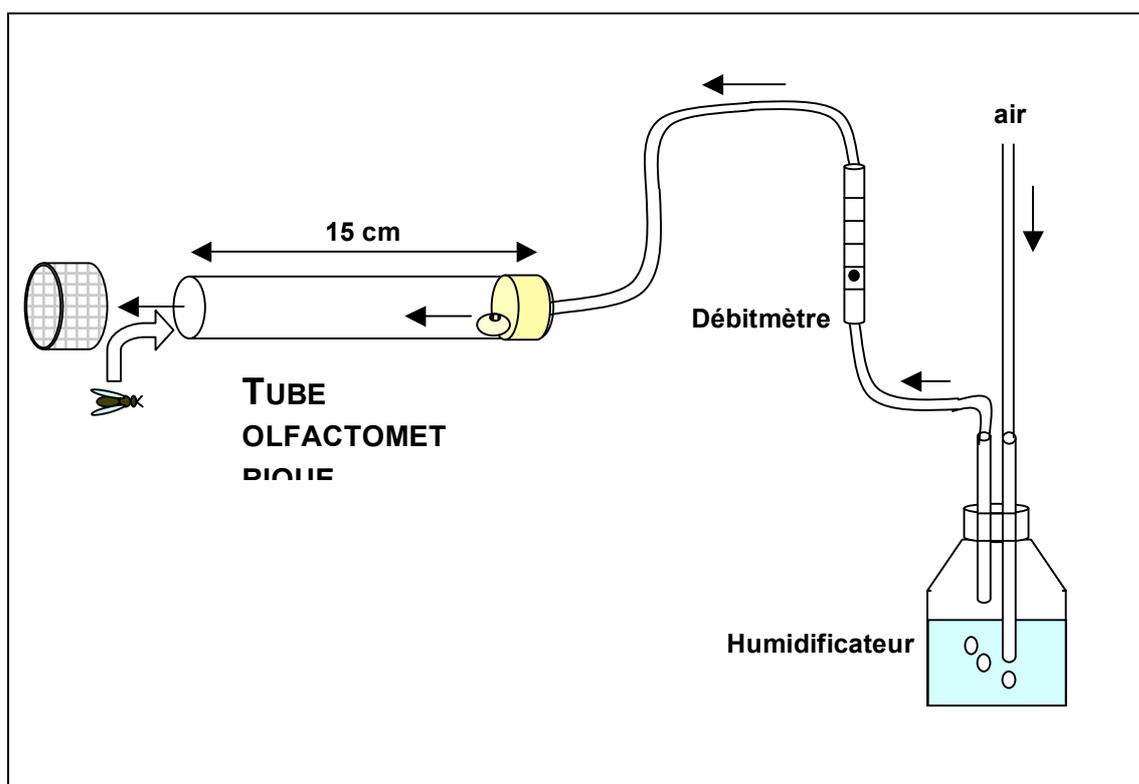


Figure 55 – Schéma du dispositif olfactométrique

1-2 Résultats

Le temps mis par les femelles pour arriver sur la zone (témoin) ou sur la graine (Exp. 1, 2 et 3) n'est pas significativement différent quelle que soit la source odorante utilisée (KW ; P-value= 0.136 > α) (Fig. 56). Bien que le temps d'arrivée sur les graines semble légèrement plus faible que dans la situation témoin, les écarts importants entre les temps enregistrés lors des différentes observations n'a pas permis d'obtenir de résultats significatifs. L'odeur de graines contenant des hôtes parasités par *D. basalis* ne semble pas influencer le temps de découverte de l'hôte dans les conditions expérimentales choisies. Au contraire, lors des expériences 2 et 3 où les graines contiennent des hôtes, une proportion moins importante de femelles est montée sur les graines (25/40 et 18/40) que lors de l'expérience 1 où les graines ne contenaient pas d'hôte (36/40).

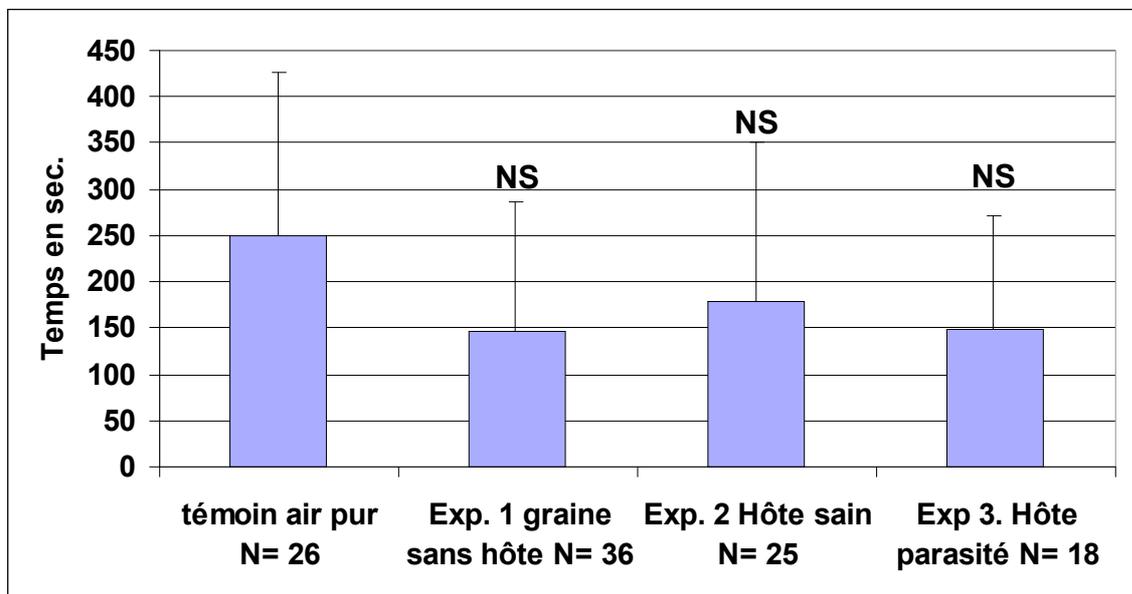


Figure 56 – Temps moyen d'arrivée sur la graine
N. S. : Non significativement différent du témoin (KW ; P-value < α)

2- Gain en temps d'exploitation de l'hôte

Une femelle *E. vuilleti*, pour exploiter un hôte déjà parasité par *D. basalis*, dispose de trois chemins d'accès possible :

- ① Soit la femelle *E. vuilleti* fore son propre orifice directement au dessus de la loge de l'hôte.
- ② Soit la femelle perce la paroi de l'œuf de bruche vide et suit la galerie creusée par l'hôte jusqu'à la loge.
- ③ Soit elle réutilise l'orifice foré par *D. basalis* et accède directement à la loge.

Selon Leveque (1991), l'accès par la galerie serait le plus fréquemment emprunté par les femelles *E. vuilleti* (85%) en présence d'hôtes sains, l'accès direct en creusant son propre orifice n'interviendrait que dans 15% des cas. Van Alebeek *et al.* (1993) évoquent la réutilisation de l'orifice en présence d'hôtes parasités par *D. basalis* sans préciser la fréquence de ce phénomène. Nous avons tout d'abord déterminé la fréquence à laquelle la femelle *E. vuilleti* utilise l'un ou l'autre des chemins d'accès en présence d'hôtes sains, puis en présence d'hôtes parasités par *D. basalis*. Nous avons étudié l'influence du chemin d'accès sur la durée de différentes phases du comportement de ponte, la prospection externe de l'hôte, le forage et la prospection interne.

2-1 Procédure expérimentale

Soixante femelles *E. vuilleti* émergentes ont été placées dans des boîtes de Pétri avec des graines contenant des hôtes, quelques mâles et un coton imbibé d'eau sucrée durant trois jours. Elles ont ensuite été isolées individuellement dans des boîtes de Pétri avec uniquement de l'eau sucrée pendant 24 heures, les expérimentations avaient lieu le quatrième jour.

Expérience 1 : Trente femelles *E. vuilleti* ont été placées individuellement dans une boîte de Pétri avec une graine à un hôte sain fixé sur le fond de la boîte. Le comportement de chaque femelle a été observé et le chemin d'accès de chaque tentative de forage noté. Seules les observations ayant abouti à la ponte, vérifiées par dissection de la graine après le retrait de la femelle, ont été retenues.

Expérience 2 : Obtention des graines parasitées : Une graine à un hôte contenant une nymphe de *C. maculatus* est fixée sur le fond d'une boîte de Pétri. Une femelle *D. basalis* de 3 jours, accouplée et expérimentée est introduite dans la boîte. L'orifice d'insertion de l'ovipositeur est très difficilement repérable, même à l'aide d'une loupe binoculaire. Le comportement de la femelle *D. basalis* est observé et la zone d'insertion de l'ovipositeur repérée à l'aplomb par un point de feutre sur le couvercle de la boîte de Pétri, la précision étant d'environ 1 mm. Après l'accomplissement de la séquence de ponte, la femelle *D. basalis* est retirée. Trente boîtes ont ainsi été préparées. Une femelle *E. vuilleti* est introduite dans chaque boîte et son comportement observé, le chemin d'accès utilisé noté. Une femelle est considérée avoir réutilisé l'orifice de *D. basalis* lorsque le point d'insertion de son ovipositeur se trouve exactement sous le repère. Après l'observation, les graines sont disséquées et la ponte de chacune des espèces vérifiées. Une attention particulière a été portée à la recherche d'œufs de *D. basalis* percés et donc plus difficilement observables. Seules les observations ayant abouti à la ponte, ont été retenues.

Le comportement de ponte des femelles *E. vuilleti* a été divisé en trois phases : L'exploration externe, de l'arrivée de la femelle sur la graine à l'insertion de l'ovipositeur, le forage, de l'insertion de l'ovipositeur au retour à l'horizontale de l'abdomen de la femelle, et l'exploration interne, du retour à l'horizontale de l'abdomen de la femelle au retrait de l'ovipositeur. Cette dernière phase regroupe l'exploration de l'hôte, la détection et la destruction d'un compétiteur éventuel et la ponte proprement dite. L'observation de la ponte, à l'extérieur du système, reste trop hasardeuse pour pouvoir déterminer son intervention avec précision. Les différentes tentatives d'insertion de l'ovipositeur n'ayant pas abouties ont été retranchées, seule la durée de forage efficace a été considérée.

La fréquence de chacun des chemins d'accès n'étant pas identique, des observations supplémentaires ont été réalisées en sélectionnant les femelles utilisant un accès rare pour obtenir des effectifs comparables.

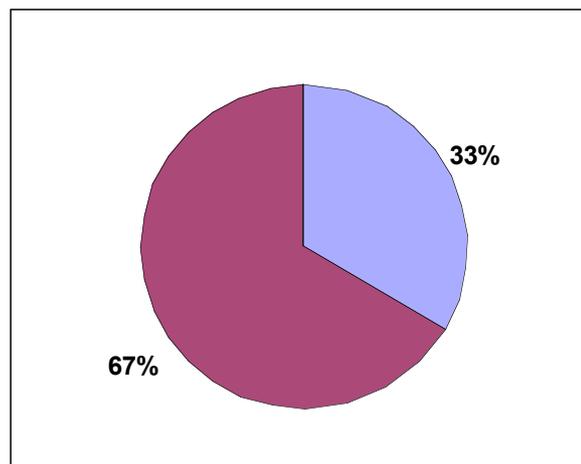


Figure 57 – Fréquence de l'utilisation par les femelles *E. vuilleti* des chemins d'accès en présence d'hôtes sains.

■ : En forant son propre orifice
■ : En utilisant la galerie de l'hôte

2-2 Résultats

Lors de l'expérience 1 où les femelles *E. vuilleti* se trouvent en présence d'hôte sain, 67% des femelles qui ont pondu ont foré leur propre orifice, alors que 33% sont passées par la galerie de l'hôte (Fig. 57). Bien que les effectifs soient peu importants, ces résultats semblent contredire les observations de Leveque (1991) pour qui le passage par la galerie de l'hôte était largement prépondérant. Le temps moyen nécessaire à l'exploitation complète de l'hôte n'est pas différent quel que soit le chemin emprunté (Fig. 58) (orifice propre: 1645 sec ; galerie de l'hôte : 1623 sec ; Student : P-value = 0.94), cependant la durée moyenne de forage, c'est à

dire entre l'insertion de l'ovipositeur et l'accès à la loge de l'hôte diffère significativement (Student ; P-value = 0.14) selon que la femelle fore son propre orifice (710 sec) ou qu'elle emprunte la galerie de l'hôte (422 sec).

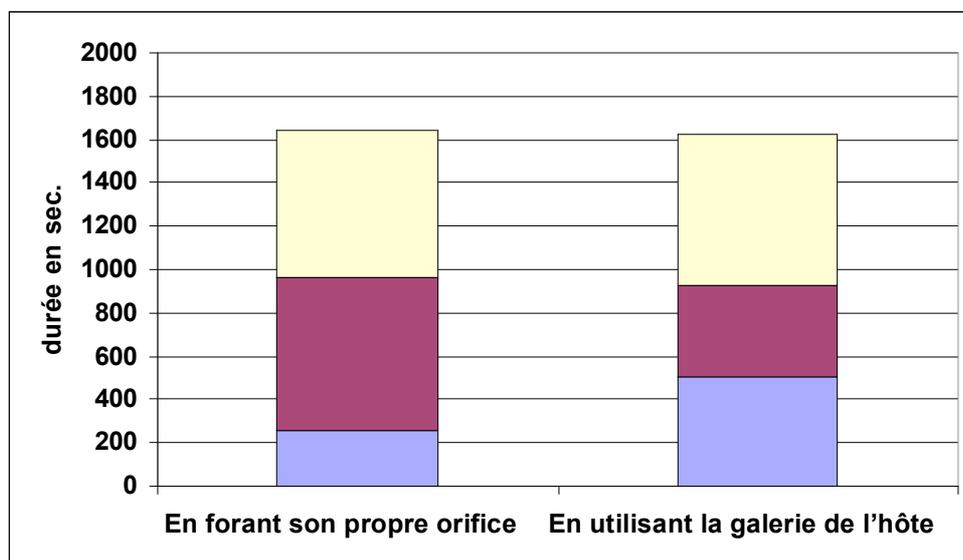


Figure 58 – Durée des différentes phases du comportement de ponte selon le chemin d'accès choisi par les femelles *E. vuilleti* des en présence d'hôtes sains.

- : Exploration externe
- : Forage
- : Exploration interne

Lors de l'expérience 2 où les femelles *E. vuilleti* ont été placées en présence d'hôtes parasités, la majorité d'entre elles (58%) ont réutilisé l'orifice de *D. basalis* (Fig. 59). Les femelles ayant choisi un autre chemin ont foré leur propre orifice (23%) ou emprunté la galerie de l'hôte (18%), ce qui concorde avec les proportions observées dans l'expérience 1.

Le temps nécessaire pour l'exploitation complète de l'hôte varie selon le chemin d'accès : la réutilisation de l'orifice foré par la femelle *D. basalis* semble réduire de façon importante le temps d'exploitation total, l'utilisation de la galerie de l'hôte présentant un gain intermédiaire (Fig. 60 ; Tab. 3).

	Durée moyenne \pm E. T	Regroupements	
orifice de <i>D. basalis</i>	1094,8 \pm 703,9	A	
galerie de l'hôte	1662,7 \pm 672,9	A	B
propre orifice	1804,5 \pm 910,7		B

Tableau 3 – Durée de l'exploitation totale de l'hôte par les femelles *E. vuilleti* selon le chemin emprunté pour accéder à l'hôte.

Les regroupements sont effectués grâce à un test de Bonferroni ($\alpha = 0,05$)

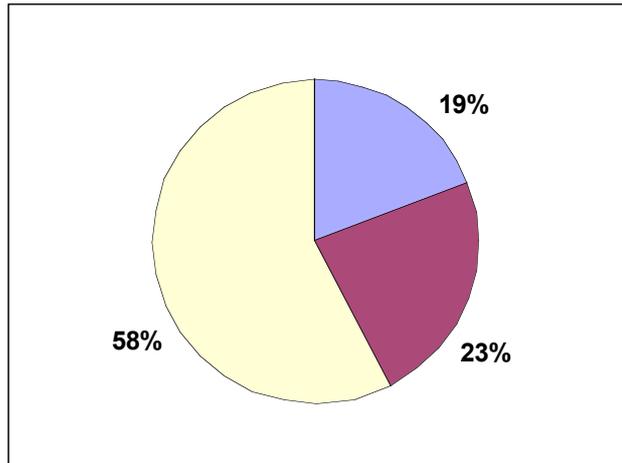


Figure 59 – Fréquence de l'utilisation par les femelles *E. villeti* des chemins d'accès en présence d'hôtes parasités par *D. basalis*.

- : En forant son propre orifice
- : En utilisant la galerie de l'hôte
- : En réutilisant l'orifice de *D. basalis*

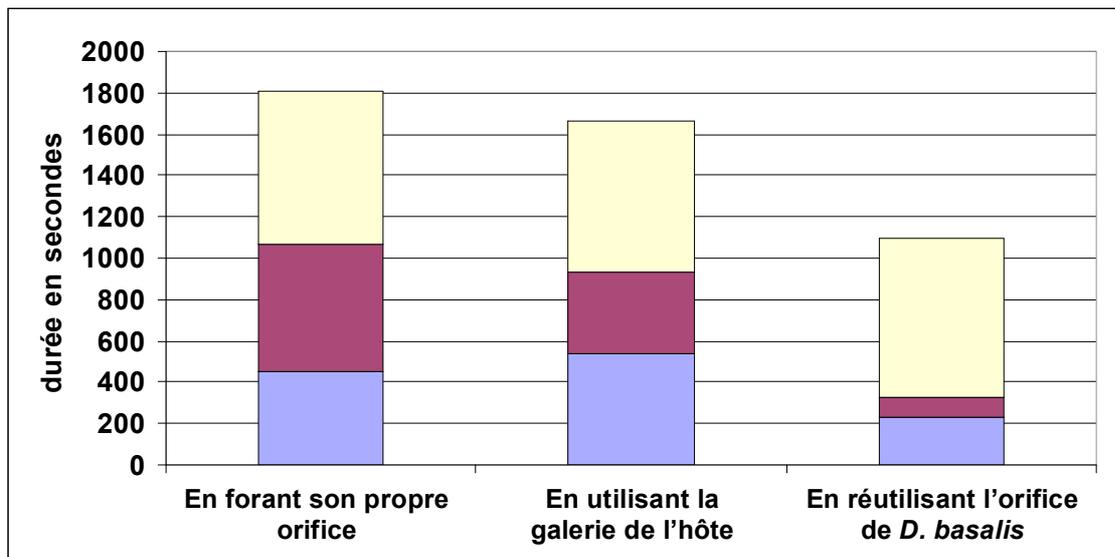


Figure 60 – Durée des différentes phases du comportement de ponte des femelles *E. villeti* selon le chemin d'accès choisi en présence d'hôtes parasités par *D. basalis*.

- : Exploration externe
- : Forage
- : Exploration interne

La réduction moyenne du temps d'exploitation total due à la réutilisation de l'orifice de *D. basalis* est de 9 min 28 sec par rapport au passage par la galerie de l'hôte, et de 11 min 49 sec par rapport au forage de son propre orifice. Ce gain en temps d'exploitation lors de la réutilisation de l'orifice de *D. basalis* est dû principalement à une réduction importante du

temps nécessaire au forage, la femelle met 4 fois moins de temps à réutiliser l'orifice de *D. basalis* qu'à emprunter la galerie de l'hôte, et 6 fois moins de temps à réutiliser l'orifice de *D. basalis* qu'à forer le sien (Tab. 4). La durée des autres phases du comportement de ponte, c'est-à-dire les temps d'exploration externe et interne ne sont pas significativement différents quel que soit le chemin d'accès emprunté (Tab. 5 ; KW : P-value = 0,06 > α pour l'exploration externe et P-value = 0,74 > α pour l'exploration interne).

	Durée moyenne \pm E. T	Regroupements	
orifice de <i>D. basalis</i>	95,1 \pm 47,7	A	
galerie de l'hôte	399,6 \pm 196,5		B
propre orifice	617,7 \pm 373,9		C

Tableau 4 – Durée de la phase de forage de l'orifice par les femelles *E. vuilleti* selon le chemin emprunté pour accéder à l'hôte.

Les regroupements sont effectués grâce à un test de Bonferroni ($\alpha = 0,05$)

	Durée exploration externe \pm E. T	Durée de prospection interne \pm E. T
orifice de <i>D. basalis</i>	262,2 \pm 188,0	737,5 \pm 577,0
galerie de l'hôte	534,1 \pm 410,3	729,0 \pm 632,1
propre orifice	447,6 \pm 488,9	739,158 \pm 402,1

Tableau 5 – Durée de la phase de forage de l'orifice par les femelles *E. vuilleti* selon le chemin emprunté pour accéder à l'hôte.

3- Influence de la compétition interspécifique sur le succès reproducteur de la femelle *E. vuilleti*

La sélection d'un caractère nécessite que son expression modifie le succès reproducteur des individus. La compétition interspécifique avec *D. basalis* affecte-elle le succès reproducteur des femelles *E. vuilleti* ? L'avantage lié à la réutilisation de l'orifice de *D. basalis* mis en évidence dans le paragraphe précédent affecte-t-il suffisamment le succès reproducteur de la femelle *E. vuilleti* pour compenser les effets de la compétition interspécifique ? Pour le savoir, nous avons étudié la longévité et le nombre de descendants de femelles *E. vuilleti* auxquelles nous avons fourni en quantité non limitante des hôtes sains ou parasités par *D. basalis*.

3-1 Procédure expérimentale

Soixante femelles émergentes ont été placées individuellement dans des boîtes de Pétri avec deux mâles pendant 2 jours. Les mâles sont alors retirés, et les femelles divisées en deux lots de 30 femelles. Cinq graines contenant chacune de 3 à 8 hôtes sont fixées sur le fond des boîtes de Pétri et renouvelées tous les jours jusqu'à la mort de la femelle. Cette quantité d'hôte est très supérieure au nombre moyen d'œufs (8,5) que peut pondre une femelle *E. vuilleti* en une journée (Cortesero, 1994). Le premier lot de femelles reçoit des graines contenant des hôtes sains et le second des graines contenant des hôtes parasités par *D. basalis* 24 ± 3 heures auparavant. Un nombre suffisant de femelles *D. basalis* a été mis à pondre durant 6 heures dans le but de maintenir un taux de parasitisme important tout au long de l'expérience. Dans une graine, les hôtes au stade nymphe sont isolés les uns des autres par leurs cocons fibreux, les parasitoïdes ne peuvent donc pas se rencontrer. Chaque jour, les graines de la veille sont retirées et placées dans l'étuve d'élevage jusqu'à l'émergence. Les descendants de chaque femelle *E. vuilleti* sont comptés. Le nombre d'hôtes sains et parasités présentés n'étant pas fixés au départ, le nombre de *D. basalis* émergeant n'a pu être déterminé.

3-2 Résultats

	Durée de vie moyenne ± E.T.	Nombre total moyen de descendants ± E. T.	Nombre moyen de descendants/jour ± E. T.
avec Hôtes sains	31,4 ± 12,4	170,0 ± 97,4	5,7 ± 1,6
avec Hôtes parasités	19,8 ± 8,9	60,6 ± 36,2	3,5 ± 1,6

Tableau 6 – Longévité et nombre total de descendants et par jour de ponte des femelles *E. vuilleti* en présence d'hôtes sains ou parasités par *D. basalis*

La durée de vie moyenne est très significativement plus courte en présence d'hôtes parasités qu'en présence d'hôtes sains (MW ; P-value < 0.001). La doyenne des femelles en présence d'hôtes sains a vécu 60 jours alors que son homologue en présence d'hôtes parasités n'a vécu que 40 jours.

Le nombre total moyen de descendants est également significativement beaucoup plus faible en présence d'hôtes parasités (60,6) qu'en présence d'hôtes sains (170) (MW ; P-value < 0.001). Le succès reproducteur de femelles *E. vuilleti* exploitant des patches d'hôtes fortement parasités par *D. basalis* est donc réduit de plus de la moitié. Cette réduction du

nombre de descendants n'est pas imputable uniquement à la réduction de la survie de la femelle. En effet, le rapport du nombre de descendants sur la durée de vie est également significativement plus faible en présence d'hôtes parasités par *D. basalis* qu'en présence d'hôtes sains (Student ; P-value <0.001).

4- Discussion

Les conditions de l'étude olfactométrique n'ont pas permis de mettre en évidence une influence de l'odeur des hôtes parasités par *D. basalis* sur le comportement locomoteur des femelles *E. vuilleti*, même à courte distance. L'odeur de graine semble diminuer très légèrement le temps d'arrivée sur la graine, comme l'avait décrit Cortesero *et al.* (1993). L'odeur de graines contenant des hôtes parasités ou sains ne semble pas avoir d'influence sur le comportement des femelles. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer l'absence d'influence du parasitisme sur le comportement locomoteur des femelles *E. vuilleti* :

① Soit la discrimination interspécifique s'effectue au contact grâce à des stimuli gustatifs, suivant ainsi le cas général décrit par Vinson (1985). Cependant les expériences de choix simple ont montré que cette discrimination intervenait généralement avant la montée de la femelle sur la graine.

② Soit la quantité d'hôtes sains ou parasités (de 3 à 8) utilisés comme source d'odeur ne permet pas le maintien d'une concentration suffisante de molécules volatiles pour permettre leur perception. Cette hypothèse est peu crédible si l'on considère que la discrimination est possible jusqu'à une semaine après la ponte, ce qui implique une quantité importante de substance.

③ Soit le protocole expérimental choisi est inadapté pour mettre en évidence la discrimination par *E. vuilleti* des hôtes parasités par *D. basalis*. La distance, la lumière, le flux d'air ou le dispositif peuvent perturber les femelles *E. vuilleti*. Une grande variabilité interindividuelle a été constatée quelles que soient les conditions, de nombreuses femelles restant immobiles à l'extrémité du tube, alors que d'autres présentaient des déplacements sinueux, d'autres encore avaient un déplacement rectiligne orienté et parcouraient les 15 cm du tube en moins de 6 secondes. Différents autres dispositifs ont été testés, mais aucun n'a permis de mettre en évidence l'expression à distance de la discrimination interspécifique.

