HAL
open science

Rôle de l'information dans l'acquisition des partenaires sexuels et le choix du sexe de la descendance chez les hyménoptères parasitoïdes – Exemple de Venturia Canescens Gravenhorst (Hymenoptera : Ichneumonidae)

Marie Metzger

▶ **To cite this version:**

Marie Metzger. Rôle de l'information dans l'acquisition des partenaires sexuels et le choix du sexe de la descendance chez les hyménoptères parasitoïdes – Exemple de Venturia Canescens Gravenhorst (Hymenoptera : Ichneumonidae). Ecologie, Environnement. Université Claude Bernard - Lyon I, 2008. Français. NNT : . tel-00347435

HAL Id: tel-00347435

https://theses.hal.science/tel-00347435v1

Submitted on 15 Dec 2008

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.

N° d'ordre 81-2008 Année 2008

THESE

Présentée devant l'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

pour l'obtention

du DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

présentée et soutenue publiquement le 9 juin 2008 par

Marie METZGER

Rôle de l'information dans l'acquisition des partenaires sexuels et le choix du sexe de la descendance chez les hyménoptères parasitoïdes – Exemple de *Venturia Canescens* Gravenhorst (Hymenoptera : Ichneumonidae)

Directeur de thèse : M Emmanuel DESOUHANT

Co-directeur : M Carlos BERNSTEIN

Jury :

M Dominique ALLAINE	Président
M Xavier FAUVERGUE	
M Michael GREENFIELD	Rapporteur
M Ian HARDY	
Mme Martine HOSSAERT MCKEY	Rapporteur

Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, UMR CNRS 5558,
Université Claude Bernard Lyon1,
43 Bd du 11 novembre 1918
69622 Villeurbanne Cedex

Remerciements

Mes remerciements vont d'abord à mon directeur de thèse, Emmanuel Desouhant, pour m'avoir si bien encadré pendant toutes ces années, pour m'avoir toujours écouté et soutenu, souvent encouragé et parfois poussé, quelles que soient les circonstances et les difficultés que j'ai pu rencontrer.

Je remercie Carlos Bernstein pour son accueil dans son équipe et son implication dans mon travail. Je remercie les membres de mon jury, M. Dominique Allainé, M. Xavier Fauvergue, M. Ian Hardy, Mme Martine Hossaert McKey et M. Michael Greefield pour avoir accepté de juger mon travail, pour leurs remarques et leurs conseils.

Un grand merci à toutes les personnes qui m'ont accueilli à un moment ou à un autre dans leurs laboratoires pendant ma thèse, et même avant :

- Xavier Fauvergue pour mes nombreux séjours à l'INRA d'Antibes, et au delà pour son implication dans ma thèse. La « rolls » de l'écologie n'a pu décoller sur la plateforme d'envol d'Antibes qu'avec l'aide précieuse d'Alexandra Auguste.
- Anne-Marie Cortesero et Denis Poinsot de l'Université de Rennes pour m'avoir initié au monde des parasitoïdes lors de mon tout premier stage de Licence.
- Juan Corley pour le séjour à l'INTA de Bariloche et à Deborah Fischbein pour notre collaboration et pour sa gentillesse.
- Christophe Bressac et son équipe de l'IRBI de Tours pour nos discussions et ses photos.
- Thomas Hoffmeister et Andra Thiel, ainsi que toute l'équipe du laboratoire de Brême, pour leur accueil et leur disponibilité lors du séjour qui a suivi ma soutenance. Merci au BEPAR pour le financement.

Mes remerciements les plus chaleureux vont au laboratoire de biométrie et biologie évolutive dans son ensemble, et en particulier à toutes les personnes trop nombreuses à citer qui m'ont permis de réaliser ma thèse dans les meilleures conditions : Dominique, Nathalie, François, Nicole, « les informaticiens ». Un merci spécial à Annie pour son aide indispensable lors des manips et pour les élevages. Merci à ma co-équipière Perrine pour son optimisme et pour m'avoir supporté dans les moments difficiles. Merci à tout le reste de l'équipe, en particulier à Isabelle, à Fred Menu, Sam et Marie-Claude pour nos discussions. Bonne continuation à Deborah, Louise, Lucie et Vincent.

Merci à mes collègues et également ami(e)s, Émilie et Ève pour nos incontournables « pauses » thés (entre autres choses !), Patrice pour avoir été présent depuis mon premier jour à Lyon, toute la salle 60 et associés, de toutes les époques, camarades de promo et autres organisateurs d'anniversaires « surprises » et de déjeuners sur l'herbe, parmi lesquels Stéphanie, Micheline et Etienne, Vincent, Arnaud, Bram, Pierrick, Jodie, Mathieu B, Gilles B… que ceux que j'oublie veuillent bien accepter mes excuses.

Je ne remercierais jamais assez Gilles qui, s'il n'a rejoint l'aventure que tardivement, n'a pas démérité ni pendant la rédaction ni depuis. Merci beaucoup à Julien et à Nicolas qui, à d'autres périodes, ont été là pour moi quand j'en avais besoin.

Pour finir, je souhaite dédier cette thèse à mes parents, sans lesquels rien n'aurait été possible, pour m'avoir toujours soutenu et donné les moyens de réaliser mes choix. Merci du fond du cœur. Merci aux frangines, Lucie et Laura, qui m'ont fait le plaisir d'être présentes à ma soutenance.

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

Président de l'Université	**M. le Professeur L. COLLET**
Vice-président du Conseil Scientifique	M. le Professeur J.F. MORNEX
Vice-président du Conseil d'Administration	M. le Professeur J. LIETO
Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. le Professeur D. SIMON
Secrétaire Général	M. G. GAY

SECTEUR SANTE

Composantes

UFR de Médecine Lyon R.T.H. Laënnec	Directeur : M. le Professeur P. COCHAT
UFR de Médecine Lyon Grange-Blanche	Directeur : M. le Professeur X. MARTIN
UFR de Médecine Lyon-Nord	Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE
UFR de Médecine Lyon-Sud	Directeur : M. le Professeur F.N. GILLY
UFR d'Odontologie	Directeur : M. O. ROBIN
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directeur : M. le Professeur F. LOCHER
Institut Techniques de Réadaptation	Directeur : M. le Professeur MATILLON
Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directeur : M. le Professeur P. FARGE

SECTEUR SCIENCES

Composantes

UFR de Physique	Directeur : Mme. le Professeur S. FLECK
UFR de Biologie	Directeur : M. le Professeur H. PINON
UFR de Mécanique	Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID
UFR de Génie Electrique et des Procédés	Directeur : M. le Professeur G. CLERC
UFR Sciences de la Terre	Directeur : M. le Professeur P. HANTZPERGUE
UFR de Mathématiques	Directeur : M. le Professeur A. GOLDMAN
UFR d'Informatique	Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE
UFR de Chimie Biochimie	Directeur : Mme. le Professeur H. PARROT
UFR STAPS	Directeur : M. C. COLLIGNON
Observatoire de Lyon	Directeur : M. le Professeur R. BACON
Institut des Sciences et des Techniques de l'Ingénieur de Lyon	Directeur : M. le Professeur J. LIETO
IUT A	Directeur : M. le Professeur M. C. COULET
IUT B	Directeur : M. le Professeur R. LAMARTINE
Institut de Science Financière et d'Assurances	Directeur : M. le Professeur J.C. AUGROS

RESUME

Les processus de prises de décisions, et les comportements que les animaux adoptent à l'issue de ces processus, ont nécessairement des conséquences sur leurs chances de survivre et de se reproduire. Dans un environnement variable, l'utilisation d'informations fiables apparaît donc comme essentielle pour maximiser sa valeur adaptative. Dans le cadre théorique de la sélection sexuelle, l'objectif principal de la thèse est de comprendre les informations utilisées par les hyménoptères parasitoïdes lors des différentes étapes de la séquence d'appariement et de l'allocation aux sexes. Le manuscrit débute par une importante synthèse bibliographique puis présente les expériences menées en laboratoire et sur le terrain, en prenant l'exemple du parasitoïde solitaire *Venturia canescens*. Les résultats soulignent l'importance cruciale des informations liées aux conspécifiques lors de la phase d'acquisition des partenaires. Lors de la localisation du partenaire sexuel, les mâles augmentent leur efficacité de recherche en combinant l'information olfactive émise par les femelles à celle reliée à leurs habitats. Lors du choix du partenaire sexuel, les femelles reconnaissent et évitent de s'accoupler avec leurs frères, probablement sur la base d'une signature chimique, ce qui s'explique par le coût délétère des accouplements consanguins chez cette espèce. Comme chez de nombreuses espèces de parasitoïdes, la sex-ratio est biaisée en faveur des femelles, mais contrairement aux prédictions des modèles théoriques, le choix du sexe de la descendance ne semble pas dépendre des informations liées aux conspécifiques. Des contraintes physiologiques pourraient être responsables de ce biais.