L'utilisation par *E. vuilleti* des traces odorantes d'exploitation de *D. basalis* ne semble pas constituer un avantage en temps significatif lié à la localisation d'hôtes à distance. Cependant les expériences de choix (Chap. 1 I) ont montré une action au moins à très courte

distance aboutissant au choix souvent très rapide de l'hôte parasité. Si le gain de temps semble limité avant l'arrivée sur la graine, l'utilisation des traces d'exploitation de *D. basalis* pourrait présenter un gain lors de la phase de prospection externe : La prospection externe et interne ayant abouti à l'acceptation de l'hôte par la femelle *D. basalis*, cet hôte est propice au développement de la descendance de *D. basalis* ou de *E. vuilleti*, ces deux espèces étant inféodées aux mêmes hôtes. La phase d'exploration antennaire permettant à la femelle *E. vuilleti* d'évaluer la qualité de l'hôte pourrait être réduite en présence d'hôtes parasités par *D. basalis*. La femelle *E. vuilleti* en recherchant les hôtes portant une trace odorante de l'exploitation par *D. basalis* pourrait en outre éviter d'engager une séquence comportementale de ponte sur des hôtes de mauvaise qualité ou inaccessibles. Cette hypothèse expliquerait la diminution importante, bien que non significative, de la durée de la phase d'exploration externe de l'hôte lors de la réutilisation de l'orifice de *D. basalis* (Exp. 2).

Pour exploiter un hôte sain, la femelle *E. vuilleti* utilise comme chemin d'accès préférentiel le forage de son propre orifice. Ce résultat contredit les observations de Leveque (1991), qui a observé que 85% des femelles empruntent la galerie de l'hôte. Cependant, la proportion de femelles qui choisissent de forer leurs propres orifices ou d'emprunter la galerie de l'hôte pourrait dépendre de l'épaisseur de la paroi de la loge. Cette épaisseur diminue avec l'âge et le stade de l'hôte. Les hôtes utilisés dans notre étude étaient des nymphes, la paroi présente alors une épaisseur minimale et est constituée uniquement du tégument de la graine. Les hôtes utilisés dans les travaux de Leveque étaient plus jeunes, au stade L4 ou prénymphe (Leveque *et al.*, 1993), la paroi de la loge à ces stades présente une épaisseur supérieure et comporte une couche dure de cotylédon. Les femelles *E. vuilleti* pourraient adapter le chemin d'accès en fonction de l'effort à fournir pour accéder à l'hôte.

La réutilisation de l'orifice de *D. basalis* semble être un comportement fréquent et préférentiel (58%) des femelles *E. vuilleti* en présence d'hôtes parasités par l'espèce concurrente. Cette réutilisation s'accompagne d'une réduction importante du temps de forage comme l'avait suggéré les observations de Spradbery (1968) chez un autre kleptoparasitoïde, *Pseudorhyssa sternata*. Chez cette espèce, la durée moyenne du forage est de 6 min 12 sec lorsque la femelle réutilise l'orifice de *Rhyssa persuasoria* qui a foré une première fois en 13 min 54 sec. La réduction du temps de forage se répercute sur la durée totale d'exploitation de l'hôte. Le gain en temps d'exploitation totale que nous avons déterminé (9 min 28 sec par rapport à la galerie et 11 min 49 sec par rapport au forage de l'orifice) est supérieur à celui décrit par Terrasse (1986) : Il avait déterminé que sur un temps d'exploitation total de 25 min environ pour un hôte sain (sans préciser le chemin d'accès), l'exploitation d'un hôte parasité

par *D. basalis* réduisait ce temps de 4 min 20 sec. Cette différence peut provenir de l'absence dans l'étude de Terrasse de différenciation des chemins d'accès empruntés par la femelle.

La durée d'exploration interne, bien que non significativement différente, est maximale lors de la réutilisation de l'orifice de *D. basalis*. Cette augmentation de la durée d'exploration interne, comprenant l'inspection de l'hôte et la ponte, si elle est vérifiée, pourrait correspondre à la durée nécessaire à la découverte de l'œuf de *D. basalis* et à sa destruction.

Outre le gain en temps non négligeable mais relativement peu important si on considère qu'une femelle dispose de la journée entière pour pondre moins de 10 œufs en moyenne, la réutilisation de l'orifice de *D. basalis* pourrait s'accompagner de gains à d'autres niveaux :

① Gain en énergie : la perforation de la paroi de la loge constituée du tégument et d'une épaisseur variable de cotylédon nécessite sans aucun doute un effort musculaire important. S'il est difficilement quantifiable, cet effort pourrait mobiliser une quantité importante d'énergie, liée à la durée de la phase de forage. La réduction significative de la durée de la phase de forage et l'effort à fournir potentiellement moins important pour réutiliser un orifice que pour le forer par ses propres moyens pourrait se traduire par une économie d'énergie, notamment sous forme de glucides mobilisés. Or chez les parasitoïdes et spécialement chez *E. vuilleti*, les glucides sont connus pour avoir un effet décisif sur la longévité (Jervis & Kidd, 1986 ; Heimpel & Collier, 1996 ; Giron *et al.*, 2002) et sur la fécondité (Collier, 1995). L'économie en énergie liée à la réutilisation répétée et quasi-systématique de l'orifice de *D. basalis* pourrait augmenter le succès reproducteur de la femelle. Le chemin d'accès emprunté, selon l'énergie nécessaire pour atteindre la loge, pourrait avoir une influence sur la décision de la femelle de pondre ou d'effectuer un nourrissage sur l'hôte. La proportion des chemins d'accès employés pourrait modifier le Trade-off évolutif entre reproduction actuelle et reproduction future : la femelle pourrait adapter son choix du chemin d'accès en fonction de l'énergie dont elle dispose, et ce choix pourrait influencer sa décision de pondre ou de se nourrir, modifiant le bilan énergétique.

② Gain en survie des adultes : dans la nature, la phase de ponte est souvent une période présentant une vulnérabilité élevée pour la femelle. Chez les parasitoïdes, une femelle engagée dans un forage, l'exploration interne ou la ponte proprement dite, est plus vulnérable aux prédateurs qu'une femelle pouvant se mouvoir librement. L'engagement dans une séquence de ponte, outre l'entrave physique due à l'insertion de l'ovipositeur, semble bloquer

les comportements réflexes de fuite. Une réduction du temps de forage et d'exploitation par la réutilisation de l'orifice d'une autre femelle peut réduire la mortalité des femelles adultes (van Alebeek *et al.*, 1993). Ce phénomène a été étudié au niveau intraspécifique par Papaj *et al.* (1989) chez un Diptère phytophage, *Ceratitis capitata*, et par Takasu & Hirose (1991) chez l'Hyménoptère parasitoïde *Ooencyrtus nezarae*. Le risque des descendants de mourir à cause de la compétition larvaire serait moins important que le risque de mortalité de la femelle associé à un forage ou une recherche prolongée d'un hôte sain. Chez *E. vuilleti*, le comportement ovicide et larvicide, ainsi que la supériorité des larves lors des combats larvaires, augmentent fortement les chances de survie des descendants. Ce gain en survie des femelles adultes dans notre système dépend de la saison. Pendant la période de culture et dans l'écosystème, des oiseaux, des mammifères et reptiles insectivores ainsi que des insectes prédateurs et des araignées pourraient potentiellement présenter un risque de prédation important. En revanche, à l'intérieur des greniers, où la compétition est particulièrement importante, seuls quelques rares prédateurs, comme certains lézards ou des fourmis peuvent présenter une menace. Outre le fait que les greniers soient des espaces clos et donc inaccessibles aux oiseaux, l'espace entre les graines à l'intérieur du grenier ne peut permettre le passage d'animaux de taille supérieure à quelques millimètres, comme les lézards. La prédation des fourmis sur ces parasitoïdes n'a en outre jamais été étudiée.

③ Gain en accès à l'hôte : La structure de l'ovipositeur et les capacités de forage des deux espèces ne sont pas équivalentes. L'ovipositeur d'*E. vuilleti* est long et flexible (Terrasse, 1986 ; van Alebeek, 1991) alors que celui de *D. basalis* est plus court et plus épais (Gómez-Alvarez, 1980) et possède, à l'extrémité des valves 2, des denticulations formant une sorte de scie permettant une perforation très efficace de la graine (Gauthier, 1996). D'après nos mesures, l'ovipositeur d'*E. vuilleti* mesure 2,85 mm de long pour un diamètre de 40 µm environ et celui de *D. basalis*, visiblement plus rigide, mesure 1,24 mm de long pour 50 µm de diamètre. La longueur de l'ovipositeur d'*E. vuilleti* mesurée est inférieure à celle mentionnée par Cortesero (1994), qui avait déterminé une longueur moyenne de $3,34 \pm 0,1$ mm. Ces différences morphologiques entre *D. basalis* et *E. vuilleti* se traduisent par des capacités de forage différentes : Lors d'expériences préliminaires sur des gélules sans pré-trou, les femelles *D. basalis* ont été capables de forer la cellulose dure et résistante et d'exploiter l'hôte, ce dont les femelles *E. vuilleti* ont semblé incapables. De plus, des observations effectuées par Leveque (1991) suggèrent que les tentatives d'accès par la galerie de l'hôte ne sont pas toujours efficaces, les femelles *E. vuilleti* quittant une proportion significative d'hôtes inaccessibles pour elles. La réutilisation de l'orifice de *D. basalis*

pourrait permettre aux femelles *E. vuilleti* d'accéder à une population d'hôtes qui, sans l'exploitation du compétiteur, aurait été perdue pour elles. Ce facteur peut être particulièrement déterminant en présence des graines séchées et dures ou lorsque les hôtes accessibles par les propres moyens de la femelle *E. vuilleti* sont rares. Il pourrait également permettre à *E. vuilleti* d'accéder à des stades plus jeunes et donc plus profondément enfouis dans la graine.

Le rapport des dimensions de l'ovipositeur de *E. vuilleti* et de *D. basalis* concorde avec celui du kleptoparasitoïde *Pseudorhyssa sternata* et de son espèce concurrente *Rhyssa persuasoria*. Le kleptoparasitoïde *P. sternata* possède un ovipositeur plus long et plus fin que *R. persuasoria* (Spradbery, 1968). Un ovipositeur long et fin semble être une caractéristique morphologique liée au kleptoparasitisme. Deux hypothèses peuvent être formulées :

a) Soit la différence morphologique préexistait à l'apparition du kleptoparasitisme. Le kleptoparasitisme aurait alors été sélectionné chez l'espèce présentant l'ovipositeur le plus long et le plus flexible, et donc le moins performant pour forer. Le kleptoparasitisme a été décrit chez trois Ichneumonidae (Arthur *et al.*, 1964 ; Spradbery, 1968 ; Price, 1970) et un Eupelmidae, *E. vuilleti*. Ces quatre espèces appartiennent à des familles dont la majorité des espèces est pourvue d'un ovipositeur long et flexible.

b) Soit un ovipositeur plus long, plus fin et plus flexible a été sélectionné chez une espèce kleptoparasitoïde pour faciliter son insertion dans l'orifice et la recherche de l'œuf de l'espèce concurrente. Price (1970a) a observé chez l'Ichneumonidae kleptoparasitoïde *Pleolophus indistinctus* un ovipositeur apparemment plus long que nécessaire à la simple exploitation de l'hôte. Chez *E. vuilleti*, Cortesero (1994) a estimé la longueur de la galerie larvaire à $1,97 \pm 0,5$ mm, alors que l'ovipositeur est presque deux fois plus long ($3,34 \pm 0,1$ mm). L'allongement de l'ovipositeur serait alors une adaptation permettant d'augmenter l'efficacité du kleptoparasitoïde. *Eupelmus orientalis* est une espèce proche phylogénétiquement et morphologiquement d'*E. vuilleti*, sympatrique, qui exploite les mêmes hôtes, légèrement plus grande, et qui ne pratique pas le kleptoparasitisme. *E. orientalis* possède également un ovipositeur long et flexible (2,96 mm de long pour 66 μ m de diamètre). Le rapport entre la longueur de l'ovipositeur et la longueur de la femelle, de la tête à l'extrémité de l'abdomen, est de 0,67 chez la femelle *E. orientalis* et légèrement supérieur (0,84) chez la femelle *E. vuilleti*. L'ovipositeur pourrait être une adaptation primaire à l'exploitation d'un spectre d'hôtes important, d'hôtes de taille importante, où d'hôtes enfouis profondément à l'intérieur du substrat végétal. Cependant, la pression de sélection d'un long

ovipositeur pourrait intervenir par le biais de sa capacité à éliminer plus de compétiteurs, ce qui augmenterait la survie de la descendance, et donc le succès reproducteur de la femelle (Price, 1970).

Dans les conditions dans lesquelles a été étudié le succès reproducteur, la compétition intrinsèque avec *D. basalis* diminue de façon importante la longévité et la fécondité des femelles *E. vuilleti*. Ces résultats contredisent la théorie de van Alphen & Visser (1990). L'apparition du kleptoparasitisme chez *E. vuilleti* n'est pas lié à des chances de survie de sa descendance plus importantes sur des hôtes parasités par *D. basalis* que sur des hôtes sains. La réduction de la fécondité peut s'interpréter comme la conséquence d'un certain risque de mortalité des larves *E. vuilleti* lors des combats larvaires. La supériorité des larves *E. vuilleti* dans les combats larvaires (Leveque *et al.*, 1993) n'est peut être pas systématique, contrairement aux conditions d'évolution du kleptoparasitisme proposées par van Alphen & Visser (1990).

Curieusement, en présence d'hôtes parasités par *D. basalis*, les femelles *E. vuilleti* subissent une réduction de leur durée de vie en plus de la réduction de leur fécondité. Cette réduction de la durée de vie contredit le gain en énergie invoqué lors de la réutilisation de l'orifice de *D. basalis* par rapport à la réutilisation de la galerie de l'hôte ou au forage propre de l'orifice. Les interférences directes entre adultes ne peuvent être invoquées dans cette diminution de l'espérance de vie, les femelles *E. vuilleti* testées ont exploité leurs hôtes isolément, en l'absence d'adultes conspécifiques ou allospécifiques. Le lien le plus probable entre les hôtes parasités et les femelles *E. vuilleti* les exploitant réside dans le nourrissage sur l'hôte. Le parasitisme par *D. basalis* pourrait rendre l'hôte impropre au nourrissage des femelles *E. vuilleti*. Cependant, les raisons pour lesquelles l'hôte serait rendu non consommable restent énigmatiques. Les femelles *D. basalis* ne semblent pas piquer fréquemment leurs hôtes comme le feraient les femelles *E. vuilleti*, l'injection d'un venin ne paraît donc pas pouvoir expliquer ce phénomène. D'autre part, les hôtes utilisés n'ont été parasités que depuis 24 heures, les parasitoïdes n'ont pas encore éclos. Les œufs sont souvent déposés sur la paroi de la loge et ne paraissent pas capables de modifier la qualité chimique de l'hémolymphe de l'hôte, consommée durant le nourrissage (Giron *et al.*, 2002). Le nourrissage sur l'hôte procure à la femelle une quantité importante de sucres (sucrose, trehalose) connus pour être l'élément critique déterminant la longévité des parasitoïdes (Jervis & Kidd, 1986 ; Heimpel & Collier, 1996). La même expérience a été répétée en fournissant aux femelles *E. vuilleti* un coton imbibé d'eau sucrée renouvelé tous les jours, dans le but de

compenser au moins au niveau des glucides, l'incapacité potentielle d'effectuer des nourrissages en présence d'hôtes parasités. Le même effet délétère a été observé au niveau de la fécondité et de la longévité des femelles. Le nourrissage sur l'hôte ne semble pas être impliqué dans la réduction de la survie des femelles *E. vuilleti*. Ce phénomène significatif et reproductible reste une énigme. Une autre explication pourrait résider dans le comportement des femelles ; Nous avons constaté que la perception des substances protéiques produites par la glande à venin (chap. 2) induit une stimulation du comportement de ponte, qui se traduit par un nombre important de piqûres sur les hôtes parasités. Si ces comportements aboutissent, ils pourraient s'accompagner d'une ponte massive d'œufs sur le même hôte parasité. La ponte massive et simultanée d'œufs sur les mêmes hôtes pourrait induire un épuisement rapide des réserves de la femelle et expliquer l'espérance de vie plus courte des femelles en présence d'hôtes parasités par *D. basalis*. Ce phénomène chez une espèce solitaire se traduirait alors par une réduction du nombre de larves par suppression physique et expliquer la diminution du nombre de descendants constaté en présence d'hôtes parasités par *D. basalis*.

En présence d'hôtes en quantité non limitante, dont une très forte proportion est parasitée par l'espèce concurrente, la compétition avec *D. basalis* affecte de façon importante le succès reproducteur des femelles *E. vuilleti*, tant au niveau de leur fécondité que de leur survie. La compétition pourrait également avoir un effet sur la croissance de larves, bien que nous n'ayons pas étudié ce phénomène : Dans les élevages, on observe fréquemment une grande variabilité de taille des adultes *E. vuilleti* mâles ou femelles, avec certains individus nains qui pourraient présenter un succès reproducteur réduit. Les combats larvaires, l'exploitation partielle de l'hôte par la larve précédente ou le développement de la larve *E. vuilleti* en hyperparasitoïde de la larve de *D. basalis* beaucoup plus petite qu'une larve de *C. maculatus*, pourrait affecter la croissance et augmenter la fréquence de descendants nains.

Malgré le kleptoparasitisme, les femelles *E. vuilleti* subissent une réduction de leurs succès reproducteurs en présence d'hôtes parasités par *D. basalis*. Ne disposant pas de population de *E. vuilleti* non kleptoparasitoïde, il nous est impossible de déterminer quel serait le succès reproducteur si cette stratégie n'avait pas été sélectionnée par *E. vuilleti*. La population malgache d'*E. vuilleti*, s'il s'avère que *D. basalis* n'est pas sympatrique de cette population, aurait peut être permis cette comparaison. Le nombre théorique de descendant d'une femelle *E. vuilleti* ne présentant ni recherche ni évitement du multiparasitisme, ni comportement ovicide ni agressivité supérieure de la larve, peut cependant être estimé dans les conditions de l'étude. D'après les travaux de Wai & Fujii (1990) sur la compétition intraspécifique chez *D. basalis*, avec un délai de 24 h, dans 70% des cas, la larve résidente

gagne le combat. Si la larve d'*E. vuilleti* présentait les mêmes chances qu'une larve de *D. basalis*, le nombre de descendants dans les conditions de l'étude pourrait être réduit de 70% minimum (si l'on considère qu'*E. vuilleti* ne pond qu'un œuf par hôte). La réduction réelle du nombre de descendants pour notre population kleptoparasitoïde et capable d'ovicide a été estimée à 29%, à durée de vie égale. La stratégie de recherche du multiparasitisme d'*E. vuilleti* en présence d'hôtes parasités par *D. basalis*, associée à son comportement ovicide et larvicide, ne lui permettrait donc que de compenser partiellement la réduction de son succès reproducteur lié à la compétition.

L'évitement de la compétition semblerait être une stratégie plus efficace, puisqu'en présence d'hôtes sains, le succès reproducteur de *E. vuilleti* est supérieur à celui observé en présence d'hôtes parasités par *D. basalis*. Cependant, l'évitement de la compétition avec *D. basalis* semble difficile : *D. basalis* est présente sur l'ensemble de l'aire de répartition de *E. vuilleti*, et possède des capacités de dispersion (Alzouma & Doumma, 1996), de découverte de l'hôte (Verma, 1990 ; Monge & Cortesero, 1996), et d'exploitation importante (Ouedraogo *et al.*, 1996). La concentration des hôtes à l'intérieur des greniers augmente la probabilité de rencontre de l'espèce concurrente. De plus les capacités de forage supérieures de *D. basalis* lui permet d'atteindre des hôtes profondément enfouis dans la graine et donc à des stades plus jeunes que ceux accessibles par *E. vuilleti*. En présence de *D. basalis*, *E. vuilleti* pourrait n'avoir à sa disposition que des hôtes sains inaccessibles ou des hôtes parasités par *D. basalis*. Dans ces conditions, la stratégie d'évitement du multiparasitisme compromettrait fortement les chances d'*E. vuilleti* de se reproduire. La recherche des hôtes parasités et la destruction de la compétitrice pourrait être la seule stratégie adaptative possible en condition de compétition intense pour assurer le maintien des populations d'*E. vuilleti* au sein des greniers.

C- DETERMINISME DE LA DISCRIMINATION INTERSPECIFIQUE

La réponse à la reconnaissance d'un marquage est susceptible d'être fixée génétiquement, car la variabilité du signal est sensée être faible (van Baaren & Boivin, 1997). Dans notre système, la discrimination est effectuée à partir d'un indice d'exploitation, présentant potentiellement une variabilité plus importante. Chez les Hyménoptères sociaux, de nombreuses études ont démontré un déterminisme génétique de la reconnaissance coloniale, associé à une variation des profils cuticulaires au moins en partie déterminée génétiquement (Breed *et al.*, 1995 ; Gamboa, 1996 ; Breed, 1997 ; Vander Meer & Morel, 1998 ; Lenoir *et al.*, 1999). Les études chimiques des sécrétions cuticulaires et de glande de Dufour de souches de *D. basalis* d'origines géographiques différentes ont montré une certaine variabilité dans l'abondance relative des différents composés. Cette variation géographique des hydrocarbures cuticulaires de *D. basalis* pourrait être déterminée génétiquement. Le bouquet reconnu par *E. vuilleti* pourrait également être déterminé génétiquement.

Des études portant pour la plupart sur la discrimination intraspécifique ont mis en évidence l'influence de l'expérience des femelles sur la décision d'accepter ou de refuser de pondre sur un hôte parasité. La discrimination, peut, selon certains auteurs nécessiter un apprentissage, une expérience des hôtes non parasités (van Lenteren & Bakker, 1975 ; van Lenteren, 1976 ; Klomp *et al.*, 1980). En effet, chez de nombreuses espèces capables de discrimination intraspécifique, les femelles inexpérimentées acceptent généralement de pondre dans des hôtes parasités alors que les femelles expérimentées les rejettent. L'apprentissage est très répandu chez les hyménoptères parasitoïdes (Prokopy & Lewis, 1993 ; van Baaren & Boivin, 1998), chez lesquels il a été démontré chez les larves (apprentissage pré imaginal) et chez les adultes à partir de stimuli visuels et olfactifs (Turlings *et al.*, 1993), notamment pour adapter sa stratégie de recherche de l'hôte à l'environnement et aux défenses de l'hôte. Certains travaux cependant contestent le rôle de l'apprentissage dans la mise en place de la discrimination (van Alphen *et al.*, 1987 ; van Alphen, 1988). Le superparasitisme des femelles naïves ne serait pas du à un manque d'expérience, mais serait lié à un gain en succès reproducteur supérieur à celui des femelles expérimentées.

La variabilité génétique, tout comme l'apprentissage, pourrait permettre aux femelles *E. vuilleti* d'adapter leur réponse comportementale en fonction des bénéfices à plus ou moins long terme (accès à un site de ponte, augmentation de la fitness) dans différentes conditions.

Nous avons tout d'abord étudié la variabilité génétique de la reconnaissance interspécifique et son rôle dans l'adaptation de son expression. Nous avons ensuite étudié l'évolution de la performance de femelles *E. vuilleti* confrontées à des expériences de choix successives dans différentes conditions. Enfin nous nous sommes interrogé sur le rôle de ces phénomènes dans l'expression par la femelle *E. vuilleti* de la discrimination interspécifique.

1- Variabilité génétique de la discrimination interspécifique

Quel que soit le type d'hôte parasité présenté lors des tests biologiques, une proportion non négligeable de femelles ne s'intéresse pas aux hôtes présentés ou choisit l'hôte sain. Des expériences préliminaires ont montré que lorsque l'on répète la même expérience, ce sont souvent les mêmes individus qui ne choisissent pas ou qui choisissent l'hôte sain. Il semble donc qu'une partie seulement des femelles d'une population recherche le multiparasitisme. Cette variabilité pourrait avoir une base génétique.

Nous disposons d'une population mexicaine de *D. basalis*, que les femelles *E. vuilleti* semblent reconnaître ou préférer plus faiblement, c'est à dire qu'une proportion importante de femelles *E. vuilleti* semblent incapables de reconnaître les hôtes parasités par cette population. Cependant, l'indice de préférence moyen est non nul, il semble qu'une partie des femelles soit capable de reconnaître ces hôtes. Dans le but de déterminer si la capacité de discrimination avait une base génétique, nous avons voulu savoir si la sélection artificielle d'individus discriminants augmentait l'indice de préférence de la population.

1-1 Procédure expérimentale

Trente femelles *E. vuilleti*, âgées de 3 jours, accouplées et expérimentées à la ponte sur graines ont été placées dans des boîtes de Pétri et identifiées individuellement. Elles ont été soumises successivement, à 1 heure d'intervalle, à deux tests biologiques présentant un choix entre deux graines à un hôte, l'une contenant un hôte sain, la seconde contenant un hôte parasité par une femelle *D. basalis* mexicaine 24 heures auparavant. Ces tests ont permis le calcul de l'indice de préférence moyen de la population d'origine.

Une fois les deux tests effectués, les femelles ont été sélectionnées selon le critère suivant : lors des deux tests, la femelle a choisi l'hôte parasité en premier, puis y est resté pour pondre. La ponte a été vérifiée après l'expérience par dissection sous loupe binoculaire. Les femelles ainsi sélectionnées ont été regroupées et mises à pondre sur des graines contenant des hôtes.

Trente filles de ces femelles sont accouplées avec leurs frères et subissent à nouveau deux tests successifs en situation de choix entre un hôte sain et un hôte parasité par *D. basalis* mexicain. La sélection a ainsi été répétée sur 6 générations de femelles *E. vuilleti*.

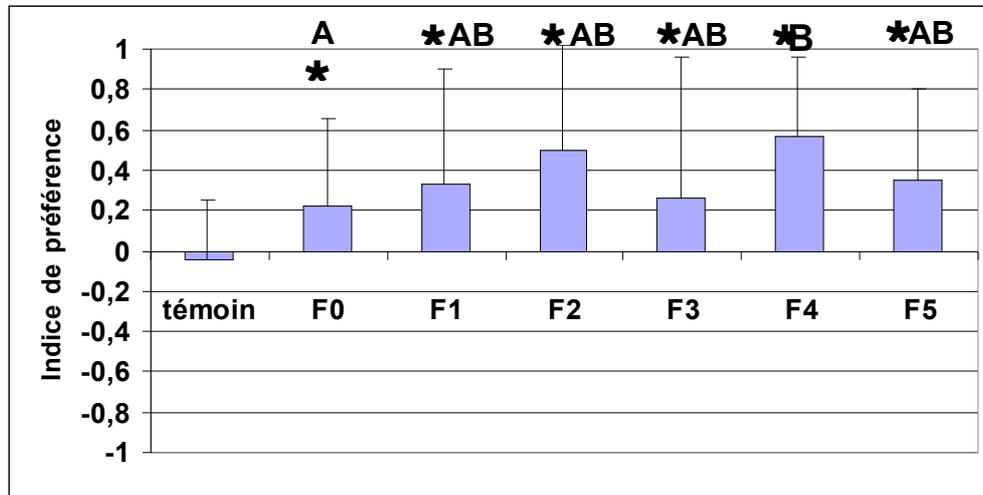


Figure 61 – Evolution de la préférence (+ s.e.m.) pour les hôtes parasités par *D. basalis* mexicain des générations successives d'*E. vuilleti* après sélection.

* : Significativement différent du témoin (MW ; P-value < α).

Les lettres correspondent aux regroupements effectués grâce au test de Dunn-Sidak ($\alpha = 0,05$).

1-2 Résultats (Fig. 61)

L'indice de préférence augmente régulièrement entre la population d'origine (0,22) et la première génération fille (0,33) et entre la première et la deuxième génération fille (0,50). L'indice diminue alors fortement à la troisième génération (0,27) puis atteint une valeur maximale en F4 (0,57) pour diminuer en F5 (0,35). L'indice de préférence moyen est significativement différent entre la population d'origine et la population à la quatrième génération. Les générations F1, F2, F3 et F5 présentent des indices de préférence moyens intermédiaires. L'indice de préférence semble globalement augmenter avec les générations. L'indice de préférence moyen atteint à la quatrième génération est comparable à celui obtenu en présence d'hôte parasité par la population sympatrique soudanienne. La sélection des individus qui préfèrent les hôtes parasités par *D. basalis* mexicain semble augmenter la proportion de femelle qui recherche le multiparasitisme à la génération suivante.

2- Rôle de l'apprentissage dans l'expression de la discrimination interspécifique

Les expériences préliminaires menées dans le chapitre 2 ont été réalisées avec des femelles *E. vuilleti* naïves, n'ayant jamais rencontré d'hôtes parasités par *D. basalis*. Malgré

cette inexpérience, elles expriment une préférence nette et rapide pour les hôtes parasités par *D. basalis*, une majorité (87%) des femelles choisissant la graine contenant l'hôte parasité en premier. Ces résultats permettent d'établir l'existence d'une part innée importante dans l'expression de la discrimination interspécifique (van Alphen *et al.*, 1987 ; van Alphen, 1988) comme cela a été décrit chez certains Pteromalidae (Nell & van Lenteren, 1982), Aphidiidae (Völk & Mackauer, 1990) et Aphelinidae (Bai & Mackauer, 1990). Cependant, un déterminisme génétique n'exclut pas un rôle de l'apprentissage dans le renforcement de ce comportement. D'autre part, l'apprentissage peut être envisagé comme une simple expérience préalable de l'exploitation d'un hôte sain (van Lenteren, 1981), cette expérience étant toujours acquise dans le cadre du test biologique durant la phase de préparation des femelles parasitoïdes. Dans le but de déterminer le rôle de l'apprentissage, nous avons étudié la réponse de femelles *E. vuilleti* que nous avons soumises à plusieurs tests biologiques successifs. Nous avons ensuite tenté de déterminer quel facteur pouvait représenter une récompense suffisante permettant la réalisation du processus d'apprentissage. Les expériences ont été en partie réalisées par Paula Garcia Boix au cours de son stage de maîtrise.

2-1 Procédure expérimentale

A J0, 3 lots 60 femelles *E. vuilleti* émergentes ont été placées individuellement dans des boîtes de Pétri avec dix graines (Exp. 1) ou dix gélules (Exp. 2 et 3) contenant des hôtes sains, quelques mâles *E. vuilleti* et un coton imbibé d'eau sucrée à 10%. A J3, les hôtes étaient retirés des boîtes et les femelles sont restées isolées individuellement avec de l'eau sucrée renouvelée tous les jours jusqu'à la fin de l'expérience. Pour chaque expérience, trois tests biologiques ont ensuite été réalisés avec les mêmes femelles à J4, J6 et J7 pour des raisons pratiques de planning. Ce type de données se prête à une analyse par ajustement de courbes telle qu'elle a été décrite dans le chapitre I paragraphe I C-3-1 « dynamique de l'arrivée des femelles sur les hôtes ».

Expérience 1 : Les femelles ont été placées en situation de choix entre une graine contenant un unique hôte parasité par *D. basalis* 24 h avant et une graine contenant un unique hôte sain. Le parasitisme par *D. basalis* était vérifié après l'expérience en disséquant les graines pour observer la présence d'un œuf de *D. basalis* de forme différente de celui d'*E. vuilleti* (van Alebeek *et al.*, 1993).

Expérience 2 : Les femelles ont été placées en situation de choix entre une gélule contenant un hôte sain et une gélule contenant un hôte parasité par *D. basalis* 24 heures avant l'expérience. Le parasitisme était vérifié par observation sous loupe binoculaire de la présence

d'au moins un œuf. Des trous d'aiguilles sont ménagés à la surface, à l'origine pour permettre la circulation de l'air et la survie de l'hôte. Dans ce système, la femelle *E. vuilleti* peut accéder facilement à l'hôte en réutilisant ces trous.

Expérience 3 : Les gélules présentées aux femelles *E. vuilleti* ne présentent pas de pré-trous à la surface. Des expériences préliminaires ont démontré que *E. vuilleti* est pratiquement incapable de forer son propre trou dans la cellulose dure de la gélule (Jaloux, observations personnelles), alors que *D. basalis* y parvient aisément et exploite sans difficulté ce type de système artificiel. Le seul accès à l'hôte possible pour les femelles *E. vuilleti* réside dans la réutilisation du forage de *D. basalis*.

2-2 Traitement des données

La variation du nombre de femelles qui ne vont pas sur les graines peut s'exprimer sous forme :

$$dN_{OUT}(t)/dt = -pN_0 (N_{OUT}(t) - N_F)$$

avec :

N_0 : nombre total de femelles

N_{OUT} : nombre de femelles n'étant sur aucune graine

N_F : nombre de femelles sur aucune graine à la fin de l'observation

p : probabilité d'aller sur une graine/unité de temps

$$dN_{OUT}(t) / (N_{OUT}(t) - N_F) = -p N_0 dt$$

$$\ln [K(N_{OUT}(t) - N_F)] = -p N_0 t + K'$$

$$K(N_{OUT}(t) - N_F) = e^{-p N_0 t + K'}$$

$$N_{OUT}(t) - N_F = K'/K * e^{-p N_0 t}$$

$$N(0) - N_F = K'/K * e^{-p N_0 * 0} \text{ entraîne } K'/K = N_0 - N_F$$

$$\boxed{N_{OUT}(t) = N_F + (N_0 - N_F)e^{-p N_0 t}}$$

Le nombre de femelles qui vont sur les graines N_{CHOICE} peut alors être écrit sous la forme :

$$N_{CHOICE}(t) = N_0 - N_{OUT}(t)$$

$$N_{CHOICE}(t) = N_0 - N_F - (N_0 - N_F)e^{-p N_0 t}$$

Soit p_{GP} la probabilité d'aller sur une graine parasitée, N_{GP} le nombre de femelles sur la graine parasitée et N_{GNP} le nombre de femelles sur la graine non parasitée

$$N_{GP}(t) = p_{GP} * N_{CHOICE}(t)$$

$$N_{GP}(t) = p_{GP} * (N_0 - N_F - (N_0 - N_F)e^{-p N_0 t})$$

$$N_{GNP}(t) = (1 - p_{GP}) * N_{CHOICE}(t)$$

$$N_{GNP}(t) = (1 - p_{GP}) * (N_0 - N_F - (N_0 - N_F)e^{-p N_0 t})$$

Ces équations non linéaires sont ajustées aux données par l'algorithme itératif de Simplex sous Matlab. Pour chacun des passages, après vérification de la qualité de l'ajustement, on extrait le paramètre p , c'est à dire la probabilité de choisir une graine. Pour chacun des passages, on exprime alors N_{GP} en fonction de N_{CHOICE} . La droite de régression ajustée à ces données représente un estimateur de la probabilité p_{GP} , c'est à dire la probabilité d'aller sur une graine parasitée. Les p_{GP}^1 , p_{GP}^2 et p_{GP}^3 correspondantes à chacun des trois passages successifs sont alors comparées selon la méthode de comparaison de plusieurs pentes de régressions linéaires simples décrite par Zar (1999). Une valeur de F calculée à comparer à une valeur de F critique permet de déterminer si les trois pentes sont identiques ou non. Dans ce dernier cas, un regroupement est effectué à l'aide d'un test de Tukey.

2-3 Résultats

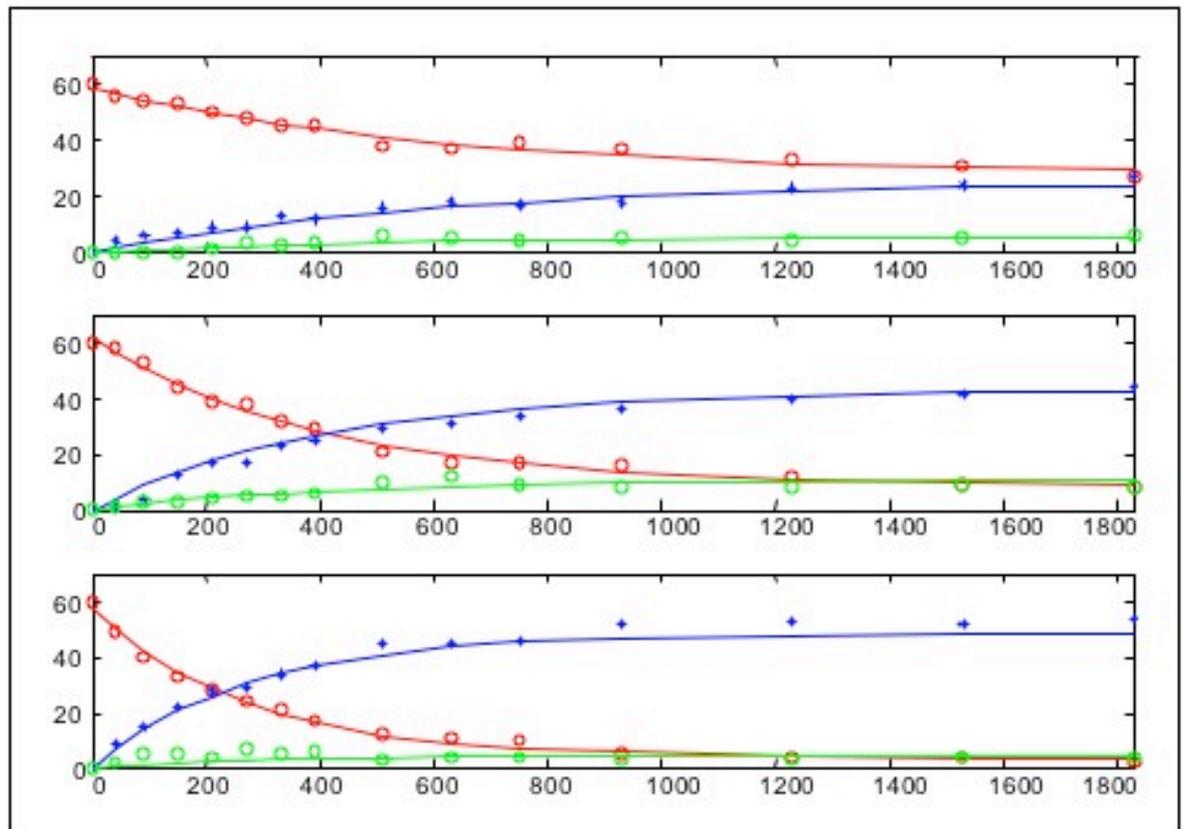


Figure 62 – Ajustement du modèle aux positions des femelles *E. villetti* enregistrées lors de tests biologiques successifs présentant un choix entre une graine contenant un hôte sain et une graine contenant un hôte parasité par *D. basalis*.

- : Nombre de femelles sur aucune des graines
- : Nombre de femelles sur la graine contenant l'hôte sain
- * : Nombre de femelles sur la graine contenant l'hôte parasité.

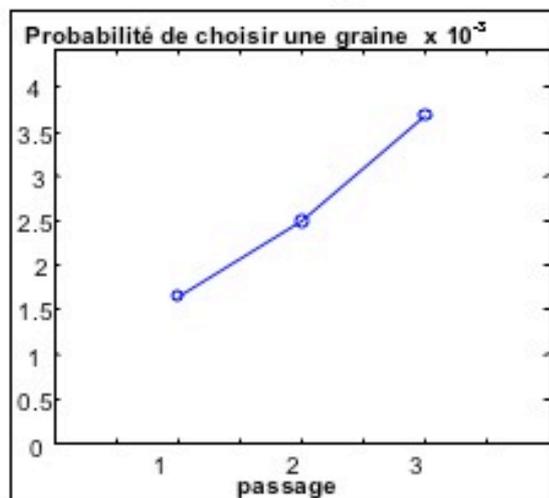


Figure 63 – Evolution de la probabilité de choisir une graine, quelle que soit cette graine, avec l'expérience des femelles *E. villetti*

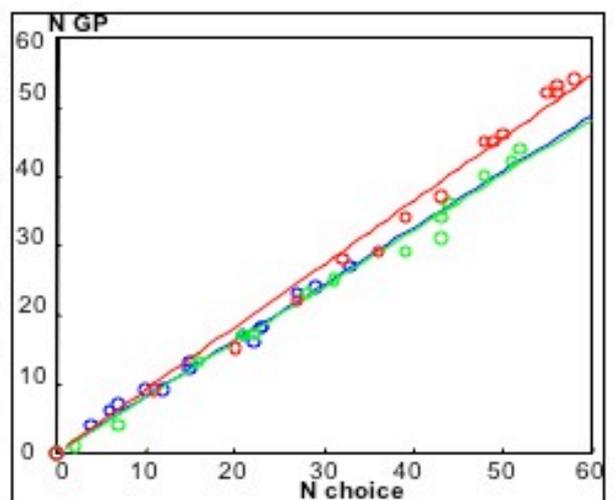


Figure 64 – Evolution de la probabilité d'aller sur la graine parasitée avec l'expérience.

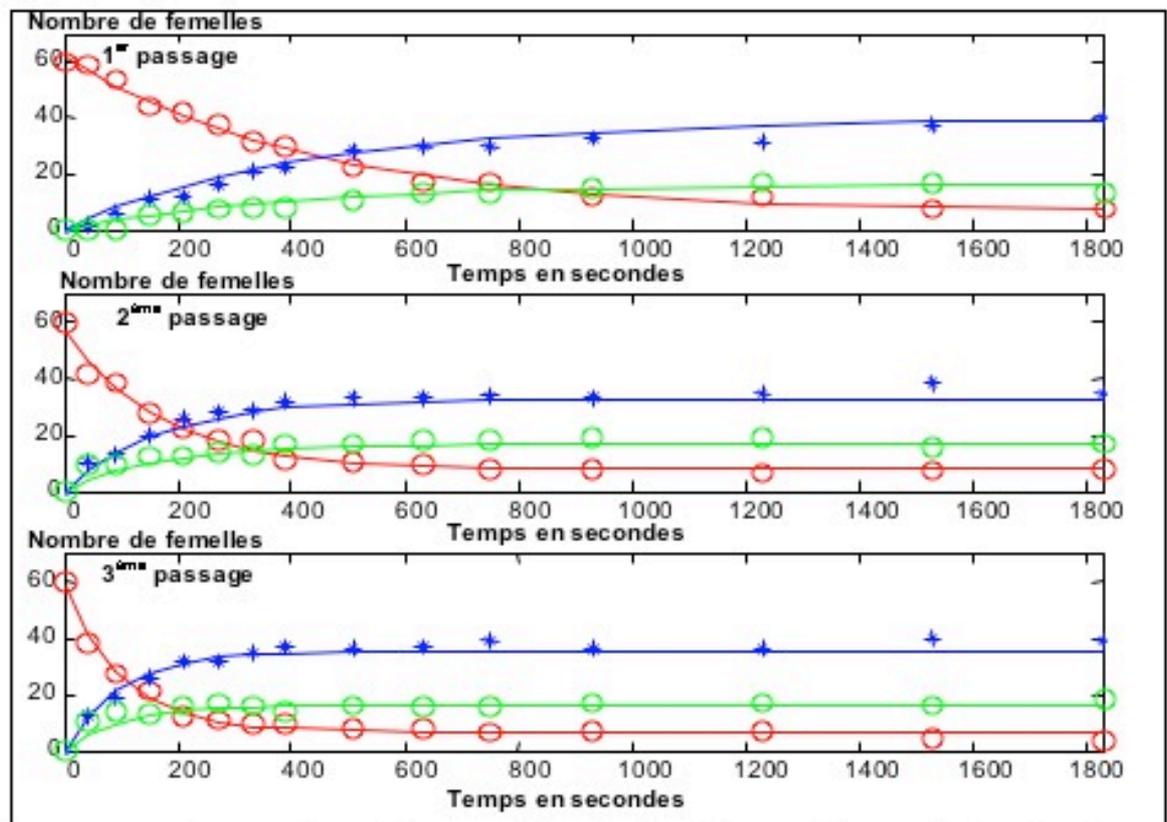


Figure 65 – Ajustement du modèle aux positions des femelles *E. villetti* enregistrées lors de tests biologiques successifs présentant un choix entre une gélule contenant un hôte sain et une gélule contenant un hôte parasité par *D. basalis*.

- : Nombre de femelles sur aucune des gélules
- : Nombre de femelles sur la gélule contenant l'hôte sain
- * : Nombre de femelles sur la gélule contenant l'hôte parasité.

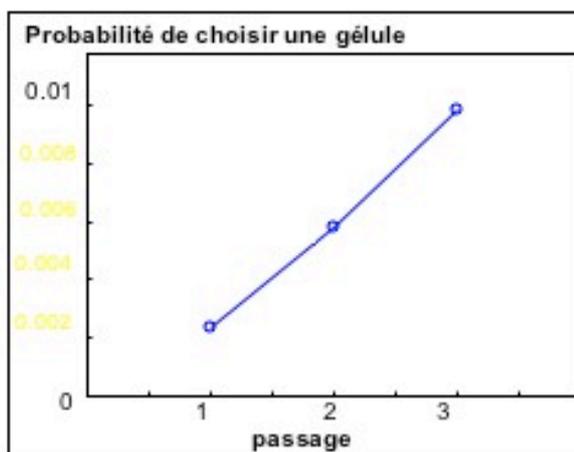


Figure 66 – Evolution de la probabilité de choisir une gélule, quelle que soit cette gélule, avec l'expérience des femelles *E. villetti*

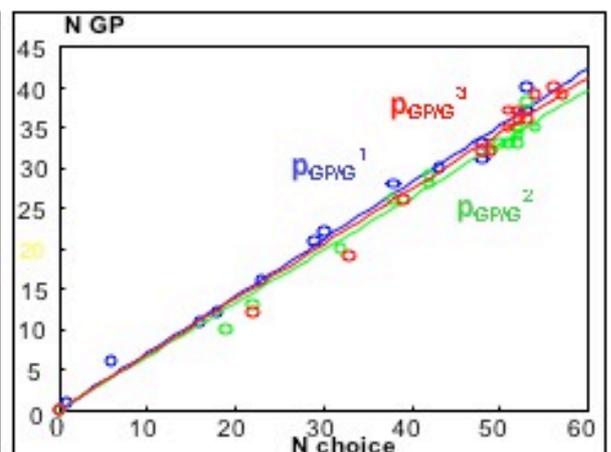


Figure 67 – Evolution de la probabilité d'aller sur la gélule contenant l'hôte parasité avec l'expérience.

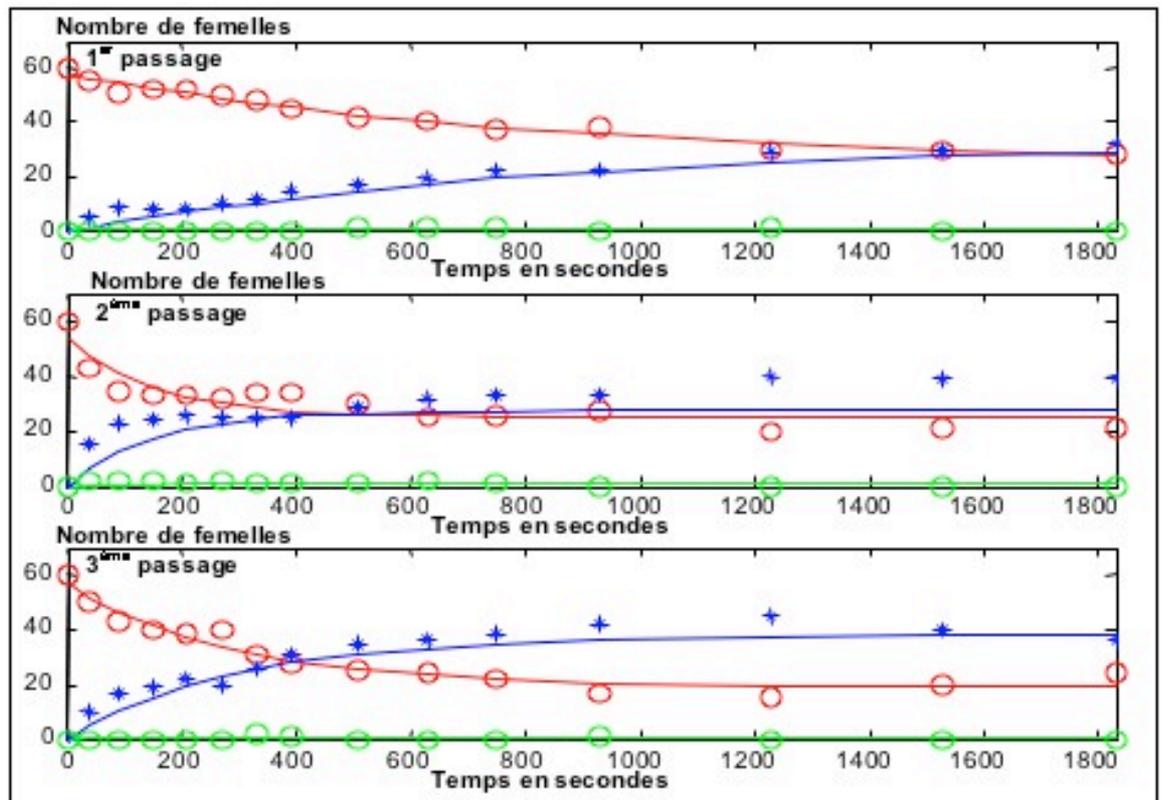


Figure 68 – Ajustement du modèle aux positions des femelles *E. vulletti* enregistrées lors de tests biologiques successifs présentant un choix entre une gélule sans trou contenant un hôte sain et une gélule sans trou contenant un hôte parasité par *D. basalis*.

- : Nombre de femelles sur aucune des gélules
- : Nombre de femelles sur la gélule contenant l'hôte sain
- * : Nombre de femelles sur la gélule contenant l'hôte parasité.

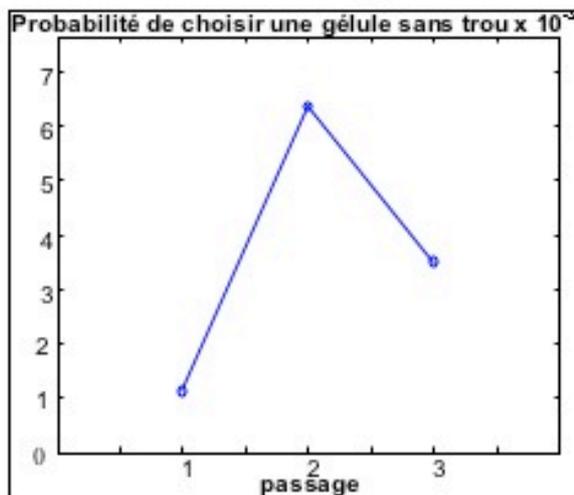


Figure 69 – Evolution de la probabilité de choisir une gélule sans trou, quelle que soit la gélule.

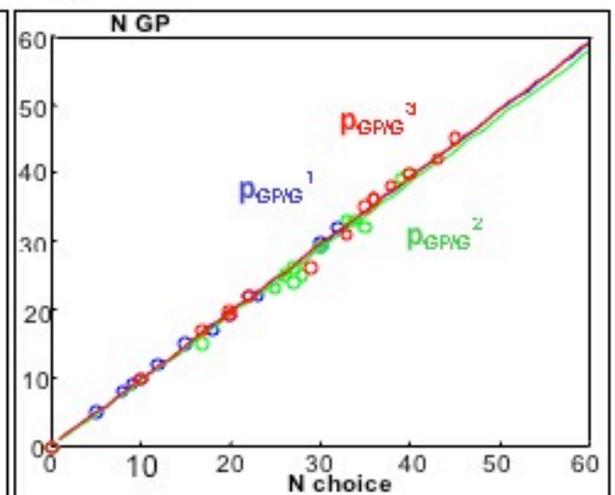


Figure 70 – Evolution de la probabilité d'aller sur la gélule sans trou parasitée avec l'expérience.