MOTS-CLES

Système d'appariement, sélection sexuelle, sex-ratio (biais de), écologie comportementale, conspécifiques, phéromones sexuelles, accouplements consanguins (évitement des), parasitoïde solitaire.

ABSTRACT

The decision making processes, and the behaviors that result from them, influence reproductive sucess. Consequently, under variable environmental conditions, the acquisition of reliable information appears essential to maximize fitness. In the theoretical framework of sexual selection and mating system theories, the main objective of this thesis is to understand which information is used during the different steps of mating sequences in the hymenopteran parasitoids. The manuscript begins with an extensive review, then presents the experiments conducted both in the lab and in the field using the solitary parasitoid *Venturia canescens.* The results underline the crucial importance of information related to conspecifics during mate location and mate choice. Indeed, males increase their research efficiency when they combine olfactory information emitted by females which those related to their habitat. Females recognize and avoid sib mating, probably on the basis of a chemical signature. This can be explained by the deleterious cost of inbreeding in this species. As in many parasitoid species, the sex ratio is biased toward females in *V. canescens*, but contrary to prediction of theoretical models, sex allocation does not seem depending on information about conspecifics. Some physiological constraints might be responsible of this bias.

KEY-WORDS

Mating system, sexual selection, sex ratio bias, behavioural ecology, conspecifics, sex pheromones, sibmating avoidance, solitary parasitoid.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE 1

SECTION 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE 9

1. DEFINITIONS ET CONCEPTS UTILISES POUR L'ETUDE DE LA SEQUENCE D'APPARIEMENT 12

1.1. SELECTION SEXUELLE 12

1.1.1. Origine historique de la théorie de la sélection sexuelle 12

1.1.2. Des ajouts importants : le principe de Bateman et le principe de l'investissement parental de Trivers 13

1.2. SYSTEMES D'APPARIEMENTS ET STRATEGIES DE REPRODUCTIONS 17

1.3. INFORMATION ET COMMUNICATION ANIMALE 19

1.3.1. Signaux, indices et informations 19

1.3.2. Evolution de la forme et du contenu des signaux 20

1.3.3. Communication chimique et sélection sexuelle 21

2. LOCALISATION DES PARTENAIRES SEXUELS ET COMPETITION ENTRE MALES AVANT L'ACCOUPLEMENT CHEZ LES HYMENOPTERES PARASITOÏDES 23

2.1. CLASSIFICATION DE BASE DES SYSTEMES D'APPARIEMENT CHEZ LES PARASITOÏDES 23

2.1.1. Accouplements sur le site d'émergence ou accouplements locaux. 24

2.1.2. Recherche des partenaires après dispersion du patch de naissance 25

2.1.3. Limites de la classification : accouplements locaux partiels 26

2.2. INFORMATIONS UTILISEES LORS DE LA RECHERCHE D'UN PARTENAIRE SEXUEL 31

2.2.1. Informations utilisables pour le rapprochement lorsque mâles et femelles se situent à faible distance 31

2.2.2. Informations utilisables pour le rapprochement lorsque les partenaires sont éloignés 34

2.2.2.1. Etre assisté dans sa recherche 34

2.2.2.2. Chercher les femelles dans leur habitat : attractivité pour les mâles des semiochimiques liés aux hôtes et des volatiles émis par les plantes 42

2.2.2.3. Se regrouper et attirer les femelles ? 44

2.2.2.4. Conclusion sur les informations utilisables 44

2.3. ROLE RESPECTIF DE CHAQUE SEXE DANS L'ACQUISITION DES PARTENAIRES 46

2.4. INFORMATIONS ET COMPETITIONS ENTRE MALES AVANT L'ACCOUPLEMENT 48

2.4.1. Compétition indirecte : sensibilité aux signaux 48

2.4.2. Compétition directe : gardiennage pré-copulatoire, combat létaux et stratégies alternatives 49

3. CHOIX DU PARTENAIRE CHEZ LES HYMENOPTERES PARASITOÏDES 52

3.1. RECONNAISSANCE SPECIFIQUE 52

3.2. QUALITE DU PARTENAIRE COMME CRITERE DE CHOIX 54
3.2.1. Bénéfices matériels et sélection directe pour la préférence 54
3.2.2. Bénéfices génétiques et sélection indirecte de la préférence pour des bons gènes 55
3.2.3. Recherche de compatibilité et évitement de l'incompatibilité génétique 57
3.2.4. Choix du partenaire lorsque la qualité n'est plus un critère de préférence : biais sensoriel du receveur 61
3.2.5. Mécanismes d'estimation de la qualité 61
3.3. RESISTANCE A L'ACCOUPLEMENT : CONFLIT SEXUEL OU ESTIMATION DE LA QUALITE DES MALES ? .. 63

4. MANIPULATION DE LA SEX-RATIO EN REPONSE AUX CONSPECIFIQUES CHEZ LES HYMENOPTERES PARASITOÏDES 65

4.1. ROLES DES SEXES DANS LE CONTROLE DE L'ALLOCATION DES SEXES 65
4.2. MODELES THEORIQUES D'EVOLUTION DE LA SEX-RATIO IMPLIQUANT LES CONSPECIFIQUES 67
4.2.1. Compétition locale pour les partenaires 68
4.2.2. Le modèle de qualité de l'hôte et l'argument de surpopulation larvaire 72
4.2.3. Modèle des femelles contraintes 72
4.2.4. Résumé des prédictions théoriques des modèles d'évolution de la sex–ratio 74
4.3. INFORMATIONS ET MANIPULATIONS DE LA SEX-RATIO EN REPONSE AUX CONSPECIFIQUES 75
4.3.1. Effet de la présence d'autres femelles avant et/ou pendant la ponte sur la sex-ratio 75
4.3.1.1. Effet du nombre de fondatrices (modèle de LMC) 75
4.3.1.2. Acquisition d'informations sur les caractéristiques des conspécifiques et manipulation de la sex-ratio 78
4.3.2. Superparasitisme et manipulation de la sex-ratio en réponse aux conspécifiques 80
4.3.2.1. Rejet de l'hypothèse alternative « qualité de l'hôte » 81
4.3.2.2. Les signaux impliqués dans l'ajustement de la sex-ratio et de la taille de la ponte 83
4.3.3. Effet des interactions avec les mâles sur la sex-ratio (Constrained Model) 84
4.3.3.1. Effet de la présence de mâles avant et ou pendant la ponte sur la sex-ratio 84
4.3.3.2. Effet de la durée entre l'émergence et l'accouplement 85
4.3.3.3. Sex-ratio en fonction du lien de parenté avec le mâle 86

SECTION 2. RESULTATS 89

1. INFORMATIONS OLFACTIVES ET LOCALISATION DES PARTENAIRES SEXUELS 92

1.1. ARTICLE I – MATE FINDING IN A PARASITIC WASP IS MEDIATED BY SEVERAL CUES 92
Abstract 93
Introduction 94
Materials and Methods 96
Insect cultures 96
Female mating system and effect of female mating status on male attraction 98
Male responses to host patches previously visited by females 99
Statistical analyses 100
Results 101