Expérience 1 : L'ajustement des courbes aux données est bon quelle que soit l'expérience des femelles et le type de données (OUT, GP, GNP) considérées ($R^2 > 0,95$) (Fig. 62). L'influence de l'expérience semble agir à deux niveaux : d'une part, le nombre de femelles qui ne choisissent pas (OUT) diminue plus rapidement avec l'expérience des femelles. Ce phénomène se traduit par une augmentation de la probabilité de choisir une graine par un facteur 2 entre le premier et le troisième passage (Fig. 63). D'autre part, on constate une augmentation de la fréquentation de la graine parasitée avec l'expérience alors que la fréquentation de la graine non parasitée stagne et même régresse légèrement. La probabilité d'aller sur la graine parasitée reste stable entre le premier et le deuxième passage ($p_{GP}^1 = 0,81$, $p_{GP}^2 = 0,80$; Tukey : $q_{CALCULE} = 0,57 < q_{CRITIQUE} = 3,44$) puis elle augmente significativement entre le deuxième et le troisième passage ($p_{GP}^3 = 0,90$; Tukey : $q_{CALCULE} = 10,01 > q_{CRITIQUE} = 3,44$) (Fig. 64).

Expérience 2 : L'ajustement des courbes aux données est toujours satisfaisant pour chaque type de données et quel que soit le passage ($R^2 > 0,95$) (Fig. 65). On observe une diminution plus rapide du nombre de femelles qui ne choisissent pas avec l'expérience des femelles. Comme dans l'expérience 1 sur graine, la probabilité de choisir une gélule augmente entre le premier passage et le troisième passage. L'augmentation est plus importante dans cette deuxième expérience, le rapport entre la probabilité au premier passage (0,002) et la probabilité au troisième passage (0,01) est de 5 (Fig. 66). Par contre, nous n'avons pas observé d'évolution de la fréquentation relative des deux types de gélules. Si la probabilité diminue significativement entre le premier et le second passage ($p_{GP}^1 = 0,70$, $p_{GP}^2 = 0,66$; Tukey : $q_{CALCULE} = 4,43 > q_{CRITIQUE} = 3,44$), elle reste stable entre le deuxième et le troisième passage ($p_{GP}^3 = 0,68$; Tukey : $q_{CALCULE} = 3,00 < q_{CRITIQUE} = 3,44$) (Fig. 67). La tendance d'accroissement de la probabilité d'aller sur une graine parasitée avec l'expérience n'est pas retrouvée sur gélule.

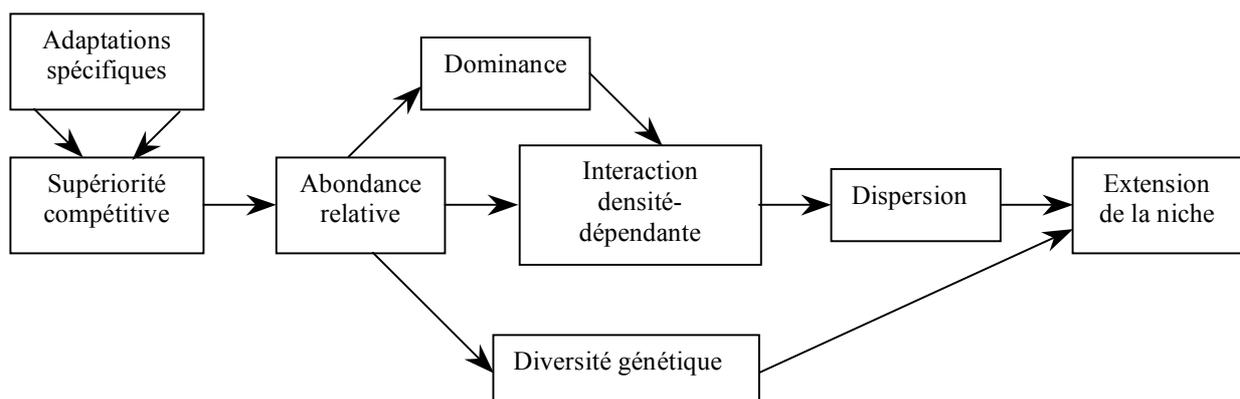
Expérience 3 : L'ajustement des courbes aux données expérimentales est bon pour la première expérience ($R^2 > 0,95$) quel que soit le type de données (N_{OUT} , N_{GP} et N_{GNP}). Pour les deux derniers passages, l'ajustement est moins bon, notamment pour les courbes N_{GP} ($R^2 = 0,65$ au 2^{ème} passage, $R^2 = 0,89$ au troisième passage) (Fig. 68). La probabilité de choisir une gélule sans trou augmente légèrement avec l'expérience des femelles, même si la tendance nette constatée lors des deux premières expériences n'est pas retrouvée (Fig. 69). La

fréquentation des deux types de gélules sans trou est très inégale : la fréquentation de la gélule parasitée augmente légèrement entre le deuxième et le troisième passage, alors que la fréquentation de la gélule sans trou non parasitée est quasiment nulle quel que soit le passage. La probabilité d'aller sur une gélule parasitée p_{GP} est donc maximale dès le premier passage ($p_{GP}^1 = 0,98$) et reste stable lors des deux suivants ($p_{GP}^2 = 0,97$, $p_{GP}^3 = 0,99$; $F_{CALCULE} = 2,90 < F_{0.05(1), 2, 39} = 3,23$) (Fig. 70).

3- Discussion

L'augmentation de la préférence par sélection semble indiquer une diversité génétique importante au sein de la population d'origine. Certaines femelles possèderaient un spectre de reconnaissance étroit et ne reconnaîtraient que les hôtes parasités par la population soudanienne sympatrique, alors que d'autres disposeraient d'un spectre plus étendu et seraient capables de reconnaître les hôtes parasités par des femelles *D. basalis* dont la composition diffère sensiblement de celle de la population sympatrique. Cette variabilité dans la reconnaissance semble déterminée génétiquement, puisque la sélection semble capable de modifier l'abondance de ces caractères dans la population. Les variations importantes observées entre les générations successives semblent indiquer un déterminisme génétique complexe.

Cette diversité génétique d'une population de parasitoïdes présentant des adaptations particulières à la compétition a été prédite par Price (1971). Dans son modèle, résumé par le diagramme ci-dessous, des adaptations spécifiques (le kleptoparasitisme, l'ovicide) confère à la population une supériorité compétitive.



Cette supériorité induit une abondance relative importante en situation de compétition, l'espèce devient alors l'espèce dominante au sein de la guild. Cette abondance particulière a démontrée dans notre système (Monge & Huignard, 1991). *E. vuilleti*, en situation de compétition est l'espèce majoritaire dans les greniers. L'abondance aurait pour conséquence une diversité génétique accrue. Dans son système, Price considère que les espèces évitent le multiparasitisme. La dominance locale d'une des espèces aurait alors pour ultime conséquence l'extension spatiale ou phénologique des niches des espèces dominantes et dominées. Dans notre système, *E. vuilleti* recherche le multiparasitisme, et la dispersion spatiale évoquée peut être réduite ou absente. La diversité génétique peut cependant lui permettre d'étendre le spectre d'hôtes exploitables : hôtes parasités par différentes souches de *D. basalis*, hôtes sains, hyperparasitisme.

La diversité génétique soutenant la discrimination interspécifique d'*E. vuilleti* pourrait lui permettre de s'adapter en quelques générations à un changement de la composition des sécrétions cuticulaires et de glande de Dufour de *D. basalis*. Ce changement pourrait être induit par une adaptation de la population de *D. basalis* sympatrique, car la reconnaissance par *E. vuilleti* des hôtes parasités présente un coût potentiel important en terme de réduction du nombre de descendants *D. basalis*. Ce changement pourrait également intervenir à la suite de l'introduction naturelle ou anthropique dans l'éco ou l'agrosystème d'une population de *D. basalis* d'origine géographique différente.

L'expérience des femelles *E. vuilleti* semble jouer un rôle important dans la discrimination ou la préférence des hôtes parasités par *D. basalis*. L'augmentation de la préférence et de la rapidité avec laquelle la femelle choisit l'hôte parasité semblent indiquer qu'un apprentissage est réalisé. Selon Papaj & Prokopy (1989) et Vet & Dicke (1992) la caractérisation de l'apprentissage fait appel à trois critères (conjointement ou non) :

① Lorsque le comportement d'un individu change de façon reproductible à l'issue de l'expérience. Ce critère est le plus souvent retenu chez les parasitoïdes (Sheehen & Shelton, 1989 ; Vet & Groenwold, 1990).

② Lorsque le comportement change de façon graduelle avec une expérience continue. Ce critère est difficile à appliquer aux parasitoïdes car l'apprentissage survient souvent de façon très rapide (Vet & Dicke, 1992).

③ En l'absence d'une expérience continue, la modification du comportement induite par apprentissage disparaît. Cortesero (1994) lors d'une étude de l'influence de l'expérience sur le comportement de recherche de l'hôte d'*E. vuilleti* a mis en évidence une persistance de l'effet de l'apprentissage limitée à 6 ou 7 jours. Ce critère est difficile à appliquer dans le cadre de la discrimination interspécifique : la durée nécessaire à la préparation des femelles, la phase d'apprentissage puis la durée nécessaire pour observer une disparition coïncident avec la durée de vie de la femelle.

Les deux premiers critères sont vérifiés, un apprentissage semble être réalisé aux cours de l'expérience 1. Bien que la discrimination interspécifique par *E. vuilleti* des hôtes parasités par *D. basalis* soit innée, exprimée dès la rencontre d'un hôte parasité, cette capacité semble renforcée par l'expérience. Ces résultats rejoignent les observations de van Lenteren et Bakker (1975) et van Lenteren (1976) en situation d'évitement du superparasitisme : Chez *Pseudeucoila bochei*, les femelles naïves seraient plus enclines au superparasitisme que des femelles expérimentées. L'apprentissage réalisé durant les tests biologiques consécutifs sur graine semble se traduire par la modification de deux paramètres distincts, la probabilité d'aller sur une graine d'une part, et la probabilité de choisir une graine parasitée d'autre part. Cette influence conjointe de l'expérience sur l'activité de recherche d'un hôte et du choix de l'hôte rejoint les résultats de Singh et Sinha (1983) qui ont observé une activité de recherche plus importante et une plus faible expression de la discrimination chez les femelles *Trioxyis indicus* (Aphidiidae) inexpérimentées. Tout d'abord, la probabilité d'aller sur un hôte quel que soit l'hôte augmente globalement pour les trois types d'expériences, ce qui se traduit par une diminution plus rapide du nombre de femelles n'ayant pas encore choisi. Völk et Mackauer (1990) ont mis en évidence chez un parasitoïde de puceron, *Acyrtosiphon pisum*, une influence de l'apprentissage sur le taux de recherche : le taux de recherche était plus élevé chez les femelles inexpérimentées, ce qui pourrait se traduire par une période plus importante de prospection avant le choix d'un hôte chez ces femelles. L'augmentation de la probabilité d'aller sur une graine n'est pas forcément liée à un apprentissage, elle peut aussi être une conséquence physiologique de l'augmentation de la période de privation d'hôte précédent le test biologique. Van Alphen et Visser (1990) prédisent que lorsque les hôtes sont rares, les femelles parasitoïdes seraient plus enclines à pondre rapidement dans un hôte, quelle que soit la qualité de cet hôte.

D'autre part l'expérience des femelles augmente l'efficacité de la discrimination, caractérisée par une augmentation de la probabilité d'aller sur une graine parasitée (Expérience 1). Cette augmentation n'est pas observée lorsque l'on présente à la femelle un choix entre une gélule saine et une gélule parasitée présentant le même accès facilité à l'hôte par les pré-trous d'aération percés avant l'expérience. L'apprentissage réalisé a les caractéristiques d'un apprentissage associatif (De Jong & Kaiser, 1992 ; Vet & Groenewold, 1990) par conditionnement instrumental (ou opérant) discriminant (Davey, 1989). La présentation du stimulus, ici le facteur permettant la discrimination, est associée à un renforcement positif (une récompense), ici l'accès à un site de ponte, induisant une augmentation de la réponse comportementale, l'exploitation par la femelle *E. vuilleti* des hôtes parasités par *D. basalis*. On peut alors envisager les tests biologiques successifs comme une boîte de Skinner. Le renforcement modifie le ratio de discrimination en faveur du stimulus discriminant. Dans l'expérience 2, où l'accès à l'hôte est identique pour l'hôte parasité et l'hôte sain, la récompense n'existe plus et on observe logiquement une absence de renforcement de la préférence de l'hôte parasité. Dans l'expérience 3, la femelle placée en présence d'un choix entre une gélule saine et une gélule parasitée sans trou, ne peut accéder à l'hôte qu'à travers le trou d'exploitation foré par la femelle *D. basalis*. Dans cette situation, on observe un choix presque exclusif de la gélule parasitée. Cette expérience confirme que l'accès à l'hôte constitue une récompense importante et suffisante pour permettre l'apprentissage.

Ce processus d'apprentissage est différent de celui décrit par van Baaren & Boivin (1998) chez *Anaphes victus* (Hymenoptera : Mymaridae). Le passage d'un rejet après insertion de l'ovipositeur à un rejet par examen antennaire a été interprété comme un apprentissage associatif. Les hyménoptères parasitoïdes semblent capables d'apprentissage variés et complexes. L'espèce *E. vuilleti* semble particulièrement bien adaptée à l'étude de différents apprentissages. Cortesero (1994) a ainsi pu mettre en évidence l'existence d'apprentissage pré-imaginal de type empreinte et à l'âge adulte d'apprentissage associatif avec différentes odeurs de plantes ou d'espèces hôte.

Le nombre de répétitions nécessaires à la mise en évidence de cet apprentissage est très faible. Les programmes d'apprentissages classiques nécessitent un plus grand nombre de confrontations pour espérer voir apparaître un apprentissage. Cependant, chez les parasitoïdes, l'apprentissage peut intervenir très rapidement (Vet & Dicke, 1992). D'autre part, la discrimination chez cette espèce est innée, et donc préexistante. Les expériences effectuées ne concerneraient pas un processus d'apprentissage complet, mais juste

l'observation d'un renforcement. En outre, les femelles *E. vuilleti* ont subi une préparation préalable durant laquelle elles ont pu être confrontées au système naturel ou artificiel à l'intérieur de boîtes de Pétri, ce qui réduit la phase d'habituation au dispositif expérimental généralement constatée avant la phase d'apprentissage proprement dite.

Le déterminisme mixte inné et acquis pourrait être adaptatif. Le nombre d'hôtes sains et parasités, leur disponibilité et leur distribution varient dans l'environnement. Dans un environnement changeant, la plasticité individuelle est sensée être adaptative. L'apprentissage a une valeur adaptative car il augmente le succès reproducteur des individus qui changent pour s'adapter aux nouvelles conditions environnementales (Stephens, 1993 ; van Baaren & Boivin, 1998). Durant l'année, les parasitoïdes *E. vuilleti* et *D. basalis* évoluent dans des environnements ayant des caractéristiques très différentes :

① L'écosystème strict : Hors de la période de culture du niébé, les hôtes dans les graines des variétés sauvages de *V. unguiculata* ou d'autres légumineuses pourraient constituer les seuls hôtes disponibles.

② En champs, durant la culture.

③ En condition de stockage. A l'intérieur des greniers, le nombre d'hôtes sains et parasités évolue de façon importante durant la période de stockage (Monge & Huignard, 1991).

Les contraintes et les pressions de sélection associées diffèrent fortement dans ces milieux. Dans l'écosystème et les champs, la découverte de l'hôte, la prédation peuvent être des contraintes fortes. Dans les greniers, la compétition peut être la contrainte dominante. La diversité génétique et la plasticité comportementale liée à l'apprentissage pourraient permettre aux femelles *E. vuilleti* d'adapter leurs stratégies aux conditions environnementales changeantes. L'apprentissage pourrait permettre une adaptation rapide et réversible au sein d'une génération. La diversité génétique pourrait permettre une adaptation plus lente et plus stable de la stratégie.

❧ *DISCUSSION GENERALE* ❧

1- Originalité de la discrimination interspécifique d'*E. vuilleti*

La discrimination interspécifique par *Eupelmus vuilleti* des hôtes parasités par *Dinarmus basalis* semble faire intervenir un mécanisme et un processus évolutif assez différent de ceux connus dans les cas de discrimination intraspécifique ou dans les rares cas de discrimination interspécifique décrit. Elle semble correspondre assez bien aux quelques études ayant porté sur une stratégie particulière, le kleptoparasitisme.

Tout d'abord les caractéristiques mêmes de cette discrimination diffèrent de celles décrites pour la discrimination intraspécifique. Elle aboutit à la recherche du multiparasitisme, alors que la grande majorité des espèces capables de reconnaître les hôtes parasités rejettent ces hôtes de qualité médiocre pour le développement de leur descendance. En aucun cas la recherche du multiparasitisme par *E. vuilleti* ne peut s'apparenter aux cas de discrimination interspécifique décrits chez des espèces proches où le signal entraînait la même réponse, c'est à dire l'évitement du super ou du multiparasitisme chez les femelles conspécifiques et allospécifiques (Vet *et al.*, 1984 ; McBrien & Mackauer, 1990, 1991 ; van Baaren *et al.*, 1994).

Cette discrimination est réalisée à courte distance, avant la montée sur la graine, alors que la discrimination était réputée jusqu'alors faire intervenir généralement un stimulus gustatif (Nufio & Papaj, 2001) bien que quelques études mentionnent une action à distance (van Baaren & Nenon, 1996). La période après la ponte de *D. basalis* pendant laquelle la discrimination reste possible est plus longue que toutes celles recensées pour la discrimination intraspécifique (Hofsvang, 1990). Cette longévité importante pourrait s'expliquer par l'implication de plusieurs stimuli successifs. L'odeur de la larve de *D. basalis* en développement, notamment, pourrait être perçue par la femelle *E. vuilleti* qui se comporte alors comme un hyperparasitoïde facultatif (van Alebeek *et al.*, 1993).

La discrimination interspécifique, qui se traduit par la préférence des hôtes parasités, semble être un comportement fréquent dans la population, peu dépendant de facteurs physiologiques ou environnementaux alors que l'issue de la discrimination intraspécifique dépend de la décision de la femelle après intégration de différents facteurs. La discrimination interspécifique qui se traduit par la préférence par *E. vuilleti* des hôtes parasités par *D. basalis* semble un comportement inné très stable, peu ou pas dépendant de l'âge ou du délai entre les pontes des femelles des deux espèces. Le système étudié ne s'inscrit pas dans les modèles prédisant une variation de la fréquence du super ou du multiparasitisme avec la probabilité de survie de la descendance qui diminuerait avec le délai séparant les pontes (van Lenteren,

1981 ; Strand, 1986 ; Mackauer, 1990, Godfray, 1994). Soit la probabilité de survie de la larve *E. vuilleti* reste élevée quelles que soient les conditions, soit l'avantage lié à la recherche du multiparasitisme intervient à un autre niveau. Le comportement ovicide et larvicide pourrait permettre de maintenir une probabilité élevée de survie par destruction du compétiteur avant même le combat larvaire. van Alebeek *et al.* (1993) ont ainsi observé jusqu'à 41 % d'œufs de *D. basalis* percés ainsi qu'un taux important de larves de *D. basalis* piquées selon le délai entre le passage des femelles des deux espèces.

Le stimulus impliqué dans la discrimination interspécifique est un stimulus chimique externe, produit par la glande de Dufour, et déposé à la surface de la graine durant l'exploitation de l'hôte par la femelle *D. basalis*. Cette définition correspond à la description de la phéromone de marquage permettant la discrimination intraspécifique chez la plupart des espèces parasitoïdes étudiées (Guillot & Vinson, 1972 ; Harrison *et al.*, 1985 ; Hubbard *et al.*, 1987). *E. vuilleti* détournerait à son profit le système d'évitement du superparasitisme de *D. basalis*. Cependant, si *D. basalis* adopte bien après la ponte une posture caractéristique de marquage (Salt, 1937), plusieurs éléments viennent contredire cette hypothèse :

① Cette posture n'est pas systématiquement adoptée après la ponte. Bien que ce comportement soit commun, un nombre non négligeable d'hôtes est parasité sans que la posture de marquage ait été observée.

② Cette posture ne s'accompagne pas de dépôt visible, même à fort grossissement. La posture semble correspondre à un frottement plutôt qu'à un dépôt.

③ Ce dépôt éventuel ne paraît pas être impliqué dans l'évitement du superparasitisme chez *D. basalis*. La discrimination intraspécifique existe chez *D. basalis*, mais elle est effectuée grâce à la perception à l'aide de récepteurs sensoriels situés sur l'ovipositeur d'un marquage interne lié à l'œuf (Gauthier & Monge, 1999).

④ La reconnaissance par *E. vuilleti* des hôtes parasités peut s'effectuer à partir des traces cuticulaires de *D. basalis*. La posture de marquage de *D. basalis* ne paraît pas nécessaire à la reconnaissance.

⑤ La reconnaissance par *E. vuilleti* des hôtes parasités est potentiellement très défavorable pour *D. basalis*. En effet, le comportement ovicide et la supériorité des larves au niveau du combat larvaire doit affecter le succès reproducteur des individus dont les hôtes parasités sont reconnus (Leveque *et al.*, 1993). Il semble peu probable que cette espèce ait sélectionné ou maintenu un système de marquage inutile en situation intraspécifique et désavantageux en situation interspécifique. Soit il s'agit d'un marquage présentant un

avantage, peut être au niveau de l'évaluation de la qualité du patch d'hôtes, cet avantage serait suffisant pour compenser le désavantage lié à la reconnaissance par *E. vuilleti*. Soit les caractéristiques précédemment citées, le caractère non obligatoire, l'absence de dépôt visible, l'absence de réponse comportementale claire et l'adoption d'un système de marquage interne témoignent d'une contre sélection à l'œuvre qui aboutirait à terme à la disparition de ce comportement chez *D. basalis*. Le stimulus impliqué ne serait alors plus tout à fait un signal, mais ne pourrait être considéré comme un indice d'exploitation.

2- Diversité des sécrétions et des structures sécrétrices impliquées

Les structures sécrétrices impliquées chez *D. basalis* dans la production du stimulus sont multiples. La glande de Dufour produit une substance huileuse attractive, et la glande à venin produit une sécrétion dont la partie protéique semble stimuler le comportement de ponte des femelles *E. vuilleti*. L'implication des glandes accessoires était attendue, elle correspond à l'origine de la phéromone de marquage intraspécifique déterminée chez la plupart des espèces chez lesquelles elle a été étudiée (Guillot & Vinson, 1972 ; Mudd *et al.*, 1982 ; Harrison *et al.*, 1985 ; Hubbard *et al.*, 1987 ; Nufio & Papaj, 2001). Le fait que les deux glandes produisent deux sécrétions de nature distincte et ayant une action différente et synergique sur le comportement des femelles *E. vuilleti* est beaucoup plus original, bien que Höller *et al.* (1993) ait décrit un cas similaire chez un hyperparasitoïde, *Dendrocerus carpenteri*. Cette action attractive et stimulatrice des hôtes parasités semble une constante dans le mécanisme de la discrimination interspécifique chez les kleptoparasitoïdes. Une étude de l'action séparée des sécrétions des glandes accessoires chez les deux autres espèces chez lesquelles cette discrimination a été décrite, *Pseudorhyssa sternata* et *Temelucha interruptor* (Ichneumonidae) (Arthur *et al.*, 1964 ; Spradbery, 1968) pourrait confirmer cette hypothèse.

Selon Höller *et al.* (1993), cette hétérogénéité du signal pourrait expliquer certaines variations de la réponse comportementale des femelles conspécifiques chez les parasitoïdes. La perception du ratio résiduel de chacun des composés pourrait permettre une évaluation par la femelle suivante de l'âge de la marque, cette capacité a été décrite en situation de compétition intraspécifique chez plusieurs espèces de parasitoïdes (Rogers, 1972 ; Chow & Mackauer, 1986 ; Hofsvang, 1988), mais cette capacité n'a pu être mise en évidence ni chez *D. basalis* en situation de compétition intraspécifique (Jaloux, 2000) ni chez *E. vuilleti* en situation de compétition interspécifique avec *D. basalis* (Chap. 2). D'autre part, le ratio entre les composants pourrait constituer une signature individuelle rendant possible la

discrimination entre les hôtes parasités par la même femelle des hôtes parasités par une conspécifique observée chez plusieurs espèces (Hubbard *et al.*, 1987 ; Völk & Mackauer, 1990), mais pas chez *D. basalis* (Chap. 2).

La similarité de la composition des sécrétions cuticulaires et de la glande de Dufour est une donnée essentielle de notre étude. Des études récentes tendent à généraliser cette similarité chez plusieurs d'espèces de différentes familles de parasitoïdes (Howard & Baker, 2003). Cette similarité n'a jamais été intégrée dans les études portant sur la discrimination intra ou interspécifique des hôtes parasités. Pourtant, cette équivalence de la composition chimique et de l'activité sur le comportement des femelles conspécifiques peut avoir des conséquences importantes. Tout d'abord, le concept de phéromone de marquage, impliquant une émission active du signal de la part de l'émetteur, serait remis en cause. L'« intentionnalité », qui différencie l'exploitation d'une trace d'une communication véritable, ne pourrait être évoquée systématiquement puisque les traces d'hydrocarbures cuticulaires laissés à la surface de la structure végétale en l'absence d'exploitation ou de posture de marquage suffiraient pour permettre la discrimination (Arthur *et al.*, 1964).