Olfactory cues used for mate-location from a distance 101
Female mating system and effect of female mating status on male attraction 105
Male behaviour on host patches previously visited by females 105
Discussion *106*
1.2. INFLUENCE DE L'ASSOCIATION ENTRE LES FEMELLES ET LES HOTES SUR L'EMISSION DES INDICES OLFACTIFS UTILISES PAR LES MALES LORS DE LA LOCALISATION 110
1.3. INFORMATIONS UTILISEES PAR LES MALES POUR DETECTER LES FEMELLES A COURTE DISTANCE ET DECLENCHANT LA PARADE SEXUELLE. 113
1.3.1. Expérience 1 : phéromone sexuelle femelle faiblement volatile chez V. canescens *114*
1.3.2. Expérience 2 : combinaison d'informations visuelle, tactile et olfactive et déclenchement de la parade 115
1.3.3. Discussion et perspectives *116*
2. CHOIX DU PARTENAIRE SEXUEL ET EVITEMENT DES ACCOUPLEMENTS CONSANGUINS 118
2.1. ARTICLE II - SIB-MATING AVOIDANCE LIMITS RISK OF GENETIC INCOMPATIBILITY IN A PARASITIC WASP. 118
Abstract *119*
Introduction *120*
Materiel and method *122*
Rearing facilities 122
General set-up to obtain family 122
No-choice experiment 122
Choice experiment 123
Data analysis 123
Results *124*
No Choice experiment 124
Choice experiment 125
Discussion *126*
2.2. PERSPECTIVE : SIMILITUDE DE LA COMPOSITION DES PHEROMONES CUTICULAIRES ET VOLATILES EMISES PAR LES FRERES 130
2.3. AUTRES CRITERES DE CHOIX DES PARTENAIRES SEXUELS CHEZ V. CANESCENS ET COMPORTEMENT DES FEMELLES PENDANT LA PARADE SEXUELLE. 132
2.3.1. La taille des mâles influence-t-elle les chances de remporter un accouplement ? *132*
2.3.2. Réceptivité et réticence à l'accouplement *135*
3. ROLE DE L'INFORMATION PORTANT SUR LES CONSPECIFIQUES ET DES CONTRAINTES LORS DU CHOIX DU SEXE DE LA DESCENDANCE 137
3.1. DOES CONSTRAINED OVIPOSITION INFLUENCE OFFSPRING SEX RATIO IN THE SOLITARY PARASITOID WASP VENTURIA CANESCENS ? (ARTICLE III) 137
Introduction *139*

Materials and methods *141*
Estimation of constrained oviposition in the field. 142
Sex ratio response to conspecifics 143
Offspring production by mated and virgin females and life-time sex-ratio 143
Effect of sex on the survival of immature stages 144
Data analysis 144
Results *145*
Frequency of constrained oviposition and sex-ratio of unconstrained females in field conditions 145
Offspring production and lifetime sex ratio produced by mated and virgin females 146
Sex ratio response to conspecifics 147
Survival rate of male and female parasitoid larvae 147
Discussion *148*
3.2. LA FREQUENCE DE PONTE INFLUENCE-T-ELLE LA SEX-RATIO ? 152
3.2.1. Matériels et méthodes *152*
3.2.2. Résultats *153*
3.2.3. Conclusion et perspectives *153*
3.3. LES COUTS ASSOCIES A L'INSEMINATION PEUVENT-ILS EXPLIQUER L'AUGMENTATION DE LA SEX-RATIO AVEC L'AGE DES FEMELLES ? 155
3.3.1. Matériels et méthodes *156*
3.3.2. Résultats *157*
3.3.3. Discussion *157*

SECTION 3. DISCUSSION GENERALE 161

1. SYSTEME D'APPARIEMENT ET CAUSES EVOLUTIVES DU BIAIS DE SEX-RATIO CHEZ V. CANESCENS 165

1.1. QUEL SYSTEME D'APPARIEMENT POUR V. CANESCENS ? 165
1.2. LA SEX-RATIO BIAISEE EN FAVEUR DES FEMELLES PEUT-ELLE S'EXPLIQUER PAR DES ACCOUPLEMENTS LOCAUX PARTIELS ? 166
1.3. QUELLES SONT LES AUTRES CAUSES POSSIBLES AU BIAIS DE SEX-RATIO CHEZ V. CANESCENS ? 167
1.3.1. Hypothèse de la dispersion différentielle *167*
1.3.2. Hypothèse de la qualité de l'hôte *169*

2. AVANTAGES ET LIMITES DU POINT DE VUE ADOPTE POUR L'ETUDE DES PROCESSUS EVOLUTIFS, L'UTILISATION DE L'INFORMATION 170

3. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES 173

BIBLIOGRAPHIE 177

ANNEXES 201

LISTE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1. Représentation schématique de la séquence d'appariement et de ses conséquences chez les hyménoptères parasitoïdes (modifiée d'après Hardy et al 2005). Les compartiments gris et blancs représentent respectivement la contribution des femelles et des mâles. Après l'émergence, les adultes peuvent soit disperser hors du patch de naissance soit rester et rechercher un partenaire sexuel sur ce patch. 7

Figure 2. Illustration du principe de Bateman chez le triton *Taricha granulosa* (Jones et al., 2002). A gauche, la fréquence d'accouplements pour les mâles (en gris) et les femelles (en noir). A droite, le nombre de descendants et le gradient de sélection de Bateman (respectivement les cercles et le trait pointillé pour les femelles ; les losanges et le trait plein pour les mâles) en fonction du nombre d'accouplements. 14

Figure 3. Relation entre la quantité de phéromone émise par les mâles et la quantité d'alcaloïde transférée aux femelles (d'après Dussourd et al., 1991). 22

Figure 4. Relation entre le contenu en alcaloïdes des mâles et le pourcentage de plante en contenant dans leur régime alimentaire chez *Utetheisa ornatrix* (d'après Dussourd et al., 1991). 22

Figure 5. Dispositif expérimental utilisé par Ruther et al. (2000a) afin de tester l'attractivité pour les mâles *Lariophagus distinguendus* pour (a) des papier filtres imbibés d'extrait de femelles, (b) et (c) d'odeur de femelles invisibles (le mâle est dans le compartiment du haut et séparé des femelles par un voile de gaze qui laisse passer les odeurs),(d) contrôle : mâle seul. 31

Figure 6. Temps passé par des mâles *N. vitripennis* sur des extraits de papier filtre, l'élytre d'un coléopère (modèle cuticule insecte) ou sur un cadavre de mâle dépourvu d'odeur (Con : témoin (solvant), Ext : traité avec de l'extrait de femelle) pendant une période d'observation de 5 minutes. Les astérisques indiques des différences significative (***P<0.001, **P<0,01, n.s. non significatif) (Steiner et al., 2006). 32

Figure 7. Réaction de mâles *R. xylophagorum* a des ampoules en verre traitées avec des extraits de males âgés de 1 jour, de femelles vierges âgées de 1 jour et de femelles vierges âgées de 3 à 5 jours (solvant acétone). Le score de réponse correspond à la somme de coefficients attribués à des comportements observés lors de la parade sexuelle (Sullivan, 2002)..... 33

Figure 8. Réponse des femelles en fonction de leur statut d'accouplement et de leur âge à des extraits naturels et synthétiques de phéromone sexuelle mâle chez *N.vitripennis* (Ruther et al., 2007)..... 34

Figure 9. Procédure expérimentale et exemple de déplacement des mâles *Trichogramma brassicae*. (A) la moitié de l'arène est exposée à une femelle vierge pendant 30 min, (B) déplacement d'un mâle lorsqu'aucune femelle n'était présente pendant la phase de marquage, (C) déplacement d'un mâle après qu'une femelle a marché sur le côté gauche de l'arène (Pompanon et al., 1997)..... 37

Figure 10. Attractivité pour des mâles *Aphelinus asychis* (nombre moyen de visites) de feuilles ayant préalablement été exposées pendant 30 min à une femelle vierge, à une femelle accouplée, à un mâle, ou encore à aucun individu (témoin)(Fauvergue et al., 1995). 37

Figure 11. Mise en évidence de l'absence d'attractivité des femelles et de l'attractivité d'indices liés aux hôtes (fèces des acariens) pour les mâles *L. distinguendus*. Temps moyen passé dans chacun des quatre secteurs de l'olfactomètre. C1-C3 contrôles, T : sources d'odeurs testées : a) 10 femelles vierges, b) fèces des larves

hôtes, c) extrait dans l'hexane à partir des fèces, d) volatiles émis par les fèces. (d'après Ruther & Steidle, 2000)..... 42
Figure 12. En l'absence de compétition spermatique, les trajectoires évolutives peuvent devenir asymétrique si le coût de la recherche est plus important pour les femelles que pour les mâles : (a) coût de l'effort de recherche équivalent entre les sexes, (b) coût supérieur pour les femelles (Kokko & Wong, 2007)..... 47
Figure 13. Mimétisme chimique des mâles *Lariophagus distenguendus* (Steiner et al., 2005). Pourcentage de mâles répondant par vibration des ailes à des pupes de différents stades larvaires : (a) et des parasitoïdes adultes 0, 8, 24 et 32h après l'émergence, (b). Barre noire : femelles ; barre blanche : mâles. W : pupe blanche, Y jaune, RE yeux rouges, RM pièces buccales rouges, PM partiellement mélanisée, TM totalement mélanisé..... 50
Figure 14. Réponse des mâles *L. distenguendus* à différents types de grain (Und : sain, Inf : infesté par un hôte, Par : infesté par un hôte parasité). Barre noire : hôte parasité par une femelle, barre blanche : hôte parasité par un mâle (d'après Steiner et al., 2005)..... 50
Figure 15 Les deux composantes de la qualité génétique : les bons gènes (effet additif sur la fitness) et les gènes compatibles (effet non-additif sur la fitness) (a) quand l'allèle A est un bon gène, toutes les femelles vont maximiser leur fitness en choisissant le mâle A. (b) quand les allèles A et B représentent des gènes compatibles, chaque femelle va maximiser sa fitness en s'accouplant avec un mâle différent (la femelle AB peut choisir n'importe quel mâle car, quel que soit le mâle qu'elle choisira, la moitié de ses descendants seront hétérozygotes (ligne pointillé)(Neff & Pitcher, 2005)..... 58
Figure 16. Logarithme de la durée moyenne des tentatives de monte des mâles accédant à l'accouplement (barre grise) et de ceux qui ni accèdent pas (barre blanche) ± ES chez deux espèces d'Ichneumoninae (modifié d'après Teder, 2005)..... 64
Figure 17. Evolution de la sex-ratio optimale en fonction de *n*, nombre de femelles (fondatrices) qui colonisent un patch, selon les prédictions des modèles d'Hamilton (1967, 1979) pour les espèces à reproduction diploïdes et haplodiploïdes..... 69
Figure 18. La sex-ratio prédite pour la 2ème femelle de parasitoïde grégaire qui parasite un hôte est une fonction de la taille relative des deux pontes (T) et de la sex-ratio produite par la 1ère femelle (r1)..... 71
Figure 19. Chaque point représente la proportion de fils observée pour la deuxième femelle (r_2), lorsque deux femelles de *Nasonia vitripennis* pondent successivement dans un même hôte. La courbe correspond aux valeurs prédites de (r_2) quand r_1= 0,087..... 71
Figure 20. La Sex-ratio ESS pour les femelles non contraintes dans une population panmictique est une fonction de la proportion de femelles contraintes..... 73
Figure 21. Sex-ratio moyenne (avec IC à 95%) produit par des femelles seules de *T. heliothidis*, exposées à 20, 10, 4, 2 et 1 hôte. Les données sont représentées selon l'inverse du ratio « nombre d'hôtes par parasitoïde » (d'après Strand 1988)..... 76
Figure 22. Sex-ratio moyenne (carré noir avec IC à 95%) produit à partir de patches de 20 hôtes attaqués par 1, 2, 4, 10 et 20 femelles de *Telenomus heliothidis*, les carrés ouverts représentent les prédictions du modèle d'Hamilton (1979) (d'après Strand 1988)..... 76
Figure 23. Sex-ratio des descendants de *T. pretiosum* se développant dans des hôtes sains et parasités en fonction du rang de la femelle, par la première, la deuxième et la troisième femelle exposée sur un patch de 12 hôtes

(le nombre au dessus des barres indique le nombre d'hôtes observés dans chaque catégorie, par exemple 8 œufs, sur l'ensemble des expériences, qui ont été parasité 2 fois par la première femelle (self-superparasitisme) (d'après Luck et al., 2001)). 81
Figure 24. Sex-ratio produite par une femelle en fonction du temps pour les femelles accouplées à 1 jour (cercle), 8 jours (carré), ou 15 jours (triangle) (d'après Fauvergue *et al.* 1998) 86
Figure 25. Sex-ratio optimale en fonction du lien de parenté avec le mâle (frère : rond blanc, non apparenté (rond noir), en fonction du nombre de fondatrices *N* (Reece et al 2004). 87
Figure 26. Probability of still being on the point of release for tested females, before taking off, in the wind tunnel experiment according to the absence (dashed line) or presence (solid line) of hosts in the target boxes. Left panel: there is no females in the target boxes ; right panel: presence of females. Curves are computed using results from fitted parametric survival models with Weibull distribution. 102
Figure 27. Proportion of *V. canescens* males (black histogram) and females (white histogram) reaching the odour source (target, see Materiel and Methods). Error bars represent 95% confidence interval and numbers are sample sizes. Control: no host and no conspecific inside the target box. 104
Figure 28. Mean patch residence times (±SD) of *V. canescens* male according to the experimental treatment. 105
Figure 29. Schéma d'une vue latérale du tunnel de vol et du dispositif expérimental montrant la position des sources d'odeurs, celle de la cible à atteindre par rapport au point de lâché et la circulation de l'air dans le tunnel (flèches). 111
Figure 30. Photographies montrant les deux tubes recevant chacun un flux d'air et qui contiennent les sources d'odeurs (deux compartiments qui se suivent). La cible est matérialisée par le disque en papier. Av : compartiment avant, Ar : compartiment arrière, D : droite, G : gauche. 111
Figure 31. Temps moyen ± ES passé par des mâles sur chaque demi-disque de papier filtre (en seconde) l'un étant imbibé d'un extrait réalisé à partir de 3 femelles vierges et l'autre de solvant pur. Test de la différence des rangs signés de Wilcoxon, $V = 19$, $p = 0{,}07$. 114
Figure 32. Schéma du dispositif expérimental (à gauche vue de dessus) utilisé pour tester l'hypothèse que les combinaisons d'informations visuelles, tactiles et olfactives sont nécessaires pour provoquer la parade sexuelle chez les mâles *V. canescens*. 115
Figure 33. Observed frequencies of mating in the "no choice experiment" (34 replicates for each treatment) according to female's relatedness with the males and female's age (grey bars : 1-day-old females ; white bars : 4-days-old). Error bars represent 95% confidence intervals. 124
Figure 34. Percentage of observation trials ± CI in which there were either, no mating, mating between sibs, or mating between non sibs. Each female had the choice between a brother and an unrelated male. 125
Figure 35. Histogramme représentant la distribution de la moyenne des tailles échantillonnées au hasard parmi les trios de mâles présentés aux femelles. La flèche représente la position de la taille moyenne des mâles choisis par les femelles dans l'expérience. L'histogramme est construit à partir de 1000 simulations consistant à tirer au sort, pour les 46 trios, un mâle parmi les 3 présentés et à calculer la taille moyenne des mâles pour chaque échantillon. 133
Figure 36. Top panel: mean sex ratio (lines) and mean offspring number +SE (grey bars for males and black bars for females) evolution with female age. Bottom panel: number of mothers producing the observed sex ratio. 146

Figure 37. Courbes de survie de *V. canescens* en fonction des deux traitements concernant les hôtes : «sans hôte» en trait plein et « avec hôte » en trait pointillé. Les courbes sont calculées en utilisant les résultats provenant du modèle de Cox représentant le mieux les données..... 157

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Classification des stratégies de reproduction des mâles chez les insectes (modifié d'après Thornhill et Alcock 1983, p234). 18