D'autre part, la combinaison des différents hydrocarbures à des concentrations différentes semble apte à permettre non seulement une signature caractéristique de l'espèce comme chez les fourmis (Billen & Morgan, 1998), mais aussi une reconnaissance individuelle ou d'apparenté, comme cela a souvent été évoqué dans la reconnaissance intraspécifique (van Dijken & Waage, 1987 ; Hubbard *et al.*, 1987). Chez une espèce parasitoïde possédant une capacité de discrimination intraspécifique basée sur la reconnaissance d'un marqueur produit par la glande de Dufour, la signature individuelle de la phéromone de marquage serait alors identique à la signature individuelle cuticulaire. Par comparaison de sa propre odeur avec celle d'un hôte parasité, une femelle pourrait reconnaître les hôtes parasités par elle-même (odeur identique), les hôtes parasités par une femelle apparentée (odeur proche ou acquise lors de contacts entre les femelles) et les hôtes parasités par une femelle conspécifique non apparentée (odeur différente). Ce mécanisme rejoindrait celui évoqué chez les fourmis pour la reconnaissance coloniale. La marque chimique à la surface du corps de la fourmi serait utilisée comme un visa colonial (template), c'est à dire un modèle de l'odeur de la colonie (Crozier & Dix, 1979 ; Dahbi *et al.*, 1994). Lors d'une rencontre entre deux individus, la reconnaissance coloniale serait effectuée par la comparaison de leurs visas coloniaux respectifs (Fresneau & Errard, 1994). Chez *D. basalis*, des analyses chimiques préliminaires ont été menées à partir d'extraits individuels. Seuls les extraits cuticulaires sont exploitables, les extraits d'une unique glande de Dufour présentent des concentrations trop faibles. Ces

analyses ont montré une variabilité interindividuelle au niveau des concentrations relatives des différents hydrocarbures majoritaires, notamment des n-alcanes. Cette variabilité pourrait s'expliquer par l'existence d'une signature individuelle. Cependant, chez cette espèce, la sécrétion de la glande de Dufour ne semble pas répulsive pour les femelles conspécifiques (Gauthier, 1996) et il ne semble pas exister d'influence de la parenté de la première ponte avec la femelle exploitant un hôte parasité sur l'évitement du superparasitisme.

3- Scénario évolutif probable de l'apparition de la discrimination interspécifique

La discrimination interspécifique des hôtes parasités par *E. vuilleti* semble non seulement spécifique de l'espèce *D. basalis*, mais présente également des variations en fonction de l'origine géographique de la population de *D. basalis*. Les hôtes parasités par la population de *D. basalis* sympatrique entraînent une préférence plus forte de la part des femelles *E. vuilleti* que les hôtes parasités par des populations de *D. basalis* originaires de région où *E. vuilleti* est plus rare ou absente. Ces résultats tendent à prouver que la sélection de la capacité de discrimination interspécifique est intervenue chez *E. vuilleti* en réponse aux pressions de sélection exercées par un compétiteur particulier, *D. basalis*.

La recherche par la femelle *E. vuilleti* des hôtes parasités par *D. basalis* associée à la réutilisation de l'orifice foré par *D. basalis* et au comportement ovicide de la femelle *E. vuilleti* s'inscrit dans une stratégie décrite chez d'autres espèces sous le nom de kleptoparasitisme (Arthur, 1964 ; Spradbery, 1968). D'après nos résultats et la littérature sur ce sujet, le scénario évolutif ayant permis la sélection de cette stratégie pourrait être le suivant :

① Une population d'origine possède des prédispositions particulières : Certains caractères morphologiques et biologiques semblent nécessaires pour pouvoir permettre l'apparition du kleptoparasitisme. L'espèce doit posséder un ovipositeur long, fin et flexible, et équipé d'organes sensoriels (Spradbery, 1968). La superfamille des Ichneumonidea et quelques autres familles, comme les Eupelmidae présentent un tel ovipositeur. D'autre part, la population d'origine devrait pratiquer l'ovicide en situation de compétition intraspécifique. Ce comportement pourrait être lié à un ovipositeur long et flexible. Si la recherche du multiparasitisme et la réutilisation du forage semble des comportements spécifiques aux espèces kleptoparasitoïdes, l'ovicide est un comportement décrit en situation de compétition intraspécifique chez un nombre non négligeable d'espèces ecto- et endoparasitoïdes de différentes familles (Godfray, 1994). Selon Strand & Godfray (1989), ce comportement

pourrait évoluer, en situation de compétition intraspécifique, quand l'avantage compétitif de la première ponte est important (Mayhew, 1997). Chez *E. vuilleti*, la larve de premier stade est très mobile, agressive, et recherche et détruit presque systématiquement la larve ou l'œuf conspécifique concurrent (Delanoue & Arambourg, 1965 ; Leveque *et al.*, 1993 ; Cortesero, 1994). Si on considère que la durée de développement embryonnaire varie peu, la première ponte semble chez cette espèce avoir un avantage décisif. Le comportement ovicide pourrait avoir été sélectionné chez cette espèce indépendamment de la compétition interspécifique. *E. vuilleti* pratique d'ailleurs l'ovicide aussi bien en situation de compétition interspécifique qu'intraspécifique (Cortesero, 1994).

② Chez une population capable d'ovicide, la réutilisation occasionnelle de l'orifice d'une femelle concurrente présente un bénéfice en terme de succès reproducteur de la femelle, c'est à dire qu'elle implique un gain en nombre de descendants ou en longévité. Dans des systèmes où l'hôte est cryptique, à l'intérieur d'une structure végétale, la réutilisation du trou permet d'augmenter l'efficacité de recherche de l'hôte, en réduisant le nombre de sondages inefficaces par exemple (Arthur *et al.*, 1964 ; Spradbery, 1968), ce qui pourrait augmenter le nombre d'hôtes exploités et donc le nombre de descendants. La réutilisation de l'orifice diminue également la durée de la phase de forage. Cette réduction de la phase de forage présente un bénéfice en terme de gain de temps d'exploitation, de gain d'énergie, de survie à la prédation. La réutilisation occasionnelle de l'orifice d'une compétitrice pourrait donc augmenter le succès reproducteur de la femelle. Le comportement ovicide annule alors les risques de mortalité durant le combat larvaire liés à la ponte sur un hôte parasité. Chez *E. vuilleti*, l'accès à l'hôte s'effectue fréquemment par la galerie de l'hôte (Terrasse, 1986 ; van Alebeek, 1991 ; Cortesero, 1994). La ponte sur un hôte parasité par une conspécifique pourrait fréquemment faire intervenir le même chemin d'accès. Cependant, l'accès par la galerie de l'hôte utilisée précédemment par une autre femelle doit présenter un gain limité par rapport à l'accès par la galerie d'un hôte non parasité.

③ L'espèce concurrente marque, délibérément ou non, les hôtes parasités. Ce marquage permet la détection et la recherche des orifices allospécifiques. Les femelles qui présentent une attraction pour ce marquage augmentent la proportion d'hôtes exploités en réutilisant l'orifice foré par une autre femelle, et augmentent d'autant leur succès reproducteur. L'attraction pour ce marquage est sélectionnée, ce qui permet le passage d'une réutilisation occasionnelle à la sélection d'une stratégie délibérée. La concentration des comportements ovicides sur des hôtes parasités par une autre espèce permet d'éviter la diminution du succès reproducteur lié à la destruction de son propre œuf ou de celui d'une

apparentée. Les femelles *E. vuilleti* n'accèderaient alors à l'hôte que par la galerie de l'hôte ou l'orifice de *D. basalis*. La sélection de la recherche du multiparasitisme peut être renforcée par le fait que l'exploitation des hôtes parasités par l'espèce concurrente est plus avantageuse que l'exploitation des hôtes parasités par une femelle conspécifique. *D. basalis* fore la graine directement au dessus de la loge (Gómez-Alvarez, 1980), alors qu'*E. vuilleti* utilise majoritairement la galerie de l'hôte (Terrasse, 1986). La réutilisation de l'orifice de *D. basalis* permet d'accéder plus rapidement à l'hôte que le passage par la galerie de l'hôte. En outre, *D. basalis*, grâce à son ovipositeur court, rigide et épais présente des capacités de forage plus importantes qu'*E. vuilleti*. La réutilisation de l'orifice de *D. basalis* permet à *E. vuilleti* d'avoir accès à des hôtes qu'il ne pourrait pas atteindre par ses propres moyens. La recherche du multiparasitisme présenterait donc un avantage par rapport à la réutilisation occasionnelle des hôtes parasités par une femelle conspécifique ou allospécifique, elle serait donc sélectionnée.

④ La spécialisation de certaines femelles au kleptoparasitisme pourrait avoir entraîné l'adaptation de certains caractères morphologiques, comme la réduction du diamètre de l'ovipositeur pour pénétrer les orifices avec le minimum d'effort (Spradbery, 1968), ou l'augmentation de sa longueur pour rechercher et détruire plus efficacement les œufs de la compétitrice (Price, 1970). L'adaptation de l'ovipositeur au kleptoparasitisme réduit la capacité des femelles à forer leur propre orifice et augmente ainsi le bénéfice lié à la réutilisation de l'orifice de la compétitrice. Ce phénomène pourrait aboutir, à terme, à un kleptoparasitisme quasi-obligatoire, lorsque l'ovipositeur des femelles *E. vuilleti* sera devenu trop long et trop fin pour permettre le forage.

4- Rôle de la compétition interspécifique dans l'apparition de la discrimination

Dans le scénario évolutif proposé, les éventuelles pressions de sélection liées à la compétition interspécifique ne sont pas nécessaires pour permettre sa sélection. Toutefois, cette stratégie ne peut être adaptative que si elle augmente réellement le succès reproducteur des femelles. Dans les conditions de l'étude, le succès reproducteur des femelles *E. vuilleti* est plus important en présence d'hôtes sains qu'en présence d'hôtes parasités par *D. basalis*. L'évitement du multiparasitisme semblerait donc une stratégie plus efficace que le kleptoparasitisme. La recherche du multiparasitisme ne pourrait être adaptative qu'en situation de compétition interspécifique intense (Price, 1970), où une proportion importante des hôtes sont parasités par *D. basalis*, empêchant l'adoption par *E. vuilleti* d'une stratégie

d'évitement du multiparasitisme. Dans ces conditions, cette stratégie permettrait de compenser en partie la diminution du succès reproducteur lié à la compétition interspécifique. La supériorité de *D. basalis* par rapport à *E. vuilleti* au niveau des capacités de dispersion, de la recherche de l'hôte, de l'exploitation de l'hôte, de la fécondité, du temps de développement, a pu entraîner la sélection dans une population d'*E. vuilleti* capable d'ovicide des individus présentant la stratégie d'exploitation la plus agressive et dirigée vers *D. basalis*. Si cette hypothèse est vérifiée, la stratégie d'*E. vuilleti* devrait pouvoir être modulée en fonction de l'intensité locale de la compétition avec *D. basalis*. La diversité génétique, associée à la plasticité comportementale observée dans l'expression de la recherche du multiparasitisme par *E. vuilleti* pourrait ainsi être adaptative. Le nombre d'hôtes sains et parasités, leur disponibilité et leur distribution varient dans l'environnement. Dans un environnement changeant, la plasticité individuelle est sensée être adaptative. L'apprentissage a une valeur adaptative car il augmente le succès reproducteur des individus qui changent pour s'adapter aux nouvelles conditions environnementales (Stephens, 1993 ; van Baaren & Boivin, 1998). Durant l'année, les parasitoïdes *E. vuilleti* et *D. basalis* évoluent dans des environnements où les contraintes peuvent varier :

① L'écosystème strict : Hors de la période de culture du niébé, les hôtes dans les graines des variétés sauvages de *V. unguiculata* ou d'autres légumineuses pourraient constituer les seuls hôtes disponibles. Ces plantes sont dispersées dans l'environnement et la densité en hôte est faible. La découverte des plantes hôtes pourrait constituer une contrainte forte.

② En champs, durant la culture. La densité en hôte pourrait augmenter rapidement avec l'état de maturité des graines. La contrainte dominante ne serait plus la découverte de la plante mais plutôt la découverte des graines infestées.

③ En condition de stockage. A l'intérieur des greniers, les populations d'hôtes sains et parasités évoluent de façon importante durant la période de stockage (Monge & Huignard, 1991). Dans ces conditions, la contrainte dominante serait plutôt la discrimination, le choix des hôtes de meilleure qualité.

Les contraintes et les pressions de sélection associées varient donc fortement au cours de l'année. Dans l'écosystème et les champs, la découverte de la plante et de l'hôte, ainsi que la prédation peuvent être des contraintes fortes. Dans les greniers, la compétition peut être la contrainte dominante. La diversité génétique et la plasticité comportementale liée à l'apprentissage pourraient permettre aux femelles *E. vuilleti* d'adapter leurs stratégies aux

conditions environnementales changeantes. L'apprentissage pourrait permettre une adaptation rapide et réversible au sein d'une génération. La diversité génétique pourrait permettre une adaptation plus lente et plus stable de la stratégie en faisant varier la proportion d'individus présentant une capacité de discrimination large ou étroite.

Selon Roughgarden (1982), la preuve de l'existence de la coévolution entre des compétiteurs devra inclure des expériences sur le terrain, des données biogéographiques et sur la distribution, et une discussion des hypothèses alternatives réalistes. Des expériences de terrain et des observations directes des populations à l'intérieur des greniers ont été effectuées lors de nombreuses études (Monge & Huignard, 1991, Tchassanti, 1995 ; Amevoin *et al.*, 2004). Elles montrent que bien que disposant de capacités parasitaires inférieures à celles de *D. basalis*, *E. vuilleti* est l'espèce majoritaire en situation de compétition avec *D. basalis*. La sélection par *Dinarmus basalis* et *Eupelmus vuilleti* de stratégies d'exploitation différentes, l'évitement du multiparasitisme pour *D. basalis*, et le kleptoparasitisme pour *E. vuilleti*, semblent liés aux différences biologiques, morphologiques et comportementales entre ces deux espèces. Les différentes stratégies mises en œuvre par ces deux espèces sympatriques peuvent évoquer une situation de compétition contre-balancée décrite par Pschorn-Walcker et Zwölfer (1968) et Zwölfer (1971). Les stratégies en situation de compétition interspécifique auraient été sélectionnées en réponse à la stratégie de l'espèce concurrente. La sélection du kleptoparasitisme par *E. vuilleti* serait intervenue pour compenser la diminution de son succès reproducteur liée à la compétition avec *D. basalis*. En réponse à la stratégie agressive d'*E. vuilleti*, *D. basalis* pourrait avoir sélectionné l'évitement du multiparasitisme, une capacité de dispersion plus importante et un système de marquage intraspécifique interne des hôtes parasités pour diminuer les effets néfastes liés au kleptoparasitisme d'*E. vuilleti*. La compétition interspécifique agirait alors comme un moteur puissant de l'évolution des caractères biologiques, morphologiques et comportementaux des espèces, et pourrait permettre l'apparition de stratégies d'exploitation complexes visant à dominer les espèces concurrentes au sein d'une même guilda (Price, 1971). Les espèces les moins compétitives se spécialiseraient alors pour des portions de la niche écologique où la compétition est moins intense. La compétition interspécifique pourrait être un des éléments à l'origine de la diversité des modes de vie et des interactions entre les êtres vivants.

5- Perspectives

Les résultats obtenus durant cette thèse ont permis de mieux comprendre un phénomène connu depuis plusieurs décennies mais assez peu étudié, le kleptoparasitisme chez les hyménoptères parasitoïdes. Le mécanisme et les stimulus impliqués dans la reconnaissance des hôtes parasités par l'espèce concurrente n'avaient jusqu'alors jamais été décrit. En outre, le rôle de la compétition interspécifique dans la sélection de cette stratégie avait souvent été évoqué, mais peu de données étaient disponibles permettant d'étayer cette hypothèse. Ce travail ouvre de nombreuses perspectives tant au niveau de l'étude des mécanismes de la discrimination que des processus évolutifs impliqués dans son apparition. Les principaux axes à explorer sont :

① Le rôle précis de la sécrétion de la glande à venin de *D. basalis* dans la discrimination par *E. vuilleti*, son mode de perception, ainsi que les protéines impliquées restent à découvrir.

② L'étude de la similarité de la sécrétion de la glande de Dufour et des hydrocarbures cuticulaires chez d'autres espèces, et son implication éventuelle dans les différents cas de discrimination inter et intraspécifique décrits comme faisant intervenir la sécrétion de la glande de Dufour.

③ La poursuite de l'étude de la spécificité de la reconnaissance, en intégrant notamment des espèces congénérique de *D. basalis* (Comme *Dinarmus vagabundis*, utilisée dans certains laboratoires) et des populations de *D. basalis* et d'*E. vuilleti* non sympatriques (asiatiques ou malgaches).

④ La place du kleptoparasitisme entre le parasitisme primaire et l'hyperparasitisme. Le kleptoparasitisme facultatif d'*E. vuilleti* pourrait résulter d'un Trade off entre une stratégie adaptée à la compétition et la nécessité de se reproduire lorsque *E. vuilleti* est seule.

⑤ L'étude de la discrimination dans les différentes conditions environnementales rencontrées dans ce système (écosystème, champs et greniers) et le rôle de l'activité anthropique dans la structuration de cette communauté des parasitoïdes de bruches.

↳ Références Bibliographiques ↳

- ALDRICH J. R.** (1988). Chemical ecology of Heteroptera. *Annu. Rev. Entomol.*, **33**: 211-238.
- ALI F. A. & MORGAN E. D.** (1990). Chemical communication in insect communities : a guide to insect pheromones with special emphasis on social insects. *Biol. Rev.*, **65**: 227-247.
- ALZOUMA I. & DOUMMA A.** (1996). Etude de la dispersion de *Dinarmus basalis* dans les systèmes de stockage traditionnels de niébé (*Vigna unguiculata*). In : Control of bruchid insect pest of cowpea in West Africa. pp.10-13
- ALZOUMA I.** (1987). Reproduction et développement de *Bruchidius atrolineatus* au dépens des cultures de *Vigna unguiculata* dans un agrosystème sahélien au Niger. Thèse de Doctorat, Tours, 162 pages.
- AMEVOIN K.** (1994). Comportement des femelles de *Eupelmus vuilleti* en situation de multiparasitisme : étude du comportement de choix de l'hôte et ponte et du comportement ovicide. Rapport de stage, Université du Bénin, Lomé, Togo. 21 pages.
- AMEVOIN K., GLITHO I. A., NUTO Y. & MONGE J. P.** (2003). Dynamiques des populations naturelles de bruches et de leurs parasitoïdes nymphaux-larvophages en situation expérimentales de stockage du niébé en zone guinéenne. *Tropicultura, in press.*
- ARAKAWA R.** (1987). Attack on the parasitized host by a primary parasitoid, *Encarsia formosa* (Hym. Aphelinidae): the second female pierces, with her ovipositor, the egg laid by the first one. *Appl. Ent. Zool.*, **22**: 644-645.
- ARTHUR A. P.** (1981). Host acceptance by parasitoids. In: Semiochemicals, their role in pest control. Nordland D. A., Jones R. L. & Lewis W. J. (Ed.). Wiley Interscience, New York. pp. 153-179.
- ARTHUR A. P., STAINER J. E. R., TURNBULL A. L.** (1964). The interaction between *Orgilus obscurator* (Nees) and *Temelucha interruptor* (Grav.), parasites of the pine shoot moth *Rhyacionia buoliana* (Schiff.). *Can. Entomol.*, **96**: 1030-1034.
- ASKEW R. R. & SHAW M. R.** (1986). Parasitoid communities: their size, structure and development. In: Insect Parasitoids. Waage J. & Greathead D. (Eds.), Academic Press, London. pp. 225-264.
- ASKEW R. R.** (1971). Parasitic Hymenoptera, p. 113-184. In: Parasitic Insects. Heinemann Educational Book Ltd. (Ed.) London. pp. 316.
- AVERILL A. L. & PROKOPY R. J.** (1988). Factors influencing release of host-marking pheromone by *Rhagoletis pomonella* flies. *J. Chem. Ecol.*, **14**: 95-111.
- BAGNÈRES A. G., CLÉMENT J. L., BLUM M. S., SEVERSON R. F., JOULIE C. & LANGE C.** (1990). Cuticular hydrocarbons and defensive compounds of *Reticulitermes flavipes* (Kollar) and *R. santonensis* (Feytaud): polymorphism and chemotaxonomy. *J. Chem. Ecol.*, **16**: 3213-3244.
- BAGNÈRES A. G., KILLIAN A., CLÉMENT J. L. & LANGE C.** (1991). Interspecific recognition among termites of the genus *Reticulitermes*: Evidence for a role of the cuticular hydrocarbons. *J. Chem. Ecol.*, **17**: 2397-2419.

- BAI B. & MACKAUER M.** (1990). Self and conspecific host discrimination by the aphid parasitoid *Aphelinus Asychis* Walker (Hymenoptera: Aphelinidae). *Can. Entomol.*, **122**: 363-372.
- BAI B. & MACKAUER M.** (1991). Recognition of heterospecific parasitism: competition between aphidiid (*Aphidius ervi*) and aphelinid (*Aphelinus asychis*) parasitoids of aphids (Hymenoptera: Aphidiidae; Aphelinidae). *J. Insect Behav.*, **4**: 333-345.
- BAKKER K., VAN ALPHEN J. J. M., VAN BATENBURG F. H. D., VAN DEN HOEVEN N., NELL H. W., VAN STRIEN-VAN LIEMPT T. F. H. & TURLINGS T. C. J.** (1985). The function of host discrimination and superparasitization in parasitoids. *Oecologia*, **67**: 572-576.
- BENDER J. C.** (1943). Anatomy and histology of the female reproductive organs of *Habrobracon juglandis* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **36**: 537-545.
- BERNSTEIN C. & DRIESSEN G.** (1996). Patch-marking and optimal search patterns in the parasitoid *Venturia canescens*. *J. Anim. Ecol.*, **65**: 211-219.
- BILLEN J. & MORGAN E. D.** (1998). Pheromone communication in social insects: sources and secretions. In: Pheromone communication in social insects. Ants, wasps, bees and termites. Vander Meer R. K., Breed M. D., Espelie K. E. & Winston M.L. (Eds.), Westview Press, Boulder, Colorado, pp. 3-33.
- BLOMQUIST, G. J., TILLMAN J. A., MPURU S. & SEYBOLD S. J.** (1998). The cuticle and cuticular hydrocarbons of insects: structure, function, and biochemistry. In: Pheromone communication in social insects. Ants, Wasps, Bees and Termites. Vander Meer R. K., Breed M. D., Espelie K. E. & Winston M. L. (Eds.), Westview Press, Boulder, Colorado, pp. 34-56.
- BLONDEL J.** (1995). Des faunes aux peuplements : la coexistence des espèces. In : Biogéographie, approche écologique et évolutive. Blondel J. (Ed.), Masson, Paris. pp. 78-126.
- BLUM M.S.** (1985). Alarm pheromones. In: Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology, vol. 9. Kerkut G.A. & Gilbert L.I. (Eds.). Pergamon Press, New York, pp. 193-224.
- BOLTER C. J. & LAING J. E.** (1983). Competition between *Diadegma insulare* and *Microplitis plutellae* for larvae of the diamondback moth *Plutella xylostella*. *Proc. Entomol. Soc. Ont.*, **114**: 1-10.
- BONAVITA-COUGOURDAN A., CLEMENT J. L. & LANGE C.** (1987). Nestmate recognition : the role of cuticular hydrocarbons in the ant *Camponotus vagus* Scop. *J. Entomol. Sci.*, **22**: 1-10.
- BOSQUE C. & RABINOVITCH J. E.** (1979). Population dynamics of *Telenomus fariai* (Hymenoptera: scelionidae), a parasite of Chagas' disease vectors. VII – Oviposition behavior and host discrimination. *Can. Entomol.*, **111**: 171-180.
- BOUTON C. E., MCPHERON B. A. & WEIS A. E.** (1980). Parasitoids and competition. *Am. Nat.*, **116**: 876-881.

- BRADBURY J. W. & VEHCAMP S. L.** (1998). Principles of Animal Communication. Sinauer Associates (Ed.), Sunderland.
- BRADFORD M. M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**: 248-254.
- BRAGG D. E.** (1974). Ecological and behavioral studies of *Phaeogenes cynarae*: ecology; host specificity; searching and oviposition; and avoidance of superparasitism. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **67**: 931-936.
- BREED M. D.** (1997). Chemical cues in kin recognition: criteria for identification, experimental approaches, and the honey bee as an example. In: Pheromone communication in social insects: ants, wasps, bees and termites. Vander Meer R. K., Breed M. D., Winston M. & Espelie C. (Eds.). Westview Press, Boulder, USA. pp. 57-78.
- BREED M. D., GARRY M. F., PEARCE A. N., HIBBARD B. E. & PAGE R. E. J.** (1995). The role of wax comb in honey bee nestmate recognition. *Anim. Behav.*, **50**: 489-496.
- BREED M. D., STILLER T. M. & MOOR M. J.** (1988). The ontogeny of kin discrimination cues in the honey bee, *Apis mellifera*. *Behav. Genet.*, **18**: 439-448.
- BRIDWELL J. C.** (1929). The cowpea Bruchid (Coleoptera) under another name. Aplaes for one kind of entomological specialist. *Proc. Entomol. Soc.*, **2**: 39-44.
- BROWN W. L. & WILSON E. O.** (1956). Character displacement. *Sys. Zool.*, **5**: 49-64.
- BROWNING H. W. & OATMAN E. R.** (1984). Intra- and interspecific relationships among some parasites of *Trochoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ. Entomol.*, **13**: 551-556.
- C. G. I. A. R.** (2001). Cowpea (*Vigna unguiculata*). CGIAR on line/CGIAR Research: Areas of Research, Washington D.C.
- CAMPAN E. & BENREY B.** (2004). Behavior and performance of a specialist and a generalist parasitoid of bruchids on wild and cultivated beans. *Biological Control*, In press.
- CAUBET Y.** (1993). L'éthogenèse chez *Dinarmus basalis* Rondani (Hymenoptera: pteromalidae) ectoparasitoïde de Bruchidae (Coleoptera). Déterminismes et influences de l'expérience précocose. Thèse de Doctorat, Paris XIII, 249 pages.
- CERVO R., DANI F. R., ZANETTI P., MASSOLO A. & TURILLAZZI S.** (2003). Chemical nestmate recognition in a stenogastrine wasp, *Liostenogaster flavolineata* (Hymenoptera: vespidae). *Ethol. Ecol. Evol.*, **14**: 351-363.
- CHAN M. S. & GODFRAY H. J. C.** (1993). Host-feeding strategies of parasitoid wasps. *Evolutionary Biology*, **7**: 593-604.
- CHARNOV E. L. & SKINNER S. W.** (1985). Complementary approaches to the understanding of parasitoid oviposition decision. *Environ. Entomol.*, **14**: 383-391.

- CHARNOV E. L., LOS-DEN HARTHOG R. L., JONES W. T. & VAN DEN ASSEM J.** (1981). Sex ratio evolution in a variable environment. *Nature*, **289**: 27-33.
- CHEVRIER C. & BRESSAC C.** (1997). Reproductive strategies in two ectoparasitoid females : *Eupelmus orientalis* and *Dinarmus basalis*. *Boletin de la Asociacion Española de Entomologia*, **21** : 117-118.
- CHEVRIER C. & BRESSAC C.** (2002). Sperm storage and use after multiple mating in *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *J. Insect Behav.*, **15**: 385-398.
- CHOW F. J. & MACKAUER M.** (1984). Inter- and intraspecific larval competition in *Aphidius smithi* and *Praon pequodorum* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Can. Entomol.*, **116**: 1097-1107.
- CHOW F. J. & MACKAUER M.** (1985). Multiple parasitism of the pea aphid: stage of development of parasite determines survival of *Aphidius smithi* and *Praon pequorum* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Canadian Entomologist*, **117**: 133-134.
- CHOW F. J. & MACKAUER M.** (1986). Host discrimination and larval competition in the aphid parasite *Ephedrus californicus*. *Entomol. Exp. Appl.*, **41**: 243-254.
- CISSE N. & HALL A. E.** (2001). La culture traditionnelle du niébé au Sénégal, étude de cas. www.fao.org.
- CLAUSEN C. P.** (1940). Entomophagous insects. McGraw Hill, New York.
- CLOUTIER C.** (1984). The effect of host density on egg distribution by the solitary parasitoid *Aphidius nigriceps* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Can. Ent.*, **116**: 805-811.
- CLOUTIER C., HOHSE L. A. & BAUDUIN F.** (1984). Host discrimination in the aphid parasitoid *Aphidius nigriceps*. *Can. J. Zool.*, **62**: 1367-1372.
- COLLIER T. R.** (1995). Host feeding, egg maturation, resorption, and longevity in the parasitoid *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Am. Entomol. Soc. Am.*, **88**: 206-214.
- CONNELL J. H.** (1983). On the prevalence and relative importance of interspecific competition: evidence from field experiments. *Am. Nat.*, **122**: 661-696.
- COPLAND M. J. W. & KING P. E.** (1971). The structure and possible function of the reproductive system in some Eulophidae and Tetracampidae. *Entomol.*, **104**: 4-28.
- COPLAND M. J. W. & KING P. E.** (1972). The structure of the female reproductive system in the Pteromalidae (Hymenoptera: Chalcidoidea). *The Entomol.*, **105**: 77-96.
- CORBET S. A.** (1973). Oviposition pheromone in larval mandibular glands of *Ephesia kuehniella*. *Nature*, **243**: 537-538.
- CORTESERO A. M.** (1994). La recherche de l'hôte chez *Eupelmus vuilleti* (Craw). Analyse des relations tritrophiques entre la plante (*Vigna unguiculata* Walp), l'hôte (*Bruchidius atrolineatus* Pic) et le parasitoïde. Thèse de doctorat, Tours, 140 pages.

- CORTESERO A. M., MONGE J. P. & HUIGNARD J.** (1993). Response of the parasitoid *Eupelmus vuilleti* to the odours of the phytophagous host and its host plant in an olfactometer. *Entomol. Exp. Appl.*, **69**: 109-116.
- COUDRON T. A. & BRANDT S. L.** (1996). Characteristic of developmental arrestant in the venom of the ectoparasitoid wasp *Euplectrus comstockii*. *Toxicon*, **34**: 1431-1441.
- COUDRON T. A., KNOP WRIGHT M. M., PUTTLER B. BRANDT S. L. & RICE W. C.** (2000). Effect of the ectoparasite *Necremnus breviramulus* (Hymenoptera: Eulophidae) and its venom on natural and factitious hosts. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **93**: 890-897.
- COUTURIER A.** (1949). Observations sur *Rhyssa approximata* F. cleptoparasite de *Rh. persuasoria* L. (Hym. Ichneumonidae). *Bull. Soc. Ent. Fr.*, **54**: 62-63.
- CRANDELL H. A.** (1939). The biology of *Pachycrepoideus dubius* Ashmead (Hymenoptera), a pteromalid parasite of *Piophilina casei* Linné (Diptera). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **32**: 632-654.
- CRAWFORD J. C.** (1913). Description of new Hymenoptera, n°6. *Proc. U. S. Nat. Mus.*, **45**: 241-260.
- CROZIER R. H. & DIX M. W.** (1979). Analysis of two models for the innate components of colony odor in social Hymenoptera. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, **4**: 217-224.
- CRUZ-LOPEZ L., PATRICIO E. F. L. R. A., MORGAN E. D.** (2001). Secretions of stingless bees : the Dufour gland of *Nannotrigona testaceicornis*. *J. Chem. Ecol.*, **27**: 69-80.
- DAHBI A., HEFETZ A., CERDA X. & LENOIR A.** (1999). Trophallaxis mediates uniformity of colony odor in *Cataglyphis iberica* ants (Hymenoptera : Formicidae). *J. Insect Behav.*, **12**: 559-567.
- DAMIENS D., IMBERT E., BRESSAC C., THIBEAUDEAU C. & CHEVRIER C.** (2001). Egg-laying, pre-imaginal growth dynamics, and mortality in *Eupelmus orientalis* and *Dinarmus basalis*, two solitary ectoparasitoids of *Callosobruchus maculatus*. *Entomol. Exp. Appl.*, **99**: 97-105.
- DAMMAN H.** (1993). Patterns of interaction among herbivore species. In: Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging. Stamp N. E. & Casey T. M. (Eds.), Chapman and Hall, London. pp. 132-169.
- DANI F. R., MORGAN E. D. & TURILLAZZI S.** (1996). The Dufour secretion of Polistes wasps: chemical composition and possible involvement in nestmate recognition (Hymenoptera: Vespidae). *J. Insect Physiol.*, **42**: 541-548.
- DARROUZET E., IMBERT E. & CHEVRIER C.** (2003). Self-superparasitism consequences for offspring sex ratio in the solitary ectoparasitoid *Eupelmus vuilleti*. *Entomol. Exp. Appl.*, **109**: 167-171.
- DAVEY G.** (1989). III. Comparative aspects of conditioning: instrumental learning. pp. 58-111. In: Ecological learning theory. Davey G. (Ed.). Routledge, London.
- DAWKINS R.** (1976). The selfish gene. Oxford Univ. Press, Oxford.

- DE BACH P.** (1964). Biological control of insect pests and weeds. De Bach P. (Ed.), Chapman and Hall, London. pp. 168-246.
- DE JONG R. & KAISER L.** (1992). Odour preference of a parasitic wasp depends on order of learning. *Experientia*, **48**: 902-904.
- DE LUCA Y.** (1965). Catalogue des métazoaires parasites et prédateurs de Bruchidae (Coleoptera). *J. Stored Prod. Res.*, **1**: 51-98.
- DE MORAES C. M., CORTESERO A. M., STAPEL J. O. & LEWIS W. J.** (1999). Intrinsic and extrinsic competitive interactions between two larval parasitoids of *Heliothis virescens*. *Ecol. Entomol.*, **24**: 402-410.
- DEAN J. M. & RICKLEFS R. E.** (1980). Do parasites of Lepidoptera larvae compete for hosts? No evidence. *Am. Nat.*, **116**: 882-884.
- DELANOUE P. & ARAMBOURG Y.** (1965). Contribution à l'étude en laboratoire d'*Eupelmus urozonus* Dalm. (Hym. Chalcidoidea, Eupelmidae). *Ann. Soc. Ent. Fr.*, **1**: 817-842.
- DENNO R. F., MCCLURE M. S. AND OTT J. R.** (1995). Interspecific interactions in phytophagous insects: competition re-examined and resurrected. *Annu. Rev. Entomol.*, **40**: 297-331.
- DIAMOND J. M.** (1975). Assembly of species communities. In: Ecology and evolution of communities. Cody M. L. & Diamond J. M. (Eds.), Harvard Univ. Press, Cambridge, Massachusetts. pp. 342-444.
- DOURY G. & ROJAS-ROUSSE D.** (1994). Reproductive potential in the parasitoid *Eupelmus orientalis* (Hymenoptera: Eupelmidae). *Bull. Entomol. Res.*, **84**: 199-206.
- DOURY G.** (1995). L'installation du parasitisme chez un hyménoptère ectoparasitoïde solitaire, *Eupelmus orientalis* (CRW) (Eupelmidae): Aspects comportementaux, physiologiques, et moléculaires. Thèse de Doctorat, Tours, 172 pages.
- DOUTT R. L.** (1959). The biology of parasitic hymenoptera. *Ann. Rev. Entomol.*, **4**: 161-182.
- DOUTT R. L.** (1964). Biological characteristics of entomophagous adults. In: Biological control of insect pests and weeds. Debach D., Chapman R. F. & Hate L. I. D. (Ed.), pp. 145-167.
- DUFOUR L.** (1834). Recherches anatomiques et physiologiques sur les orthoptères, les hyménoptères et les névroptères. *Sci. Math. Phys.*, **7**: 265-647.
- EBERHARD W. G.** (1996). Female control: sexual selection by cryptic female choice, Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- EL AGOZE M.** (1983). Comparaison de certains aspects de l'activité de ponte et de la descendance de deux hyménoptères entomophages, *Diadromus pulchellus* et *Eupelmus sp.* (*Bruchocida villeti*) parasitant différemment leurs hôtes. Thèse de Doctorat, Tours, 109 pages.

- ESPELIE K. E., BERISFORD C. W. & DAHLSTEN D. L.** (1990). Cuticular hydrocarbons of geographically isolated populations of *Rhopalicus pulchripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae): Evidence for two species. *Comp. Biochem. Physiol.*, **96**: 305-308.
- EVANS H. E., LIN C. S. & YOSHIMOTO C. M.** (1954). Biological notes on *Psammaecius tricolor* (Cresson) (Hymenoptera: Sphacidae: Gorytini). *Ent. News*, **65**: 6-11.
- F. A. O.** (2001). FAOSTAT Agricultural Data. In: Cowpea processing project 685-0281. USAID. Dakar, Sénégal. pp 140.
- FERKOVICH S. M., GREANY P. D. & DILLARD C.** (1983). Changes in hemolymph proteins of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Smith), associated with parasitism by the braconid parasitoid *Cotesia marginiventris* (Cresson). *J. Insect Physiol.*, **29**: 933-942.
- FISHER R. A.** (1930). The genetical theory of natural selection. Oxford Univ. Press, Oxford.
- FISHER R. C. & GANESALINGAM V. K.** (1970). Changes in composition of host haemolymph after attack by an insect parasitoid. *Nature*, **227**: 191-193.
- FISHER R. C.** (1961). A study in insect multiparasitism. II: The mechanism and control of competition for possession of the host. *J. Exp. Biol.*, **38**: 605-628.
- FITT G. P.** (1984). Oviposition behavior of two tephritid fruit flies, *Dacus tryoni* and *Dacus jarvisi*, as influenced by the presence of larvae in the host fruit. *Oecologia*, **62**: 37-46.
- FLANDERS S. E.** (1934). The secretion of the colleterial glands in the parasitic chalcids. *J. Econ. Ent.*, **27**: 861-862.
- FLANDERS S. E.** (1950). Regulation of ovulation and egg disposal in the parasitic hymenoptera. *Can Entomol.*, **82**: 134-140.
- FOLTYN S. & GERLING D.** (1985). The parasitoids of the aleyrodid *Bemisia tabaci* in Israel: development, host preference and discrimination of the Aphelinid wasp *Eretmocerus mundus*. *Ent. Exp. Appl.*, **38** : 255-260.
- FORCE D. C.** (1974). Ecology of insect host-parasitoid communities. *Science*, **184**: 624-632.
- FORCE D. C.** (1985). Competition among parasitoids of endophytic hosts. *Am. Nat.*, **126**: 440-444.
- FRESNEAU D. & ERRARD C.** (1994). L'identité coloniale et sa "représentation" chez les fourmis. *Intellectica*, **19** : 91-115.
- FUJII K. & WAI K. M.** (1990). Sex ratio determination in three wasp species ectoparasitic on bean weevil larvae. In : Bruchids and legumes : economics, ecology and coevolution. Fujii K. *et al.* (Eds.), Kluwer Academic Publisher, Netherlands. pp. 331-340.
- FURNESS R. W.** (1987). Kleptoparasitism in seabirds. In: Seabirds: feeding ecology and role in marine ecosystems. Croxall J. P. (Ed.), Cambridge Univ. Press, Cambridge.

- GAMBOA G. J.** (1996). Kin recognition in social wasps. In: Natural history and evolution of paper wasps. Turillazzi S. & West-Eberhard M.J. (Eds.), Oxford Univ. Press, Oxford. pp. 161-177.
- GAULD D.** (1986). Taxonomy, its limitations and its roles in understanding parasitoid biology. In: Insect parasitoids, Waage & Greathead (Ed.), Academic Press, London, pp. 1-22.
- GAUTHIER N. & MONGE J. P.** (1999). Could the egg itself be the source of the oviposition deterrent marker in the ectoparasitoid *Dinarmus basalis*? *J. Insect Physiol.*, **45**: 393-400.
- GAUTHIER N.** (1996). Etude d'un ectoparasitoïde solitaire *Dinarmus basalis* Rond (Hym. pteromalidae) en situation de compétition intra- et interspécifique : Activité reproductrice et réponses comportementales. Thèse de Doctorat, Tours, 183 pages.
- GAUTHIER N., BENEDET F., TRICAULT Y., MONGE J. P. & HUIGNARD J.** (2002). Marking behavior and discrimination of concealed hosts by the ectoparasitoid, *Dinarmus basalis* Rond (Hym. Pteromalidae). *J. Insect. Behav.*, **15**: 589-606.
- GAUTHIER N., MONGE J. P. & HUIGNARD J.** (1996). Superparasitism and host discrimination in the solitary ectoparasitoid *Dinarmus basalis*. *Entomol. Exp. Appl.*, **79**: 91-99.
- GAUTHIER N., MONGE J. P. & HUIGNARD J.** (1997). Sex allocation behavior of a solitary ectoparasitoid: effects of host-patch characteristics and female density. *Entomol. Exp. Appl.*, **82**: 167-174.
- GERMAIN J. F.** (1988). La diapause imaginale chez *Bruchidius atrolineatus* (Pic) en zone soudano-sahélienne. Thèse de Doctorat, Tours, 186 pages.
- GHANI M. A. & SWEETMAN H. L.** (1955). Ecological studies on the granary weevil parasite, *Aplastomorpha calandrae*. *Biologia*, **1**: 115-139.
- GIRON D.** (2002). Ecologie nutritionnelle et traits d'histoire de vie chez les parasitoïdes : mécanismes physiologiques et conséquences. Thèse de Doctorat, Tours, 93 pages.
- GIRON D., RIVERO A., MANDON N., DARROUZET E. & CASAS J.** (2002). The physiology of host feeding in parasitic wasps: implications for survival. *Funct. Ecol.*, **16**: 1-9.
- GNATZY W. & VOLKNANDT W.** (2000). Venom gland of the digger wasp *Liris niger*: morphology, ultrastructure, age-related changes and biochemical aspects. *Cell Tissue Res.*, **302**: 271-284.
- GNATZY W., VOLKNANDT W. & SCHULZ S.** (2004). Dufour gland of the digger wasp *Liris niger*: structure and developmental and biochemical aspects. *Cell Tissue Res.*, **315**: 125-138.
- GODFRAY H. J. C.** (1994). Oviposition behavior. In: Parasitoids, Princeton University Press (Ed.). Princeton, New Jersey. pp. 83-149.

- GOMEZ ALVAREZ L. E.** (1980). Etudes de quelques aspects de la biologie d'un Chalcidien *Dinarmus basalis* (Rondani) nécessaires à l'étude du taux sexuel. Thèse de Doctorat, Tours, 88 pages.
- GOUBAULT M.** (2000). Capacité discriminatoire chez *Pachycrepoides dubius* Ashmead (Hymenoptera: Pteromalidae), parasitoïde de *Delia radicum* L. (Diptera : Anthomyiidae) : indices et équipement sensoriels impliqués. Diplôme d'Etudes Approfondies, Rennes 1, 26 pages.
- GOUBAULT M., PLANTEGENEST M., POINSOT D. & CORTESERO A. M.** (2003). Effect of expected offspring survival probability on host selection in a solitary parasitoid. *Ent. Exp. Appl.*, **109** : 123-131.
- GOZANSKY T. K., SOROKER V. & HEFETZ A.** (1997). The biosynthesis of Dufour's gland constituents in queens of the honeybee (*Apis mellifera*). *Invertbr. Neurosci.*, **3**: 239-243.
- GRANDGIRARD J., POINSOT D., KRESPI L., NENON J. P. & CORTESERO A. M.** (2002). Costs of secondary parasitism in the facultative hyperparasitoid *Pachycrepoides dubius* : does host size matter ? *Entomol. Exp. Appl.*, **103**: 239-248.
- GREANY P. D.** (1971). Studies of the host selection behavior of the parasite *Orgilus lepidus* Muesebeck (Hymenoptera: Braconidae). Ph. D. dissertation, Riverside, USA.
- GRIFFITHS N. & GODFRAY H. J. C.** (1988). Local mate competition, sex ratio and clutch size in bethylid wasps. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, **22**: 211-217.
- GU H., WANG Q. & DORN S.** (2003). Superparasitism in *Cotesia glomerata*: response of hosts and consequences for parasitoids. *Ecol. Entomol.*, **28**: 422-431.
- GUILLOT F. S. & VINSON S. B.** (1972). Sources of substances which elicit a behavioural response from the insect parasitoid, *Campoletis perdistinctus*. *Nature*, **235**: 169-170.
- GUILLOT F. S. & VINSON S. B.** (1972)b. The role of the calyx and poison gland of *Cardiochiles nigriceps* in the host-parasitoid relationship. *J. Insect Physiol.*, **18**: 1315-1321.
- GUILLOT F. S., JOINER R. & VINSON S. B.** (1974). Host-discrimination: Isolation of hydrocarbons from Dufour's gland of a braconid parasitoid. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **67**: 720-721.
- GUREVITCH J., MORROW L. L. & WALLACE A.** (1992). A meta-analysis of competition in field experiments. *Am. Nat.*, **140**: 539-572.
- HÅGVAR E. B.** (1989). Interspecific competition in parasitoids, with implications for biological control. *Acta Entomol. Bohemoslov.*, **86**: 321-335.
- HAMILTON W. D.** (1979). Wingless and fighting males in wasps and others insects. In: Sexual Selection and Reproductive competition in insects. Blum, M. S. & N. A., Blum (Ed.). Academic Press, New-York, pp. 167-220.

- HANSSON B. S., MIKLÓS T., LÖFSTEDT C., SZÖCS G., SUBCHEV M. & LÖFQVIST J.** (1990). Pheromone variations among eastern european and western asian population of the turnip moth *Agrotis segetum*. *J. Chem. Ecol.*, **5**: 1611-1622.
- HARRISON E. G., FISHER R. C. & ROSS K. M.** (1985). The temporal effects of Dufour's gland secretion in host discrimination by *Nemeritis canescens*. *Entomol. Exp. Appl.*, **38**: 215-220.
- HASSELL M. P.** (1971). Mutual interference between searching insect parasites. *J. Anim. Ecol.*, **40**: 478-486.
- HASSON O., COHEN D. & SHMIDA A.** (1992). Providing or hiding information: on the evolution of amplifiers and attenuators of perceived quality differences. *Acta Biotheoretica*, **40**: 269-283.
- HAWKINS B. A.** (1993). Parasitoid species richness, host mortality, and biological control. *American Naturalist*, **141**: 634-641.
- HAWKINS B. A.** (2000). Species coexistence in parasitoid communities: does competition matter? In: Parasitoid population biology. M. E. Hochberg & A. R. Ives (Eds.). pp. 198-213.
- HAYNES K. F. & YEARGAN K.** (1999). Exploitation of intraspecific communication systems: illicit signalers and receivers. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **92**: 960-970.
- HAYS D. B. & VINSON S. B.** (1971). Acceptance of *Heliothis virescens* (F) (Lepidoptera: Noctuidae) as a host by the parasite *Cardiochiles nigriceps* Viereck (Hymenoptera: Braconidae). *Anim. Behav.*, **19**: 344-352.
- HEFETZ A.** (1987). The role of Dufour secretion in bees. *Physiol. Entomol.*, **12**: 243-253.
- HEIMPEL G. E. & COULLIER T. R.** (1996). The evolution of host feeding behaviour in insect parasitoids. *Biological Review*, **71**: 373-400.
- HEIMPEL G. E., MANGEL M. & ROSENHEIM J. A.** (1998). Effects of time limitation and egg limitation on lifetime reproductive success in parasitoids. *Am. Nat.*, **54**: 465-476.
- HEMERIK L., DRIESSEN G. & HACCOU P.** (1993). Effects of intra- patch experiences on patch time, search time and searching efficiency of the parasitoid *Leptopilina clavipes*. *J. Anim. Ecol.*, **62**: 33-44.
- HILKER M. & WEITZEL C.** (1991). Oviposition deterrence by chemical signals of conspecific larvae in *Diprion pini* (Hymenoptera: Diprionidae) and *Phyllodecta vulgatissima* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Entomologia Generalis*, **15**: 293-301.
- HOFFMEISTER T. S. & ROITBERG B. D.** (1997). To mark the host or the patch: decisions of a parasitoid searching for concealed host larvae. *Evol. Ecol.*, **11**: 145-168.
- HOFSVANG S. F.** (1988). Mechanisms of host discrimination and intraspecific competition in the aphid parasitoid *Ephedrus cerasicola*. *Entomol. Exp. Appl.*, **48**: 233-240.

- HOFVANG T.** (1990). Discrimination between unparasitised and parasitised hosts in hymenopterous parasitoids. *Acta Entomol. Bohemoslov.*, **87**: 161-175.
- HOGARTH W. L. & DIAMOND P.** (1984). Interspecific competition in larvae between entomophagous parasitoids. *Am. Nat.*, **124**: 552-560.
- HÖLLER C. & HÖRMANN R.** (1993). Patch marking in the aphid hyperparasitoid, *Dendrocerus carpenteri* – the information contained in patch marks. *Oecologia*, **94**: 128-134.
- HÖLLER C., BARGEN H., VINSON S. B. & BRAUNE H. J.** (1993). Sources of the marking pheromones used for host discrimination in the hyperparasitoid *Dendrocerus carpenteri*. *J. Insect Physiol.*, **39**: 649-656.
- HÖLLER C., BARGEN H., VINSON S. B. & WITT D.** (1994). Evidence for the external use of juvenile hormone for host marking and regulation in a parasitic wasp, *Dendrocerus carpenteri*. *J. Insect Physiol.*, **40**: 317-322.
- HÖLLER C., WILLIAMS H. J. & VINSON S. B.** (1991). Evidence for a two-component external marking pheromone system in a aphid hyperparasitoid. *J. Chem. Ecol.*, **17**: 1021-1035.
- HOLT R. D.** (1977). Predation, apparent competition and the structure of prey communities. *Theor. Popul. Biol.*, **12**: 197-299.
- HOWARD R. W. & BAKER J. E.** (2003). Morphology and chemistry of Dufour glands in four ectoparasitoids: *Cephalonomia tarsalis*, *C. Waterstoni* (Hymenoptera: Bethyilidae), *Anisopteromalus calandrae*, and *Pteromalus cerealellae* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Comp. Biochem. Physiol. (B)*, **135**: 153-167.
- HOWARD R. W. & BLOMQUIST G. J.** (1982). Chemical ecology and biochemistry of insect hydrocarbons. *Ann. Rev. Entomol.*, **27**: 149-172.
- HOWARD R. W. & LIANG Y.** (1993). Cuticular hydrocarbons of winged and wingless morphs of the ectoparasitoid *Choetospila elegans* Weswood (Hymenoptera: Pteromalidae) and its host, larval lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica*) (Coleoptera: Bostrichidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, **106**: 407-414.
- HOWARD R. W.** (1993). Cuticular hydrocarbons and chemical communication. In: *Insect Lipids: Chemistry, Biochemistry and Biology*. Stanley-Samuelson D. W. & Nelson D. R. (Eds.). Univ Nebraska Press, Lincoln, USA. pp. 179-226.
- HOWARD R. W.** (2001). Cuticular hydrocarbons of adult *Pteromalus cerealellae* (Hymenoptera: Pteromalidae) and two larval hosts, angoumois grain moth (Lepidoptera: Gelechiidae) and Cowpea weevil (Coleoptera: Bruchidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **94**: 152-158.
- HOWARD R. W., MCDANIEL C. A. & BLOMQUIST G. J.** (1978). Cuticular hydrocarbons of the eastern subterranean termite, *Reticulitermes flavipes* (Kollar). *J. Chem. Ecol.*, **4**: 233-245.