Tableau 2. Résumé des différents systèmes d'appariement existant chez les mâles parasitoïdes en fonction de la dispersion des femelles hors du patch de naissance avant l'accouplement. Le risque d'accouplements consanguins est aussi indiqué. Les informations utilisées pour le rapprochement sont résumées (voir partie 2.2). Pour les espèces données comme exemple, l'accouplement des mâles a lieu : * majoritairement sur leur patch de naissance puis ils recherchent d'autres femelles ailleurs, ** majoritairement hors du patch d'émergence. 30

Tableau 3 : Liste des espèces de parasitoïdes chez lesquelles l'existence de phéromones permettant la communication entre les sexes a été montrée (*les phéromones sont toujours émises par les femelles, sauf indication contraire*). Pour chaque espèces, les caractéristiques de la ou des phéromones impliquées (phéromones femelles de contact, faiblement volatiles, volatiles, phéromones sexuelles mâles et phéromones déposées sur le substrat), si elles ont été identifiées chimiquement, ainsi que la méthode employée pour la mise en évidence, sont précisées : (T) = terrain, (C) = essais comportementaux, (E) = essais comportementaux à partir d'extraits chimiques, (O) = olfactomètrie, (WT) = tunnel de vol ; Id. : identification de la composition chimique de la phéromone. Dev : type de développement larvaire (G : Grégaire, S : Solitaire). Expérience : * source provenant de Kainoh et al. (1999), § de Fauvergue et al. (1999). 38

Tableau 4. Liste des espèces chez lesquelles les mâles sont attirés par la même information olfactive liée aux hôtes que les femelles. Dev : type de développement larvaire (S : solitaire, G : grégaire). 43

Tableau 5. Prédictions qualitatives des différents modèles d'évolution de la sex-ratio en réponse à la présence de conspécifiques mâles et femelles et de femelles confamiliales. Le tableau indique si la proportion de fils produite par une femelle en présence d'autres individus conspécifiques ou confamiliaux est supérieure (>) inférieure (<) ou égale (=) à celle produite par une femelle quand elle est seule à exploiter un patch (d'après King, 1996). 74

Table 6. Likelihood ratio test of the parametric survival models relating the time spent outside the release tube by males or females before they fly away (i.e. latency to take off) to the presence of *Conspecifics* and *Hosts* in the target boxes (Experiment 1). *Conspecifics* × *Hosts* represents the interaction between the two factors. Estimated regression coefficient, standard error (S.E.), and p-value corresponding to the significant covariates in the fitted model are also given for the chosen contrasts (F: presence of females, M: presence of males). The scale parameters are equal to 1.58 for males and 1.75 for females. 102

Table 7. Decomposition of the log linear model deviances (G-test) testing for conditional independence in the three-way table classifying males tested according to Success, Hosts and Conspecifics a) decomposition of the G-test (Gtotal= G1 + G2), given Hosts, when Success × Conspecifics and the three way interaction were omitted (first decomposition), and subsequent decomposition for two orthogonal comparisons of Conspecifics effect : M versus N and M+N versus F (second decomposition) (b) decomposition of the G-test (Gtotal), given Conspecifics, when Success × Hosts and the three way interaction were omitted. (M: males, F: females, N: no conspecific). 104

Tableau 8. Positions des hôtes (H) et des femelles (F) dans les compartiments du dispositif en fonction des quatre traitements expérimentaux (i à iv). En bas à droite, détail du dispositif expérimental (schéma de la cible vue de dessus). L'air, représenté par des flèches, circule à travers les compartiments qui sont séparés par un espace vide et fermés par un voile en mousseline représenté en trait pointillé. Av : compartiment avant, Ar : compartiment arrière, D : droite, G : gauche. 112

Tableau 9. Séquence des comportements constituants la parade sexuelle type chez les mâles *V. canescens* (durée moyenne de la parade sexuelle 6±3s (n=35), première description par van Santen & Schneider, 2002). . 113

Table 10. Decomposition of the log linear model deviances (G-test) testing for conditional independence in the three-way table classifying number of mating according to *Matedness*, *Relatedness* and *Age*, given *Age* when *Matedness* × *Relatedness* is deleted from the log linear model and given *Matedness* when it is *Matedness* × *Age*. 125

Table 11. Proportion of constrained females, observed sex-ratio produced by unconstrained females, and sex ratio (±95% confidence interval (CI)) predicted by the Constrained Model. The number of observed sex ratio values lower (<CI) and higher (>CI) than the 95% confidence intervals for the predicted sex ratio are also presented (Ode et al., 1997). Individuals were caught in 2005 in two different localities Valence and Nice. 145

Table 12. Generalized Estimating Equation parameter estimates for (a) the effect of female age, mating status (virgin or mated) and the interaction between both, on the daily progeny (assuming a Poisson distribution of residuals) and (b) the effect of female age on daily sex ratio (logistic regression, binomial distributed residuals). The working correlation matrix is exchangeable (correlation (a) 0,27 (b) 0.41) and estimated scale parameter (a) 1.86 (b) 1.88. 147

Table 13. Effect of the previous exposition to conspecifics on mated females' sex ratio (mean ± SE). 147

Tableau 14. Résultats de l'expérience portant sur la fréquence de ponte. 153

Introduction générale

La vie d'un organisme peut être vue comme une succession de problèmes à résoudre, au cours de laquelle les comportements adoptés peuvent avoir des conséquences sur les chances de survie et de reproduction, donc de transmission des gènes. Trouver de la nourriture ou un partenaire, prendre soin de ses jeunes, fuir face à un prédateur, se défendre contre un agresseur, vivre en groupe, sont autant d'exemples d'activités dans lesquelles l'utilisation d'informations pertinentes lors de la prise de décision améliore les chances de succès. Dans ce cadre, l'acquisition d'informations est une nécessité pour faire face aux variations de l'environnement. Les informations utilisables peuvent être de plusieurs types : internes, comme l'état nutritionnel et le stock d'œufs, ou externes, c'est-à-dire liées aux conditions physiques de l'environnement (température, luminosité), à la qualité de la nourriture, ou bien encore aux interactions avec des compétiteurs conspécifiques ou des membres d'autres espèces.

L'utilisation de l'information lors des réponses comportementales m'a servi de fil conducteur pour étudier les mécanismes et les causes évolutives de la succession des comportements exprimés au cours de la séquence d'appariement chez des insectes holométaboles, les hyménoptères parasitoïdes (voir encart 1 pour une définition). Chez les animaux à reproduction sexuée en général, la séquence d'appariement est constituée par les différentes étapes des interactions reproductives entre mâles et femelles, des comportements conduisant à la formation de la paire jusqu'à son maintien pour l'élevage des jeunes, en passant par la copulation en elle même (Alexander et al., 1997). Pour maximiser son succès reproducteur, l'animal doit, par exemple, décider où, quand, et comment il va trouver un partenaire, qui choisir comme partenaire, combien de partenaires avoir, etc… L'importance de l'investissement dans la descendance, notamment dans le sexe de la descendance, dépendra également de cette séquence. Dans les cadres théoriques de la sélection sexuelle et de l'allocation aux sexes, de nombreux modèles, mathématiques ou verbaux, prédisent quelles sont les décisions optimales pour un contexte environnemental donné (pour une revue voir Andersson, 1994 ; Choe & Crespi, 1997 ; Hardy, 2002). Bon nombres de ces modèles reposent sur des hypothèses plus ou moins explicites à propos de la connaissance que les animaux ont de leur environnement. Tester les prédictions de ces modèles nécessite donc de déterminer quelles sont les sources d'informations qu'un animal peut réellement acquérir pour prendre ces décisions (Parker & Maynard Smith, 1990 ; West & Sheldon, 2002).