- HOWSE P. E.** (1975). Chemical defenses of ants, termites and other insects: some outstanding questions. In: Pheromones and defensive secretions in social insects. Noirot C., Howse P. E. & Le Masne G. (Eds.), IUSSI, Dijon. pp. 23-40.
- HUBBARD S. F., MARRIS G., REYNOLDS A. & ROWE G. W.** (1987). Adaptive patterns in the avoidance of superparasitism by solitary wasps. *J. Anim. Ecol.*, **56**: 387-401.
- HUIGNARD J.** (1985). Importance des pertes dues aux insectes ravageurs des graines: problèmes posés par la conservation des légumineuses alimentaires, source de protéines végétales. *Cah. Nutr. Diét.*, XX, **3**: 193-200.
- IKAWA T. & SUZUKI Y.** (1982). Ovipositional experience of the gregarious parasitoid, *Apanteles glomeratus* (Hymenoptera: Braconidae), influencing her discrimination of the host larvae, *Pieris rapae crucivora*. *Appl. Entomol. Zool.*, **17**: 119-126.
- ISAWA Y., SUZUKI Y. & MATSUDA H.** (1984). The oviposit strategy of parasitoid. *Theor. Pop. Biol.*, **26**: 205-227.
- ISLAM W. & KABIR S. M.** (1995). Biological control potential of *Dinarmus basalis* (Rond.) (Hymenoptera: Pteromalidae), a larval-pupal ectoparasitoid of the pulse beetle *Callosobruchus chinensis* (L.). *Crop Protection*, **14**: 439-443.
- JACKAI L. E. N. & DAOUST R. A.** (1986). Insect pests of cowpea. *Ann. Rev. Entomol.*, **31**: 95-119.
- JALOUX B.** (2000). Le marquage des sites de ponte chez un hyménoptère parasitoïde, *Dinarmus basalis*: son influence sur les relations intra- et interspécifiques. Diplôme d'Etudes Approfondies, Tours, 25 pages.
- JALOUX B., SANON A. MONGE J. P. & HUIGNARD J.** (2004). Interspecific relationships between the solitary ectoparasitoid, *Eupelmus vuilleti* (Crv.) (Eupelmidae), and its sympatric specie, *Dinarmus basalis* (Rond.) (Pteromalidae), in the presence of their host, *Callosobruchus maculatus* Pic (Coleoptera: Bruchidae).
- JERVIS M. & KIDD N.** (1996). Insect natural enemies: practical approaches to their study and evaluation. Jervis M. & Kidd N. (Eds.). Chapman and Hall, London.
- JERVIS M. A. & KIDD N. A. C.** (1986). Host-feeding strategies in hymenopteran parasitoids. *Biological Reviews*, **61**: 396-434.
- JUILLET J. J.** (1960). Immature stages, life histories, and behaviour of two hymenopterous parasites of the european pine shoot moth, *Rhyacionia buoliana* (Schiff.) (Lepidoptera: Olethreutidae). *Can. Entomol.*, **92**: 858-862.
- JURENKA R. A. & SUBCHEV M.** (2000). Identification of cuticular hydrocarbons and the alkene precursor to the pheromone in hemolymph of the female gipsy moth, *Lymantria dispar*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, **43**: 108-115.
- KING P. E. & RATCLIFFE N. A.** (1969). The structure and possible mode of functionary of the female reproductive system in *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *J. Zool. Lond.*, **157**: 319-344.

- KING B. H.** (1987). Offspring sex-ratios in parasitoid wasps. *Quarterly Review of Biology*, **62**: 367-396.
- KING P. E. & RAFAI J.** (1970). Host discrimination in a gregarious parasitoid *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). *J. Exp. Biol.*, **53**: 245-254.
- KING P. E.** (1962). The structure and action of the spermateca in *Nasonia vitripennis* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae). *Proc. Roy. Ent. Soc. Lond.*, **37**: 73-75.
- KLOMP H., TEERINK B. J. & WEI C. M.** (1980). Discrimination between parasitized and unparasitized hosts in the egg parasite *Trichogramma embryophagum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). A matter of learning and forgetting. *Neth. J. Zool.*, **30**: 254-267.
- KRAAIJEVELD A. R.** (1999). Kleptoparasitism as an explanation for paradoxical oviposition decisions of the parasitoid *Asobara tabida*. *J. Evol. Biol.*, **12**: 129-133.
- LABEYRIE V. & ROJAS-ROUSSE D.** (1985). Superparasitism reconsidered: Is it an adaptative competition? The exemple of *Diadromus pulchellus*. *Experientia*, **41**: 15-17.
- LACK D.** (1947). Darwin's finches. Cambridge Univ. Press, London.
- LAHAV S., SOROKER V., HEFETZ A. & VANDER MEER R. K.** (1999). Direct behavioral evidence for hydrocarbons as ant recognition discriminators. *Naturwissenschaften*, **86**: 246-249.
- LAING J. E. & LEVIN D. B.** (1982). A review of the biology and a bibliography of *Apanteles glomeratus* (L.) (Hymenoptera: Braconidae). *Biocontrol News and Information*, **3**: 7-23.
- LANG-COMBESCOT C.** (1992). Etude de l'activité reproductrice d'un ectoparasitoïde solitaire : *Dinarmus basalis* (Rondani, 1877) (Hym. : Pteromalidae) et ses relations avec son hôte : *Callosobruchus maculatus* (F. 1775) (Col. : Bruchidae). Thèse de Doctorat. Montpellier II. 204 pages.
- LARSON A. O. & FISHER C. K.** (1938). The bean weevil and the southern cowpea weevil in California. *Technical Bulletin of the U. S. state department of Agriculture*, **593**: 1-66.
- LAWTON J. H. & HASSELL M. J.** (1981). Asymmetrical competition in insects. *Nature*, **289**: 793-795.
- LAWTON J. H. & STRONG D. R.** (1981). Community patterns and competition in folivorous insects. *Am. Nat.*, **118**: 317-338.
- LE MASURIER A. D.** (1990). Host discrimination by *Cotesia* (= *Apanteles*) *glomerata* parasitizing *Pieris brassicae*. *Entomol. Exp. Appl.*, **54** : 65-72.
- LELUK J., SCHMIDT J. & JONES D.** (1989). Comparative studies on the protein composition of hymenopteran venom reservoirs. *Toxicon*, **27**: 105-114.
- LENOIR A., FRESNEAU D., ERRARD C. & HEFETZ A.** (1999). Individuality and colonial identity in ants : the emergence of the social representation concept. In: Information

- processing in social insects. Detrain C., Deneubourg J. L. & Pasteels J. (Eds.). Birkhäuser, Basel, Switzerland. pp. 219-237.
- LEVEQUE L.** (1991). Analyse de la compétition interspécifique entre *Eupelmus vuilleti* Crw ; (Eupelmidae) et *Dinarmus basalis* Rond. (Pteromalidae) (Hyménoptères) au niveau d'un de leurs hôtes communs, *Bruchidius atrolineatus* Pic. (Coéoptère : Bruchidae). Diplôme d'Etudes Approfondies, Tours, 43 pages.
- LEVEQUE L., MONGE J. P., ROJAS-ROUSSE D., VAN ALEBEEK F. & HUIGNARD J.** (1993). Analysis of multiparasitism by *Eupelmus vuilleti* (Crw) (Eupelmidae) and *Dinarmus basalis* (Rond) (Pteromalidae) in the presence of one of their common hosts, *Bruchidius atrolineatus* (Pic) Coleoptera Bruchidae). *Oecologia*, **94**: 272-277.
- LOCKEY K. H.** (1988). Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. *Comp. Biochem. Physiol.*, **89**: 595-645.
- MACKAUER M.** (1990). Host discrimination and larval competition in solitary endoparasitoids. In: Critical issues in biological control. Mackauer M., Ehler L. E. & Roland J. (Ed). Intercept, Andover, U. K. pp. 41-62.
- MANGEL M.** (1987). Oviposition site selection and clutch size in insects. *J. Math. Biol.*, **25**: 1-22.
- MANGEL M.** (1989). An evolutionary interpretation of the "motivation" to oviposit. *J. Evol. Biol.*, **2**: 157-172.
- MAPPE J. & MÄKELÄ I.** (1993). Egg and larval load assessment and its influence on oviposition behaviour of the leaf beetle *Galerucella nymphaeae*. *Oecologia*, **93**: 38-41.
- MARRIS G. C., HUBBARD S. F. & SCRIMGEOUR C.** (1996). The perception of genetic similarity by the solitary parthenogenetic parasitoid *Venturia canescens*, and its effects on the occurrence of superparasitism. *Entomol. Exp. Appl.*, **78**: 167-174.
- MAY R. M.** (1973). Stability and complexity in model ecosystems. Princeton Univ. Press, Princeton, New Jersey.
- MAYHEW P. J.** (1997). Fitness consequences of ovicide in a parasitoid wasp. *Entomol. Exp. Appl.*, **84**: 115-126.
- MAYNARD-SMITH J.** (1976). Group selection. *Quarterly review of biology*, **51**: 277-283.
- MCARTHUR R. H. & LEVINS R.** (1967). The limiting similarity, convergence and divergence of coexisting species. *Am. Nat.*, **101**: 377-385.
- MCBRIEN H. & MACKAUER M.** (1990). Heterospecific larval competition and host discrimination in two species of aphid parasitoids *Aphidius ervi* and *Aphidius smiti*. *Entomol. Exp. Appl.*, **56** : 145-153.
- MCBRIEN H. & MACKAUER M.** (1991). Decision to superparasitize based on larval survival: competition between aphid parasitoids *Aphidius ervi* and *Aphidius smithi*. *Entomol. Exp. Appl.*, **59**: 145-150.

- MENDOZA L.** (2000). Interaccion competitiva y discriminacion interespecifica en dos especies de parasitoides del gorgojo del frijol *Zabrotes subfasciatus*. Thesis de Maestria, UNAM, Mexico.
- MENON A., FLINN P. W. & DOVER B. A.** (2002). Influence of temperature on the functional response of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae).
- MESSINA F. J.** (1989). Genetic basis of variable oviposition behavior in *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **82**: 792-796.
- MESSINA F. J., GARDNER S. L. & MORSE G. E.** (1991). Host discrimination by egg laying seed beetles: causes of population differences. *Anim. Behav.*, **41**: 773-779.
- MICHA S. G., WELLINGS P. W. & MORTON R.** (1992). Time-related rejection of parasitised hosts in the aphid parasitoid, *Aphidius ervi*. *Entomol. Exp. Appl.*, **62**: 155-161.
- MILLER R. S.** (1967). Pattern and process in competition. *Adv. Ecol. Res.*, **4**: 1-74.
- MONGE J. P. & HUIGNARD J.** (1991). Population fluctuation of two bruchid species *Callosobruchus maculatus* (F.) and *Bruchidius atrolineatus* (Pic.) and their parasitoids *Dinarmus basalis* (Rondani) and *Eupelmus vuilleti* (Crawford) (Hymenoptera, Pteromalidae, Eupelmidae) in a storage situation in Niger. *J. Afr. Zool.*, **105**: 187-196.
- MONGE J. P., DUPONT P., IDI A. & HUIGNARD J.** (1995). The consequences of interspecific competition between *Dinarmus basalis* (Rond) (Hymenoptera: Pteromalidae) and *Eupelmus vuilleti* (Crw) (Hymenoptera: Eupelmidae) on the development of their host populations. *Acta Oecologia*, **16**: 19-30.
- MONGE, J. P., & GERMAIN, J. F.** (1988). Analyse des stimulations issues de la plante-hôte influençant la recherche d'un substrat de ponte et induisant la ponte de *Bruchidius atrolineatus* Pic. (Coléoptère : Bruchidae) : importance des conditions expérimentales. *Insecte Sci. Applic.*, **9**: 89-94.
- MOREL L., VANDER MEER R. K. & LAVINE B. K.** (1988). Ontogeny of nestmate recognition cues in the red carpenter ant (*Camponotus floridanus*). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, **22**: 175-183.
- MOYNIHAN M.** (1968). Social mimicry: character convergence versus character displacement. *Evolution*, **22** : 315-331.
- MUDD A., FISHER R. C. & SMITH M. C.** (1982). Volatile hydrocarbons in the Dufour's gland of the parasite *Nemeritis canescens* (Grav.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *J. Chem. Ecol.*, **8**: 1035-1042.
- MURDOCK G. P.** (1959). Africa: its people and their culture history. Mc. Graw Hill, New York, 456 pp.
- NDOUTOUME A., KALMES R. & ROJAS-ROUSSE D.** (2000). Reproductive potential of *Eupelmus orientalis* (Crawford) and *Eupelmus vuilleti* (Crawford) (Hymenoptera: Eupelmidae), two parasitoids of Bruchidae (Coleoptera) during the harvest and storage of cowpea pods (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Afr. Entomol.*, **8**: 201-209.

- NDOUTOUME-NDONG A.** (1996). Capacité parasitaire et plasticité comportementale de deux hyménoptères Eupelmidae (*Eupelmus orientalis* et *Eupelmus vuilleti*) partenaires de la communauté parasitaire des stades larvaires et nymphaux de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptère Bruchidae). Thèse de Doctorat, Tours, 157 pages.
- NELL H. W. & VAN LENTEREN J. C.** (1982). Gastheerdiscriminatie bij *Pachycrepoides vindemiae*: Een voorbeeld van bezettingstype-concurrentie bij sluipwespen. *Vakblad voor Biologen*, **62**: 2-6.
- NELSON J. M. & ROITBERG B. D.** (1993). Factors governing host discrimination by *Opius dimidiatus* (Ashmead) (Hymenoptera : Braconidae). *J. Insect Behav.*, **6**: 13-24.
- NIKOL'SKAYA M. N.** (1963). The chalcid fauna of the U. S. S. R. (Chalcidoidea), (English translation by Birron A. & Cole Z. S.) Israel Programme for scientific translation, Jerusalem.
- NISHIMURA K.** (1993). Oviposition strategy of the parasitic wasp *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Evol. Ecol.*, **7**: 199-206.
- NOIROT C. & QUENNEDEY A.** (1974). Fine structure of insect epidermal glands. *Ann. Rev. Entomol.*, **19**: 61-80.
- NOSTVIK E.** (1954). Biological studies of *Pachycrepoides dubius* Ashmead (Chalcidoidea: Pteromalidae), a pupal parasitoid of various Diptera. *Oikos*, **5**: 195-204.
- NUFIO C. R. & PAPA J. D. R.** (2001). Host marking behavior in phytophagous insects and parasitoids. *Entomol. Exp. Appl.*, **99**: 273-293.
- OLDHAM N. J., BILLEN J., MORGAN E. D.** (1994). On the similarity of the Dufour gland secretion and the cuticular hydrocarbons of some bumblebees. *Physiol. Entomol.*, **19**: 115-123.
- OSMAN S. E. & FÜHRER E.** (1979). Histochemical analysis of accessory genital gland secretion in female *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Int. J. Invert. Repr.*, **1**: 323-332.
- OUEDRAOGO P. A.** (1978). Introduction à l'étude de quelques aspects de la biologie de *Callosobruchus maculatus* (Coléoptère Bruchidae) et de l'influence des facteurs externes stimulants, plante hôte et copulation, sur l'activité reproductrice de la femelle. Thèse de Doctorat, Toulouse, 101 pages.
- OUEDRAOGO P. A., MONGE, J. P., HUIGNARD, J.** (1991). Importance of temperature as seed content on the induction of imaginal polymorphism in *Callosobruchus maculatus*. *Entomol. Exp. Appl.*, **59**: 59-66.
- OUEDRAOGO P. A., SOU S., SANON A., MONGE J. P., HUIGNARD J., TRAN B. & CREDLAND P. F.** (1996). Influence of temperature and humidity on populations of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Pteromalidae) in two climatic zones of Burkina Faso. *Bull. Entomol. Res.*, **86** : 695-702.

- PANEK L. M., GAMBOA G. J. & ESPELIE K. E.** (2001). The effect of a wasp's age on its cuticular hydrocarbon profile and its tolerance by nestmate and non-nestmate conspecifics (*Polistes fuscatus*, Hymenoptera: Vespidae). *Ethology*, **107**: 55-63.
- PAPAJ D. R. & PROKOPY R. J.** (1989). Ecological and evolutionary aspects of learning in phytophagous insects. *Ann. Rev. Entomol.*, **34**: 315-350.
- PIEK T. & SPANJER W.** (1986). Chemistry and pharmacology of solitary wasp venoms. In: *Venom of the Hymenoptera*. Piek T. (Ed.). Academic Press, London. pp 161-307.
- PIJLS J. W. A. M.** (1996). Interspecific host discrimination: a review. In: *Apoanagyrus diversicornis*: the ecology of a natural enemy. Thèse de Doctorat. Université de Leiden.
- PIJLS J. W. A. M., HOFKER K. D., VAN STAALDUINEN M. J. & VAN ALPHEN J. J. M.** (1995). Interspecific host discrimination and competition in *Apoanagyrus (Epidinocarsis) lopezi* and *A. (E.) diversicornis*, parasitoids of the caasava mealybug *Phenacoccus manihoti*. *Ecol. Entomol.*, **20**: 326-332.
- POLIS G. A., MYERS C. A. & HOLT R. D.** (1989). The ecology and evolution of intraguild predation: potential competitor that eat each other. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, **20**: 297-330.
- PORTER K. R.** (1961). The ground substance: observation from electron microscopy. In: *The cell – II Cells and their component parts*. Brachet J. & Mirsky A. E. (Ed.). Academic Press, London, pp. 621-675.
- POTTING R. P. J., SNELLEN H. M. & VET L. E. M.** (1997). Fitness consequences of superparasitism and mechanism of host discrimination in the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes*. *Entomol. Exp. Appl.*, **82**: 341-348.
- PREVETT P. F.** (1966). Observations on biology in the genus *Caryedon* Schönherr (Coleoptera: Bruchidae) in northern Nigeria, with a list of associated parasitic Hymenoptera. *Proc. Ent. R. Soc. Londres*, **41**: 9-16.
- PRICE P. W.** (1970a). Biology of and host exploitation by *Pleolophus indistinctus*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **63**: 1502-1509.
- PRICE P. W.** (1970b). Trail odors: recognition by insect parasitic on cocoons. *Science*, **170**: 546-547.
- PRICE P. W.** (1971). Niche breadth and dominance of parasitic insects sharing the same host species. *Ecology*, **52**: 587-596.
- PROKOPY R. J. & KOYAMA J.** (1982). Oviposition site partitioning in *Dacus cucurbitae*. *Ent. Exp. Appl.*, **31**: 428-432.
- PROKOPY R. J.** (1981). Epideictic pheromones that influence spacing patterns of phytophagous insects. In: *Semiochemicals: their role in pest control*. Nordlung D. A., Jones R. L. & Lewis W. J. (Ed.), Wiley Press, New York, pp. 181-213.

- PROPP G. D. & MORGAN P. B.** (1983). Superparasitism of house fly, *Musca domestica* L., pupae by *Spalangia endius* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae). *Environ. Entomol.*, **12**: 561-566.
- PSCHORN-WALCKER H. & ZWÖLFER H.** (1968). Konkurrenzerscheinungen in parasitenkomplexen als problem der biologischen schädlingbekämpfung. *Anz. Schadlings.*, **41**: 71-76.
- QUICKE D. L. J.** (1997). Parasitic wasps. Chapman and Hall, London.
- QUISTAD G. B., NGUYEN Q., BERNASCONI P. & LEISY D. J.** (1994). Purification and characterization of insecticidal toxins from venom glands of the parasitic wasp, *Bracon hebetor*. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, **24**: 955-961.
- RABB R. L. & BRADLEY J. R.** (1970). Marking host eggs by *Telenomus sphingis*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **63**: 1053-1056.
- RASPLUS J. Y.** (1986). Etude des chalcidiens parasites de séminivores dans la région de Lamto : premiers résultats après sept mois de séjour. *Courrier de l'Ecotrop*, **18** : 63-80.
- RASPLUS J. Y.** (1988). La communauté parasitaire des Coléoptères séminivores de Légumineuses dans une mosaïque forêt savanne en Afrique de l'ouest (Lamto – Côte d'ivoire). Thèse de Doctorat, Paris XI. 437 pages.
- RASPLUS J. Y.** (1989). Révision des espèces afrotropicales du genre *Dinarmus* Thompson (Hymenoptera : Pteromalidae). *Ann. Soc. Ent. Fr.*, **25**: 135-162.
- REUTER O. M.** (1913). Lebensgewohnheiten und instinkte der insecten. Friedlander, Berlin, pp. 488.
- RIVERO A. & CASAS J.** (1999). Incorporating physiology into parasitoid behavioural ecology: the allocation of nutritional resources. *Res. Pop. Ecol.*, **41**: 39-45.
- RIVERO A. & CASAS J.** (1999b). Rate of nutrient allocation to egg production in a parasitic wasp. *Proc. R. Soc. Lond. B*, **266** : 1169-1174.
- RIVERO A., GIRON D. & CASAS J.** (2001). Lifetime allocation of juvenile and adult nutritional resources to egg production in a holometabolous insect. *Proc. R. Soc. Lond. B*, **268**: 1231-1237.
- ROBERTSON P. L.** (1968). A morphological and functional study of the venom apparatus in representatives of some major groups of Hymenoptera. *Aust. J. Zool.*, **16**: 133-166.
- ROGER P.** (1984). Contribution à l'étude du développement larvaire de *D. basalis* Ashmead (Hymenoptera: pteromalidae) parasitoïde de *C. maculatus* (Coleoptera: Bruchidea). Diplôme d'Etude Approfondies, Tours, 30 pages.
- ROGERS D. J.** (1972). The ichneumon wasp *Venturia canescens*: Oviposition and the avoidance of superparasitism. *Entomol. Exp. Appl.*, **15**: 190-194.

- ROITBERG B. D. & MANGEL M.** (1988). On the evolutionary ecology of marking pheromones. *Evol. Ecol.*, **2** : 289-315.
- ROJAS-ROUSSE D.** (1980). Examen de quelques problèmes posés à propos des fluctuations du taux sexuel chez un hyménoptère entomophage *Diadromus pulchellus* (Ichneumonidae). Thèse de Doctorat, Tours.
- RONQUIST F.** (1994). Evolution of parasitism among closely related species: phylogenetic relationships and the origin of inquilinism in gall wasps (Hymenoptera: Cypinidae). *Evolution*, **48**: 241-266.
- ROSEN D. & DE BACH P.** (1979). Species of *Aphitis* in the world. Junk W. (ed.) Den Haag.
- ROSENHEIM J. A. & MANGEL M.** (1994). Patch-leaving rules for parasitoids with imperfect host discrimination. *Ecol. Entomol.*, **19**: 374-380.
- ROUGHGARDEN J.** (1983). Competition and theory in community ecology. *Am. Nat.*, **122**: 583-601.
- SALT G.** (1937). Experimental studies in insect parasitism. V. The sense used by *Trichogramma* to distinguish between parasitised and unparasitised hosts. *Proceedings of the Royal Society of London*, **122**: 57-75.
- SALT G.** (1961). Competition among insect parasitoids. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, pp. 96-119.
- SANKUNG B. S.** (1994). Mortality factors affecting *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) under field conditions in Niger. *J. Stored Prod. Res.*, **30**: 71-74.
- SANON A.** (1997). Contribution à l'étude du contrôle biologique des coléptères bruchidae et de leurs parasitoïdes larvophages dans les systèmes de stockage du niébé (*Vigna unguiculata* Walp) au Burkina Faso. Importance dans la mise en place des méthodes de lutte biologique. Thèse de doctorat, Tours, 180 pages.
- SCHAL C., SEVALA V. & CARDE R.** (1998). Novel and highly specific transport of a volatile sex pheromone by hemolymph lipophorin in moths. *Naturwissenschaften*, **85**: 339-342.
- SCHMALE I., WÄCKERS F. L., CARDONA C. & DORN S.** (2001). Control potential of three hymenopteran parasitoid species against the bean weevil in stored beans: the effect of adult parasitoid nutrition on longevity and progeny production. *Biological control*, **21**: 134-139.
- SCHMIDT J. M. & SMITH J. J. B.** (1989). Host examination walk and oviposition site selection of *Trichogramma minutum*: studies on spherical hosts. *J. Insect Behav.*, **2**: 143-171.
- SCHOENER T. W.** (1983). Field experiments on interspecific competition. *Am. Nat.*, **122**: 240-285.
- SCHOLZ D. & HOLLER C.** (1992). Competition for hosts between two hyperparasitoids of aphids, *Dendrocerus laticeps* and *Dendrocerus carpenteri* (Hymenoptera:

- Megaspilidae): the benefit of interspecific host discrimination. *J. Insect Behav.*, **5**: 289-300.
- SEELEY T. D.** (1998). The honey bee colony as a superorganism. *Am. Nat.*, **117**: 276-294.
- SHEEHAN W. & SHELTON A. M.** (1989). The role of experience in plant foraging by the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae). *J. Insect Behav.*, **2**: 743-758.
- SHOLZ D. & HÖLLER C.** (1992). Competition for hosts between two hyperparasitoids of aphids, *Dendrocerus laticeps* and *Dendrocerus carpenteri* (Hymenoptera: Megaspilidae): The benefit of interspecific host discrimination. *J. Insect Behav.*, **5**: 289-300.
- SINGH R. & SINHA T. B.** (1982). Factors responsible for the superparasitic ability of the parasitoid wasp *Trioxys indicus* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Ent. Gen.*, **7**: 225-234.
- SINGH S. R. & RACHIE K. O.** (1985). Cowpea Research, Production and utilization. Singh S. R. & Rachie K. O. (ed.), 460 pp.
- SIVINSKI J., MARSHALL S. & PETERSSON E.** (1999). Kleptoparasitism and phoresy in the Diptera. *Florida Entomol.*, **82**: 179-197.
- SMITH H. A.** (1916). An attempt to redefine the host relationships exhibited by entomophagous insects. *J. Econ. Entomol.*, **9**: 477-486.
- SOROKER V., HEFETZ A., COCOJARU M., BILLEN J. P. J., FRANCKE J. & FRANCKE W.** (1995). Structural and chemical ontogeny of the postpharyngeal gland in the desert ant *Cataglyphis niger*. *Physiol. Entomol.*, **20**: 323-329.
- SOU S.** (1998). Etude des populations de bruches et de leurs parasitoïdes dans un agrosystème sahélien au Burkina Faso : mise en place de méthodes de lutte intégrée. Thèse de Doctorat, Ouagadougou, Burkina Faso, 127 pages.
- SPRADBERY J. P.** (1969). The biology of *Pseudorhyssa sternata* Merrill (Hym., Ichneumonidae), a cleptoparasite of siricid woodwasps. *Bull. Entomol. Res.*, **59** : 291-297.
- STANTON R. W.** (1970). Les légumineuses à graines en Afrique. Publ. F.A.O., 199 pages.
- STEPHENS D. W.** (1993). Learning and behavioural ecology: incomplete information and environmental predictability. In: Insect learning: ecological and evolutionary perspectives. Papaj D. R. & Lewis A. C. (Eds.), Chapman & Hall, New York.
- STOLTZ D. B.** (1986). Interactions between parasitoid-derived products and host insects: an overview. *J. insect Physiol.*, **32**: 347-350.
- STOLTZ D. B. & VINSON S. B.** (1979). Viruses and parasitism in insects. *Adv. Vir. Res.*, **24**: 125-171.