Le modèle biologique utilisé pendant cette thèse est un hyménoptère parasitoïde solitaire de larves de papillon de nuit (Lepidoptera : Pyralidae), *Venturia canescens* Gravenhorst

(Hymenoptera : Ichneumonidae). Cette espèce est utilisée comme modèle en biologie, en éthologie puis en écologie comportementale depuis les années 1930 (Ahmad, 1936; Beling, 1932). Ses stratégies d'exploitation des hôtes et autres traits d'histoire de vie ont été, et restent étudiés, de façon intensive (Amat, 2004). Jusqu'à une période récente, la reproduction asexuée par parthénogénèse thélytoque était le seul mode de reproduction connu chez cette espèce. Les femelles asexuées se rencontrent en conditions anthropiques, parasitant des larves

Encart 1. Quelques caractéristiques des hyménoptères parasitoïdes

Les parasitoïdes sont des insectes qui ont une vie imaginale libre mais un mode de développement larvaire parasite. Les femelles pondent leurs œufs sur, ou dans le corps, d'un autre arthropode (ecto- *vs* endo-parasitoïdes respectivement), plus rarement à proximité. Les larves se développent aux dépends de l'hôte, ce qui entraîne généralement sa mort (Eggleton & Gaston, 1990). Ainsi, si un individu n'est directement responsable de la mort que d'un seul hôte pendant sa vie larvaire (comme parasite), c'est en pondant dans de multiples hôtes qu'une femelle va en éliminer un grand nombre (comme prédateur). Les parasitoïdes ont donc un mode de vie intermédiaire entre celui du parasite et du prédateur. Les adultes se nourrissent de nectars, de sucres de fruits ou de l'hémolymphe de leurs hôtes (Jervis et al., 1992).

Le tableau suivant présente les différents modes de développement larvaire existant chez les parasitoïdes.

Solitaire :	Quel que soit le nombre d'œuf pondus, un seul parasitoïde adulte émerge, les autres larves étant tuées à l'issue de la lutte entre larves.
Grégaire :	De deux à plusieurs dizaines d'adultes émergent d'un même hôte.
Quasi-grégaire :	Se dit des parasitoïdes ayant un mode de développement larvaire solitaire mais exploitant des hôtes agrégés.
Polyembryonnaire :	La division d'un seul œuf produit plusieurs larves.

D'un point de vue taxonomique, plusieurs ordres d'insectes comportent des espèces parasitoïdes. Ainsi, on trouve des diptères (ex : famille Tachynidae) et des coléoptères parasitoïdes (ex : famille Staphylinidae). Mais, sans conteste, le groupe le plus important en terme de nombre et de diversité d'espèces est celui des hyménoptères parasitoïdes (sous-ordre des Apocrites, infra-ordre des Térébrants) avec ses 50 000 espèces décrites (Godfray, 1994).

Les hyménoptères sont haplo-diploïdes, ce qui implique que, lors de la reproduction sexuée, les œufs fécondés se développent en femelles diploïdes et les œufs non fécondés en mâles haploïdes (parthénogenèse arrhénotoque). Après l'accouplement, les femelles stockent le sperme reçu dans un organe spécialisé, la spermathèque. Ces spermatozoïdes stockés vont être relâchés par petits nombres dans l'oviducte commun au moment du passage de chaque œuf pour le féconder. D'une part, l'haplo-diploïdie permet aux femelles vierges ou ayant épuisé leurs réserves de sperme de se reproduire, même si elles n'auront alors que des fils. D'autre part, ce système de déterminisme du sexe offre aux femelles accouplées un mécanisme physiologique simple de contrôle sur la sex-ratio de leur descendance, l'ouverture de la spermathèque permettant de produire une femelle et sa fermeture, un mâle (Flanders, 1965). La précision du contrôle du sexe du descendant peut être très important (Ratnieks & Keller, 1998). C'est sans aucun doute grâce à ce mode de reproduction, en plus des biais très marqués de sex-ratio, que les hyménoptères parasitoïdes restent un des principaux modèles biologiques pour l'étude de l'évolution de la sex-ratio (pour une synthèse voir Godfray, 1994 ; Ode & Hardy, 2007).

de pyralidae ravageurs de denrées stockées, comme la pyrale de la farine (*Ephestia kuehniella*). Des échantillonnages réalisés en conditions naturelles dans le sud de la France par C. Bernstein et G. Driessen à la fin des années 1990 ont révélé l'existence d'un mode de reproduction sexué par parthénogénèse arrhénotoque, avec des mâles et des femelles (Beukeboom et al., 1999). Depuis cette découverte, plusieurs équipes, dont celle qui m'a accueilli pendant cette thèse, s'intéressent à la cooccurrence des deux modes de reproduction et aux mécanismes permettant cette cooccurrence (Amat, 2004; Pelosse et al., 2007; Roberts et al., 2006; Schneider, 2003; Schneider et al., 2002; Thiel et al., 2006). Concernant les connaissances sur les relations mâles-femelles, seule la parade sexuelle constituée d'une succession de comportements stéréotypés (van Santen & Schneider, 2002) et le mode de déterminisme du sexe (à un locus complémentaire)(Beukeboom, 2001) avaient été décrits en 2003, année de mon DEA.

Chez *V. canescens,* une sex-ratio biaisée en faveur des femelles avait été observée à partir de piégeages réalisés en conditions naturelles (Amat, données non publiées). Mon point de départ a été la confirmation de l'existence d'un biais de sex-ratio chez cette espèce et l'étude des causes évolutives de ce biais. Or, comme nous le verrons dans la synthèse bibliographique, trouver une explication évolutive à un biais de sex-ratio ne peut se faire sans connaissance préalable des prises de décisions et stratégies mises en œuvre par les mâles et les femelles pour acquérir un partenaire sexuel, étapes précédant l'allocation aux sexes. Au-delà de cette motivation initiale à l'étude de la séquence d'appariement, il est rapidement apparu que les interactions mâles-femelles au moment de la reproduction, pourtant fondamentales pour la valeur sélective (fitness) d'un génotype, restaient mal connues chez les hyménoptères parasitoïdes. Ainsi, même chez les femelles, la production de filles par reproduction sexuée ne sera possible qu'après l'obtention de spermatozoïdes à l'issue d'un accouplement. En raison de l'absence de soins parentaux, la fitness d'un mâle dépendra principalement des stratégies mises en œuvre pour acquérir des femelles. La Figure 1 présente la succession des différentes étapes de la séquence d'appariement dans un cas très général, associées aux différents contextes théoriques auxquels ces étapes font référence.

L'objectif général de cette thèse a été de déterminer le rôle de certaines informations dans les prises de décisions pour l'acquisition d'un partenaire sexuel et le choix du sexe de sa descendance chez un hyménoptère parasitoïde. Plus spécifiquement, je me suis concentrée sur l'influence des informations ayant un lien direct ou indirect avec les conspécifiques mâles et femelles. Ce choix a une double justification. Premièrement, d'après les modèles théoriques

d'optimisation dépendant de la fréquence, la valeur sélective d'une stratégie individuelle va dépendre de l'ensemble des décisions prises par les autres individus de la population (Parker & Maynard Smith, 1990). Deuxièmement, l'acquisition d'informations portant sur les conspécifiques, lorsqu'elle réduit l'incertitude sur la valeur d'une décision, est avantageuse (Danchin et al., 2004). J'ai également considéré que les mâles et les femelles pourraient avoir intérêt à utiliser simultanément plusieurs sources d'informations et j'ai donc examiné l'effet de combinaisons d'informations sur les réponses comportementales lors de l'acquisition des partenaires sexuels. Finalement, j'ai aussi recherché les contraintes et les biais pouvant peser sur les décisions d'allocations aux sexes.

La première section de ce manuscrit est une synthèse bibliographique consacrée aux rôles des informations liées directement ou indirectement aux conspécifiques : i) lors de la séquence d'appariement et, ii) lors du choix du sexe de la descendance chez les hyménoptères parasitoïdes. La deuxième section présente les résultats obtenus aux cours de cette thèse. Cette section a une structure mixte puisqu'elle est constituée d'articles publiés ou à soumettre, de résultats complémentaires qui n'ont pas trouvé leur place dans ces articles et aussi de mes perspectives à court terme qui correspondent à des projets en cours. Cette thèse s'achève sur une troisième section discutant des résultats et présentant les perspectives générales à mon travail.

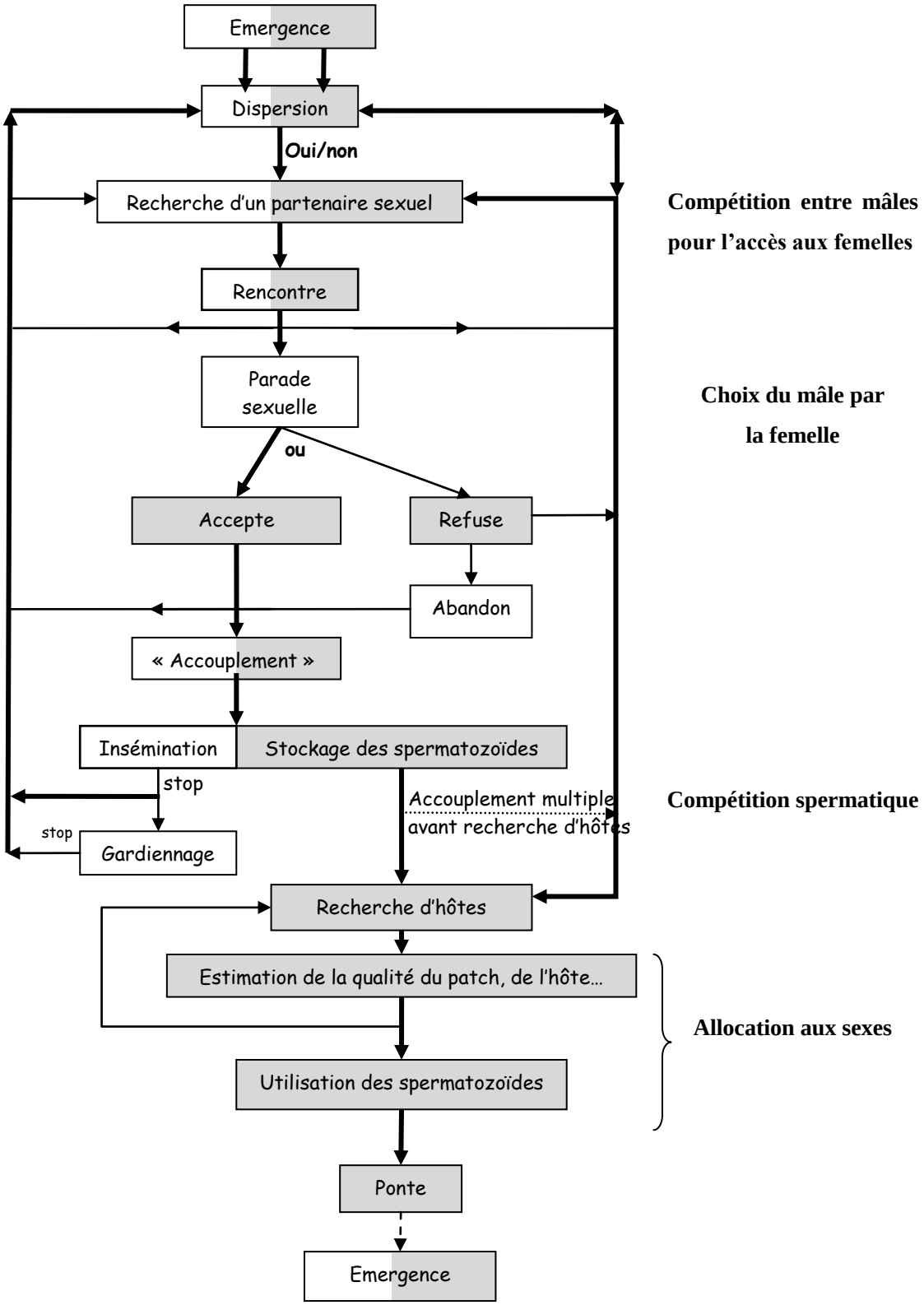


Figure 1. Représentation schématique de la séquence d'appariement et de ses conséquences chez les hyménoptères parasitoïdes (modifiée d'après Hardy et al 2005). Les compartiments gris et blancs représentent respectivement la contribution des femelles et des mâles. Après l'émergence, les adultes peuvent soit disperser hors du patch de naissance soit rester et rechercher un partenaire sexuel sur ce patch.

Section 1 : Synthèse bibliographique

La synthèse bibliographique par laquelle débute cette thèse est articulée en quatre chapitres. Le premier définit les concepts théoriques principaux qui sont employés dans cette thèse, à savoir la sélection sexuelle, la notion de système d'appariement et le problème de la communication animale. Les deux chapitres suivants sont consacrés au rôle de l'information dans la séquence d'appariement des hyménoptères parasitoïdes. Ainsi, le deuxième chapitre porte sur l'étape de localisation des partenaires sexuels et de compétition intra-sexuelle et le troisième sur le problème du choix du partenaire (compétition inter-sexuelle). Enfin, le dernier chapitre s'intéresse aux mécanismes et aux causes évolutives des manipulations de la sex-ratio chez ces insectes.

En écrivant cette introduction, j'ai répondu à mon envie et à mon besoin de faire une synthèse de mes lectures pendant ces quatre années de recherche. En raison du caractère transversal à plusieurs questions de ma problématique, mes lectures ont porté sur une très vaste littérature allant des problèmes de communication jusqu'aux modèles théoriques d'évolution de la sex-ratio, en passant par des questions relatives à la reconnaissance de parentèle lors du choix des partenaires. M'intéressant aux causes ultimes mais aussi aux causes proximales, cette synthèse fait référence à des articles théoriques aussi bien qu'à des articles expérimentaux recherchant les mécanismes fins des comportements. La première section est donc conséquente. Je me suis néanmoins efforcée, excepté dans le premier chapitre qui définit et présente des concepts généraux, de rester toujours en lien avec l'utilisation de l'information chez les hyménoptères parasitoïdes.

1. DEFINITIONS ET CONCEPTS UTILISES POUR L'ETUDE DE LA SEQUENCE D'APPARIEMENT

Dans ce chapitre, je présenterai le cadre théorique général de la thèse, c'est-à-dire les concepts de sélection sexuelle et d'investissement parental expliquant le rôle de chaque sexe dans l'acquisition des partenaires sexuels. Puis il sera question des systèmes d'appariement. Je finirai en abordant la communication animale, les problèmes d'acquisition et de choix du partenaire pouvant être vu comme un problème particulier de la communication.

1.1. Sélection sexuelle

1.1.1. Origine historique de la théorie de la sélection sexuelle

> [Sexual selection] "depends, not on a struggle for existence, but on a struggle between the males for the possession of females; the results is not death to the unsuccessful competitors but few or no offspring." (Darwin 1859, p 88)

Le concept de sélection sexuelle fut proposé par Darwin dès 1859 dans "*On the origin of species*" en même temps que celui de sélection naturelle. La sélection sexuelle lui permettait d'expliquer comment des caractères sexuels secondaires, comme un plumage chatoyant chez les oiseaux, les bois des cervidés ou le chant des grillons, bien que coûteux en terme de survie pour les porteurs de ces caractères pouvaient être maintenus. Darwin proposa que ces caractères étaient sélectionnés car ils s'avéraient avantageux dans la compétition pour l'obtention des femelles. Ainsi la sélection sexuelle peut être définie comme la sélection résultant des différences de succès reproducteur liée à la compétition pour l'accès aux partenaires sexuels.

> "The sexual struggle is of two kinds; in the one it is between the individuals of the same sex, generally the males, in order to drive away or kill their rivals, the females remaining passive; whilst in the other, the struggle is likewise between the individuals of the same sex, in order to excite or charm those of the opposite sex, generally the females, which no longer remain passive, but select the more agreeable partners." (Darwin 1882, p 614)

Darwin reconnaissait deux mécanismes déterminants dans la sélection sexuelle. Le premier fait référence à la lutte des mâles pour la possession des femelles, via des combats physiques mais aussi via l'efficacité de recherche ou la capacité à attirer des femelles (Otte 1979). Le second mécanisme de la sélection sexuelle correspond au processus de choix du partenaire par les femelles qui se doivent de préférer les mâles les plus vigoureux ou les

mieux armés. Malgré l'apport incontestable de Darwin dans la découverte et la définition du concept de la sélection sexuelle, quelques points de confusions demeuraient. D'une part, Darwin (1882) faisait de la sélection naturelle et de la sélection sexuelle deux forces évolutives opposées, alors qu'en terme de valeur sélective mourir, ou échouer à se reproduire, sont équivalents : les gènes ne sont pas transmis. D'autre part, il ne savait comment expliquer l'asymétrie de la sélection sexuelle, c'est-à-dire pourquoi, le plus souvent, les mâles sont en compétition alors que les femelles choisissent.