- STRAND M. R. & GODFRAY H. J. C.** (1989). Superparasitism and ovicide in parasitic hymenoptera: A case study of the ectoparasitoid *Bracon hebetor*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, **24**: 421-432.
- STRAND M. R. & VINSON S. B.** (1982). Source and characterization of an egg recognition kairomone of *Telenomus heliothidis*, a parasitoid of *Heliothis virescens*. *Physiol. Entomol.*, **7**: 83-90.
- STRAND M. R. & VINSON S. B.** (1984). Facultative hyperparasitism by the egg parasitoid *Trichogramma preciosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **77**: 679-686.
- STRAND M. R.** (1986). The physiological interactions of parasitoids with their hosts and their influence on reproductive strategies. In: *Insect Parasitoids*. Waage J. K. & Greathead D. (Ed.). Academic Press, London. pp. 97-136.
- SUGIMOTO T., VENISHI M. & MACHIDA F.** (1986). Foraging for patchily-distributed leaf-miners by the parasitoid, *Dapsilarthra rufiventris* (Hymenoptera: Braconidae). *Appl. Entomol. Zool.*, **21**: 500-508.
- SYVERTSEN T. C., JACKSON L. L., BLOMQUIST G. J. & VINSON S. B.** (1995). Alkadienes mediating courtship in the parasitoid *C. nigriceps* (Hymenoptera : Braconidae). *J. Chem. Ecol.*, **21**: 1971-1989.
- TAKASU K. & HIROSE Y.** (1988). Host discrimination in the parasitoid *Ooencyrtus nezarae*: the role of the egg stalk as an external marker. *Entomol. Exp. Appl.*, **47**: 45-48.
- TAKASU K. & HIROSE Y.** (1991). The parasitoid *Ooencyrtus nezarae* (Hymenoptera: Encyrtidae) prefers hosts parasitised by conspecifics over unparasitized hosts. *Oecologia*, **87**: 319-323.
- TCHASSANTI T. A. M.** (1995). Dynamique des populations de trois coléoptères Bruchidae et de leurs parasitoïdes dans les cultures du Niébé, *Vigna unguiculata* Walp. Diplôme d'Etudes Approfondies, Univ. Bénin, Lomé, Togo, 45 pages.
- TENGÖ J., HEFETZ A., BERTSCH A., SCHMITT U., LÜBKE G. & FRANCKE W.** (1991). Species specificity and complexity of Dufour's gland secretion of bumblebees. *Comp. Biochem. Physiol.*, **99**: 641-646.
- TERRASSE C. & ROJAS-ROUSSE D.** (1986). Distribution de la ponte et évitement du superparasitisme chez l'hyménoptère solitaire *Bruchocida vuilleti* Cwf (Hym., Eupelmidae), parasite des stades larvaires de son hôte, *Callosobruchus maculatus* F. (Col., Bruchidae). *J. Appl. Ent.*, **101**: 243-256.
- TERRASSE C.** (1986). Mise en évidence et hypothèse de régulation du stade de l'hôte *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coléoptère, Bruchidae) et de sa taille sur le taux sexuel d'un de ses parasitoïdes, *Bruchocida vuilleti* Cwf (Hyménoptère, Eupelmidae). Thèse de doctorat, Tours, 187 pages.
- THORNHILL R. & ALCOCK J.** (1983). The evolution of insect mating systems. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.

- TILLMAN P. G. & POWELL J. E.** (1992). Interspecific host discrimination and larval competition in *Microplitis croceipes*, *Microplitis demolitor*, *Cotesia kazak* (Hym. Braconidae) and *Hyposoter didymator* (Hym. Ichneumonidae), parasitoids of *Heliothis virescens* (Lep. Noctuidae). *Entomophaga*, **37**: 429-437.
- TRICAULT Y.** (2000). Modélisation de la dynamique des populations d'un ravageur de denrées stockées, *Callosobruchus maculatus* (F.). Evaluation des possibilités de contrôle biologique par deux hyménoptères parasitoïdes. Thèse de Doctorat, Tours, 250 pages.
- TUMLINSON J. H., LEWIS W. J. & VET L. E. M.** (1993). How parasitic wasps find their hosts. *Scientific American*, **3**: 100-106.
- TURLINGS T. C. J., VAN BATENBURG F. D. H & VAN STRIEN-VAN LIEMPT T. F. H.** (1985). Why is there no interspecific host discrimination in the two coexisting larval parasitoids of *Drosophila* species *Leptopilina heterotoma* (Thomson) and *Asobara tabida* (Nees). *Oecologia*, **67**: 352-359.
- TURLINGS T. J. C., WÄKERS F. L., VET L. E. M., LEWIS W. J. & TUMLINSON J. H.** (1993). Learning of host-finding cues by hymenopterous parasitoids. In: Insect Learning: ecological and evolutionary perspectives. Papaj D. R. & Lewis A. C. (Eds.), Chapman and Hall, New York.
- TURNBULL A. L. & CHANT D. A.** (1961). The practice and theory of biological control of insects in Canada. *Can. J. Zool.*, **39**:697-753.
- UENO T.** (1999). Multiparasitism and host feeding by solitary parasitoid wasps (Hymenoptera: Ichneumonidae) based on the pay-off from parasitized hosts. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **92**: 601-608.
- UTIDA S.** (1954). "Phase" dimorphism observed in the laboratory population of the cowpea weevil *Callosobruchus maculatus*. *Jap. J. Appl. Entomol.*, **18**: 161-168.
- VAN ALEBEEK F. A. N.** (1991). Interspecific host discrimination by two solitary ectoparasitoids of immature stages of Bruchidae. *Med. Fac Landbouw. Ryks. Gent*, **56**: 1011-1020.
- VAN ALEBEEK F. A. N., ROJAS-ROUSSE D. & LEVEQUE L.** (1993). Interspecific competition between *Eupelmus vuilleti* and *Dinarmus basalis*, two solitary ectoparasitoids of Bruchidae larvae and pupae. *Entomol. Exp. Appl.*, **69**: 21-31.
- VAN ALPHEN J. J. M. & THUNNISSEN I.** (1983). Host selection and sex allocation by *Pachycrepoideus vindemiae* Rondani (Pteromalidae) as a facultative hyperparasitoid of *Asobara tabida* Nees (Braconidae: Alysiinae) and *Leptopilina heterotoma* (Cynipoidae: Eucoilidae). *Neth. J. Zool.*, **33**: 497-514.
- VAN ALPHEN J. J. M. & VISSER M. E.** (1990). Superparasitism as an adaptative strategy for insect parasitoids. *Ann. Rev. Entomol.*, **35**: 59-79.
- VAN ALPHEN J. J. M.** (1988). Patch time allocation by insect parasitoids: Superparasitism and aggregation. In: Population Genetics and Evolution. De Jong (Ed.), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 215-221.

- VAN ALPHEN J. J. M., VAN DIJKEN M. J. & WAAGE J. K. (1987). A functional approach to superparasitism: host discrimination needs to be learnt. *Neth. J. Zool.*, **37**: 167-179.
- VAN BAAREN J. & BOIVIN G. (1998). Learning affects host discrimination behavior in a parasitoid wasp. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, **42**: 9-16.
- VAN BAAREN J. & NÉNON J. P. (1996). Host location and discrimination mediated through olfactory stimuli on two species of Encyrtidae. *Ent. Exp. Appl.*, **81** : 61-69.
- VAN BAAREN J., BOIVIN G. & NÉNON J. P. (1994). Intra- and interspecific host discrimination in two closely related egg parasitoids. *Oecologia*, **100**: 325-330.
- VAN DEN ASSEM J. (1991). Mating behaviour in parasitic wasps. In: Insect Parasitoids. Waage J. & Greathead D. (Ed.), Academic press, London, pp. 137-167.
- VAN DER HOEVEN N. & HEMERIK L. (1990). Superparasitism as an E. S. S. : To reject or not to reject, that is the question. *J. Theor. Biol.*, **146**: 467-482.
- VAN DER HORST D. J., WEERS P. M. M. & VAN MARREWIK W. J. A. (1993). Lipoproteins and lipid transport. In: Insect lipids: chemistry, biochemistry and biology. Stanley-Samuelson D. W. & Nelson D. R. (Eds.), Univ. Nebraska Press, Lincoln, Nebraska, pp. 1-24.
- VAN DIJKEN M. J. & WAAGE J. K. (1987). Self and conspecific superparasitism in *Trichogramma evanescens*. *Ent. Exp. Appl.*, **43** : 183-192.
- VAN DIJKEN M. J., VAN STRATUM P. & VAN ALPHEN J. J. M. (1992). Recognition of individual-specific marked parasitized hosts by the solitary parasitoid *Epidinocarsis lopezi*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, **30**: 77-82.
- VAN LENTEREN J. C. & BAKKER K. (1975). Discrimination between parasitised and unparasitised hosts in the parasitic wasp *Pseudeucoila bochei*: a matter of learning. *Nature*, **254**: 417-419.
- VAN LENTEREN J. C. (1976). The development of host discrimination and the prevention of superparasitism in the parasite *Pseudeucoila bochei* Weld (Hymenoptera: Cynipidae). *Neth. J. Zool.*, **26**: 1-83.
- VAN LENTEREN J. C. (1981). Host discrimination by parasitoids. In: Semiochemicals. John Wiley & sons (Ed.), Wiley Interscience Publication, New-York, pp. 153-179.
- VAN LENTEREN J. C., BAKKER K. & VAN ALPHEN (1978). How to analyse hosts discrimination? *Ecol. Entomol.*, **3**: 71-75.
- VAN LENTEREN J. C., NELL H. W. & SEVENSTER-VAN DER LELIE A. (1980). The parasite-host relationship between *Encarsia Formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleurodidae). IV. Oviposition behavior of the parasite with aspects of host selection, host discrimination and host feeding. *Z. Ang. Ent.*, **89**: 442-454.

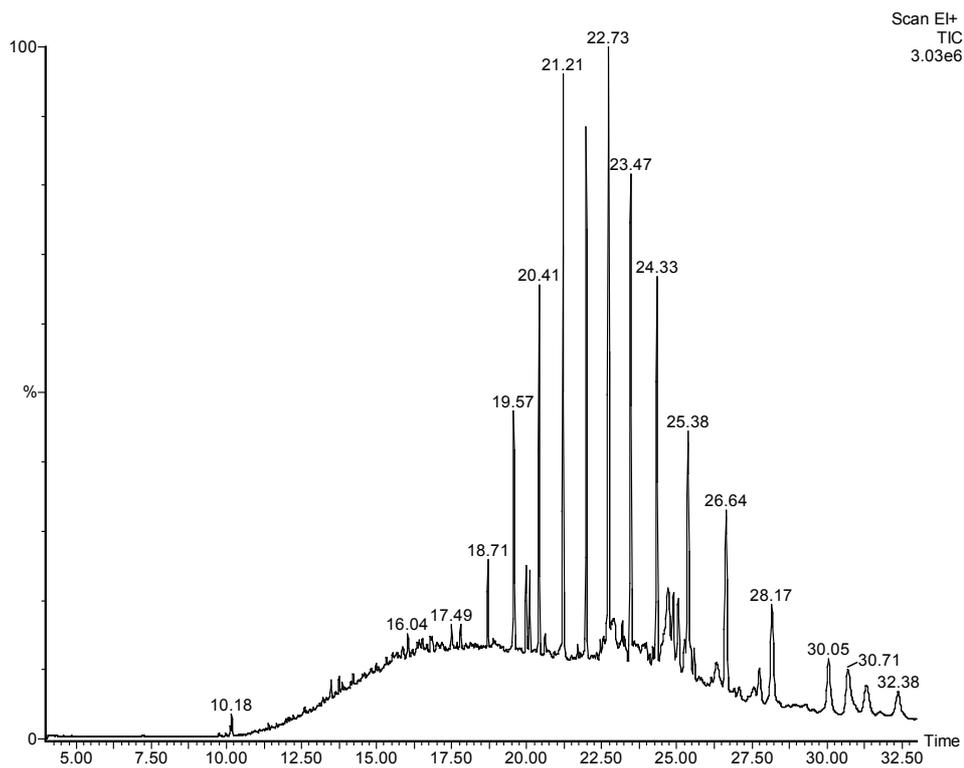
- VAN STRIEN-VAN LIEMPT W. T. F. H. (1983). The competition between *Asobara tabida* Nees Von Esenbeck, 1834 and *Leptopilina heterotoma* (Thonson, 1862) in multiparasitized hosts. *Neth. J. Zool.*, **33**: 125-163.
- VANDER MEER R. K. & MOREL. (1998). Nestmate recognition in ants. In: Pheromone communication in social insects: ants, wasps, bees and termites. Vander Meer R. K. , Breed M. D., Winston M. & Espelie C. (Eds.). Westview Press, Boulder, USA. pp. 79-103.
- VERMA R. (1990). Host habitat location and host location by *Dinarmus basalis*, a parasite of bruchids of stored legumes. *Indian J. Exp. Biol.*, **28**: 179-184.
- VET L. E. M. & DICKE M. (1992). Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Ann. Rev. Entomol.*, **37**: 141-172.
- VET L. E. M. & GROENEWOLD A. W. (1990). Semiochemicals and learning in parasitoids. *J. Chem. Ecol.*, **16**: 3119-3135.
- VET L. E. M., MEYER M., BAKKER K. & VAN ALPHEN J. J. M. (1984). Intra- and interspecific host discrimination in *Asobara* (Hymenoptera) larval endoparasitoid of Drosophilidae: Comparison between closely related and less closely related species. *Anim. Behav.*, **32**: 871-874.
- VINSON S. B. & IWATSCH G. F. (1980). Host regulation by insect parasitoids. *Quart. Rev. Biol.*, **55**: 143-165.
- VINSON S. B. (1976). Host selection by insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, **21**: 109-133.
- VINSON S. B. (1978). Courtship behavior and source of a sexual pheromone from *Cardiochiles nigriceps*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **71**: 832-837.
- VINSON S. B. (1985). The behavior of parasitoids. In: Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology. Kerkut G. A. & Gilbert L. I. (Eds.), vol. 9. Pergamon Press, New York. pp. 417-469.
- VINSON S.B. & IWANTSCH G.F. (1980). Host suitability for insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, **25**: 397-419.
- VISSER M. E. (1992). Adaptive self- and conspecific superparasitism in the solitary parasitoid *Leptopilina heterotoma* (Hymenoptera: Eucoilidae). *Behav. Ecol.*, **4**: 22-28.
- VISSER M. E., JONES T. H & DRIESSEN G. (1999). Interference among insect parasitoids : a multi-patch experiment. *J. Anim. Ecol.*, **68**: 108-120.
- VISSER M. E., VAN ALPHEN J. J. M. & NELL H. W. (1990). Adaptive superparasitism and patch time allocation in solitary parasitoids: The influence of the number of parasitoids depleting a patch. *Behaviour*, **114**: 21-36.
- VÖLK W. & MACKAUER M. (1990). Age-specific host discrimination by the aphid parasitoid *Ephedrus californicus* Baker (Hymenoptera: Aphidiidae). *Can. Entomol.*, **122**: 349-361.

- WAAGE J. K. & GODFRAY H. J. C.** (1985). Reproductive strategies and population ecology of insect parasitoids. In: Behavioural Ecology, Ecological consequences of Adaptive Behaviour. Sibly R. M. & Smith R. H. (Ed.). Blackwell, Oxford.
- WAAGE J. K. & GREATHEAD D.** (1986). Insect parasitoids. Academic Press, pp. 386.
- WAAGE J. K.** (1979). Foraging for patchily-distributed hosts by the parasitoid *Nemertis canescens*. *J. Anim. Ecol.*, **68**: 121-133.
- WAAGE J. K.** (1985). Family planing in parasitoids: adaptive paterns of progeny and sex ratio. In: Waage J. & Greathead D. (Eds.), Insect parasitoid. Academic Press, London, pp. 63-95.
- WAGNER D., TISSOT M., CUEVAS W. & GORDON D. M.** (2000). Harvester ants utilize cuticular hydrocarbons in nestmate recognition. *J. Chem. Ecol.*, **26**: 2245-2256.
- WAI K. M. & FUJII K.** (1990). Intraspecific larval competition among wasps parasitic of bean weevil larvae. *Res. Pop. Ecol.*, **32**: 85-98.
- WALKER W. F.** (1980). Sperm utilization strategies in non-social insects. *Am. Nat.*, **115**: 780-799.
- WEIDNER H. & RACK G.** (1984). Table de détermination des principaux ravageurs des denrées entreposées dans les pays chauds. GTZ (Ed.), Eschborn, pp. 83-89.
- WEISSER W. W., WILSON H. B. & HASSELL M. P.** (1997). Interference among parasitoids: a clarifying note. *Oikos*, **79**: 173-178.
- WILKES A.** (1965). Sperm Transfert and utilization by the arrhenotokous wasp, *Dahlbominus fuscipennis* (Zett) (Hymenoptera: Eulophidae). *Can. Entomol.*, **97**: 647-657.
- WILLIAMS G. C.** (1992). Natural Selection. Oxford Univ. Press, Oxford.
- WISHART G. & MONTEITH A. E.** (1954). *Trybliographa rapae* (Westw.) (Hymenoptera: Cynipidae), a parasite of *Hylemya* spp. (Diptera : Anthomyiidae). *Can. Entomol.*, **86**: 145-154.
- WYLIE H. G.** (1965). Effects of superparasitism on *Nasonia vitripennis* (Walk.) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Can. Entomol.*, **97**: 326-331.
- WYLIE H. G.** (1971). Oviposition restraint of *Muscidifurax zaraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) on parasitised house fly pupae. *Can. Entomol.*, **103**: 1537-1544.
- YAMAGUCHI H.** (1987). The role of venom in host discrimination of *Ascogaster reticulatus* Watanabe. *Jap. J. Appl. Entomol. Zool.*, **31**: 80-82.
- YU D. S., LUCK R. F. & MURDOCH W. W.** (1990). Competition, ressource partitioning and coexistence of an endoparasitoid *Encarsia perniciosi* and an ectoparasitoid *Aphytis melinus* of the California red scale. *Ecol. Entomol.*, **15**: 469-480.
- ZAR J. H.** (1999). Biostatistical analysis. 4th edition. Prentice Hall, New Jersey.

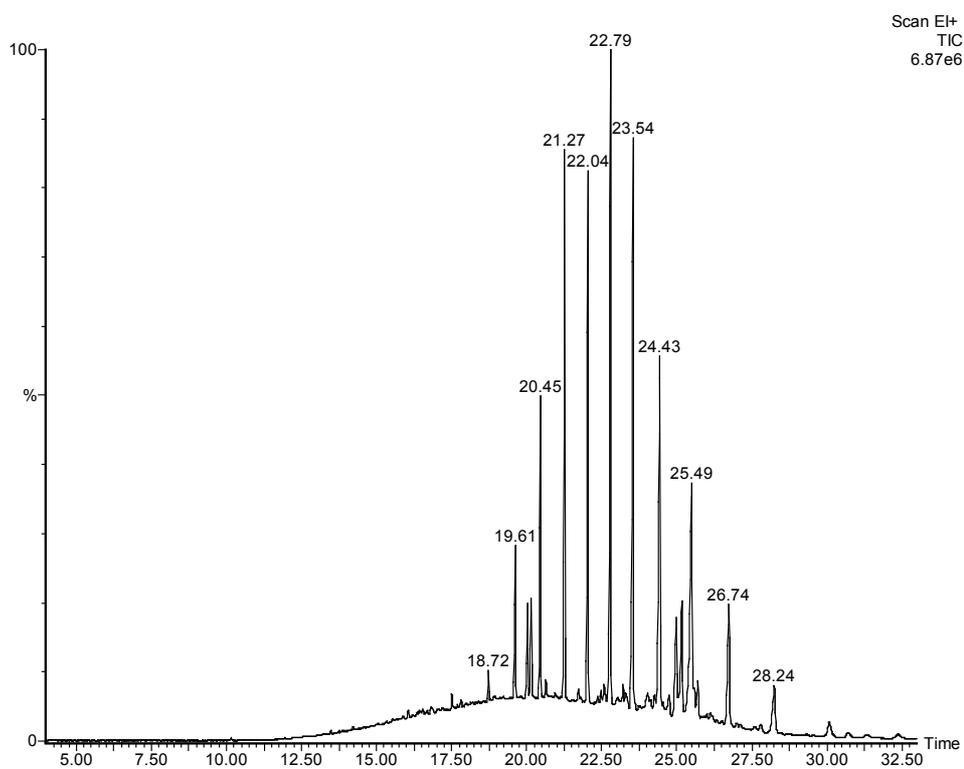
ZWÖLFER H. (1971). The structure and effect of parasite complexes attacking phytophagous host insects. In: Dynamics of number in population, den Boer P. J. & Gradwell G. R. (Eds.), PUDOC, Wageningen, pp. 405-418.

ZWÖLFER H. (1979). Strategies and counter-strategies in insect population systems competing for space and food in flower heads and plant galls. *Fortschr. Zool.*, **25**: 331-353.

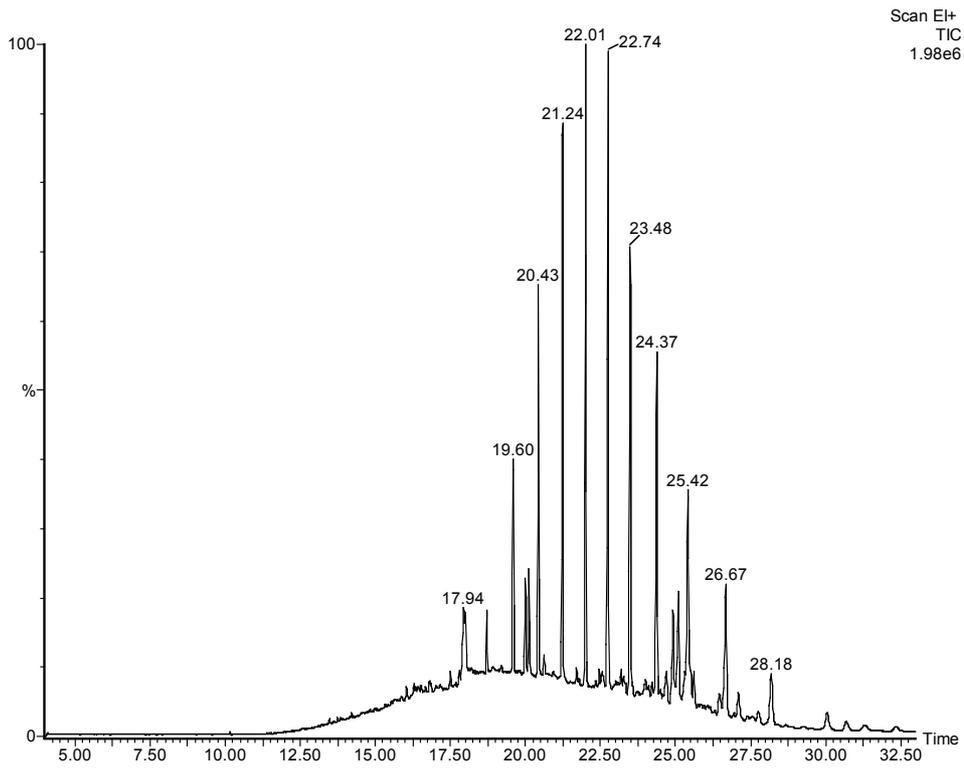
↳ Annexes ↻



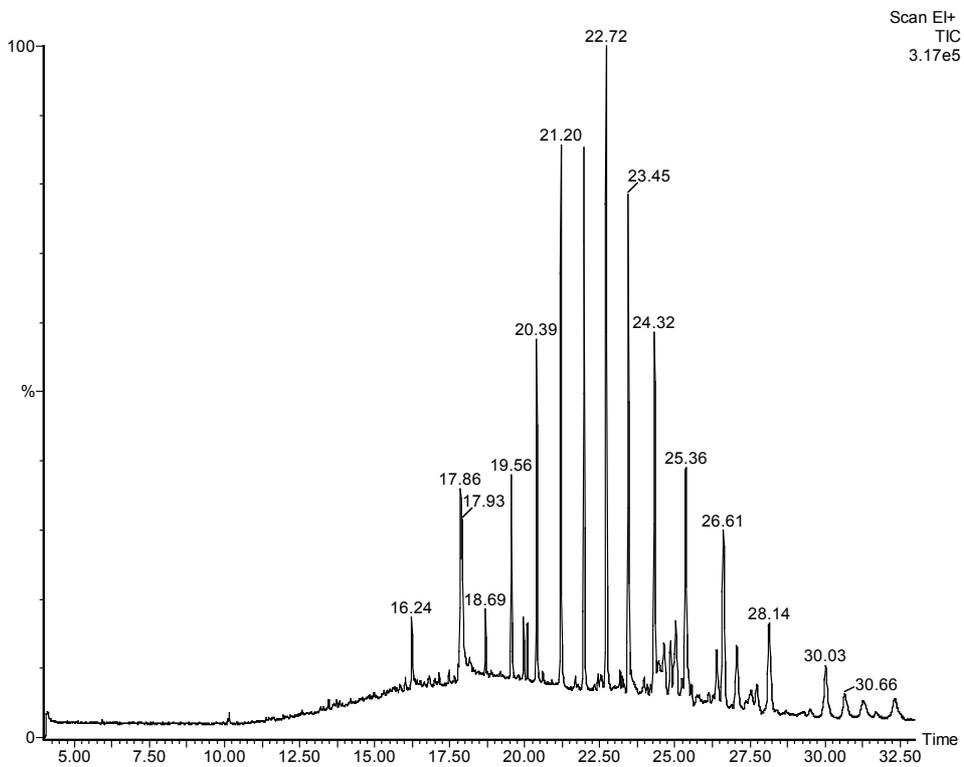
Chromatogramme d'un extrait cuticulaire de femelles *D. basalis* soudaniennes.



Chromatogramme d'un extrait cuticulaire de femelles *D. basalis* mexicaines.



Chromatogramme d'un extrait cuticulaire de femelles *D. basalis* guinéennes



Chromatogramme d'un extrait cuticulaire de femelles *D. basalis* béninoises