1.1.2. Des ajouts importants : le principe de Bateman et le principe de l'investissement parental de Trivers

Il faudra attendre la deuxième moitié du XXème siècle et les travaux de Bateman (1948) puis ceux de Trivers (1972) pour trouver une explication à l'asymétrie de la sélection sexuelle. Lors d'une célèbre expérience menée sur des drosophiles, Bateson (1948) montra pour la première fois que la variance du succès reproducteur était plus forte chez les mâles que chez les femelles. En plaçant ensemble un nombre identique de mâle et de femelles, il observa qu'alors que toutes les femelles ou presque étaient courtisées, s'accouplaient et produisaient des descendants, une proportion importante des mâles n'arrivait pas à obtenir d'accouplement (4% de femelles sans descendants *contre* 21% de mâles). En revanche, un petit nombre de mâles obtenait une descendance 3 fois plus nombreuse que la plus féconde des femelles.

En simplifiant, le nombre de descendants obtenu par un mâle est proportionnel au nombre de femelles avec lesquelles il se sera accouplé. Au contraire, un à deux accouplements suffisent à une femelle pour féconder tous ses œufs, ce qui expliquerait pourquoi celles-ci ne sont pas motivées pour s'accoupler avec davantage de partenaires. Bateman (1948) expliquait ces résultats par les différences entre les gamètes mâles et femelles. Cette anisogamie correspond à une différence d'investissement énergétique par gamète entre les mâles et les femelles. Les ovocytes constituent de grosses cellules coûteuses à produire par rapport aux spermatozoïdes. Alors que les mâles vont maximiser leur succès reproducteur par le nombre d'œufs fertilisés, les femelles devraient être limitées, non pas par leur capacité à faire fertiliser leurs œufs, mais par leur capacité à les produire. Dans ces conditions, les femelles représentent une ressource limitante pour les mâles, qui sont en compétition pour l'accès aux femelles, alors que les femelles peuvent se contenter de quelques accouplements pour féconder tous leurs œufs. La Figure 2 montre la validation du

principe de Bateman chez un triton (Jones et al., 2002). Cependant, nous verrons par la suite que les violations du principe de Bateman sont nombreuses car l'investissement des mâles dans l'élevage des jeunes peut être indispensable pour leur survie et les femelles peuvent gagner d'avantage qu'un moyen de fertiliser leurs œufs à s'accoupler avec plusieurs mâles.

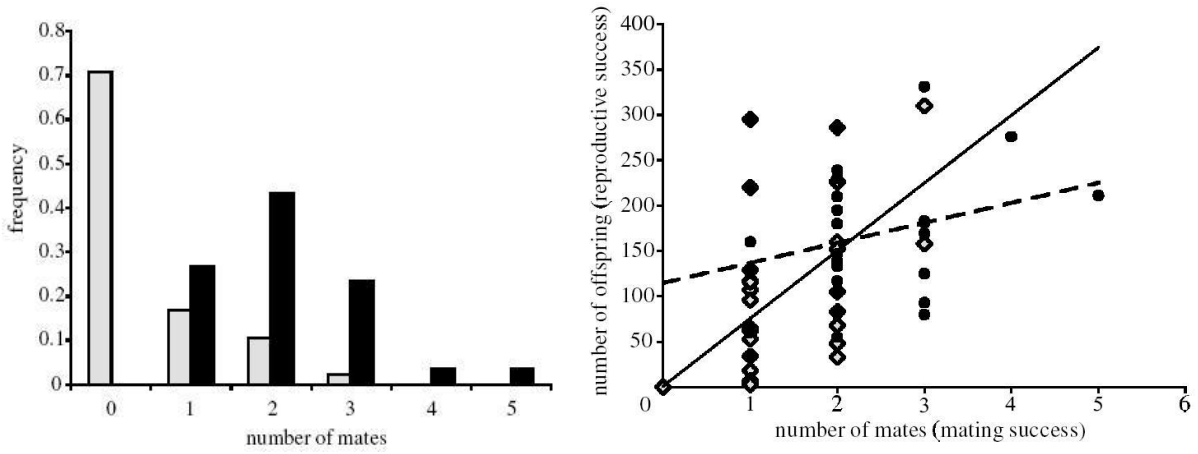


Figure 2. Illustration du principe de Bateman chez le triton *Taricha granulosa* (Jones et al., 2002). A gauche, la fréquence d'accouplements pour les mâles (en gris) et les femelles (en noir). A droite, le nombre de descendants et le gradient de sélection de Bateman (respectivement les cercles et le trait pointillé pour les femelles ; les losanges et le trait plein pour les mâles) en fonction du nombre d'accouplements.

> "What governs the operation of sexual selection is the relative parental investment of the sexes in their offspring." (Trivers 1972, p142)

Trivers (1972) a donné une dimension supplémentaire au principe de Bateman en cherchant l'origine de la sélection sexuelle. Il définit la notion d'investissement parental comme étant n'importe quel investissement qu'un parent peut faire dans un de ses descendants, investissement qui augmente les chances de survie de ce dernier (et aussi son succès reproducteur), tout en coûtant au parent la capacité d'investir dans d'autres descendants. Cette définition inclut donc, en plus du coût de la production des gamètes, celui des soins parentaux tels que le nourrissage ou la défense contre les prédateurs. En revanche, elle exclut le coût de la recherche du partenaire ou de la compétition avec les autres membres du même sexe qui ne permettent pas d'augmenter la survie des jeunes (Trivers, 1972).

La différence de taux potentiels de reproduction entre mâles et femelles engendrés par l'anisogamie implique que le bénéfice des soins parentaux en termes de fitness est plus important pour les femelles que pour les mâles (voir Encart 2). Puisque le nombre de descendants par sexe doit être égal au nombre de descendants produit par l'autre sexe et en supposant que les sexes ne diffèrent que par leur degré d'investissement parental (pas de mortalité différentielle et sex-ratio équilibrée), le sexe ayant le plus fort investissement

parental devient une ressource limitante pour le sexe opposé et peut donc choisir (Trivers 1972, p139). Chez la plupart des espèces, les mâles investissent moins que les femelles en soins parentaux. Ils sont donc en compétition pour l'accès aux femelles et améliorent principalement leur valeur sélective en augmentant le nombre d'accouplement qu'ils peuvent obtenir. A l'opposé, les femelles prennent en charge la majorité des coûts de l'élevage des jeunes et se doivent d'être sélectives quant au choix de leurs partenaires afin d'améliorer leur chance de survie et leur futur succès reproducteur. Ainsi, chez les mammifères, les femelles s'excluent de toutes possibilités de nouvelles reproductions pendant la période de gestation et la lactation, c'est-à-dire jusqu'au sevrage des jeunes. Le principe de l'investissement parental (Trivers, 1972) a été formalisé mathématiquement plus tard par Maynard Smith (1977).

Les critiques se sont récemment multipliées sur la question de la nature du lien entre anisogamie et asymétrie de l'investissement parental (Encart 2 Clutton-Brock, 2007; Kokko & Jennions, 2003; Queller, 1997; Wade & Shuster, 2002).

De manière générale, le principe de l'investissement parental explique que les femelles puissent quand même entrer en compétition et que les mâles se montrent sélectifs si ceux-ci fournissent un investissement parental conséquent (pour une synthèse chez les insectes voir (Bonduriansky, 2001)). Ce principe explique aussi les cas extrêmes d'inversion des rôles entre les sexes. Ainsi, chez les *Pipefishes*, poissons appartenant à la famille des hippocampes, les mâles incubent les œufs dans leur poche ventrale, prenant en charge la majeure partie du coût de l'élevage des jeunes. Ils préfèrent s'accoupler avec les femelles arborant les ornements les plus marqués, ces femelles étant aussi les plus combatives (pour une revue voir Berglund & Rosenqvist, 2001).

Encart 2. Sélection sexuelle, cause ou conséquence de l'asymétrie de l'investissement parental ?

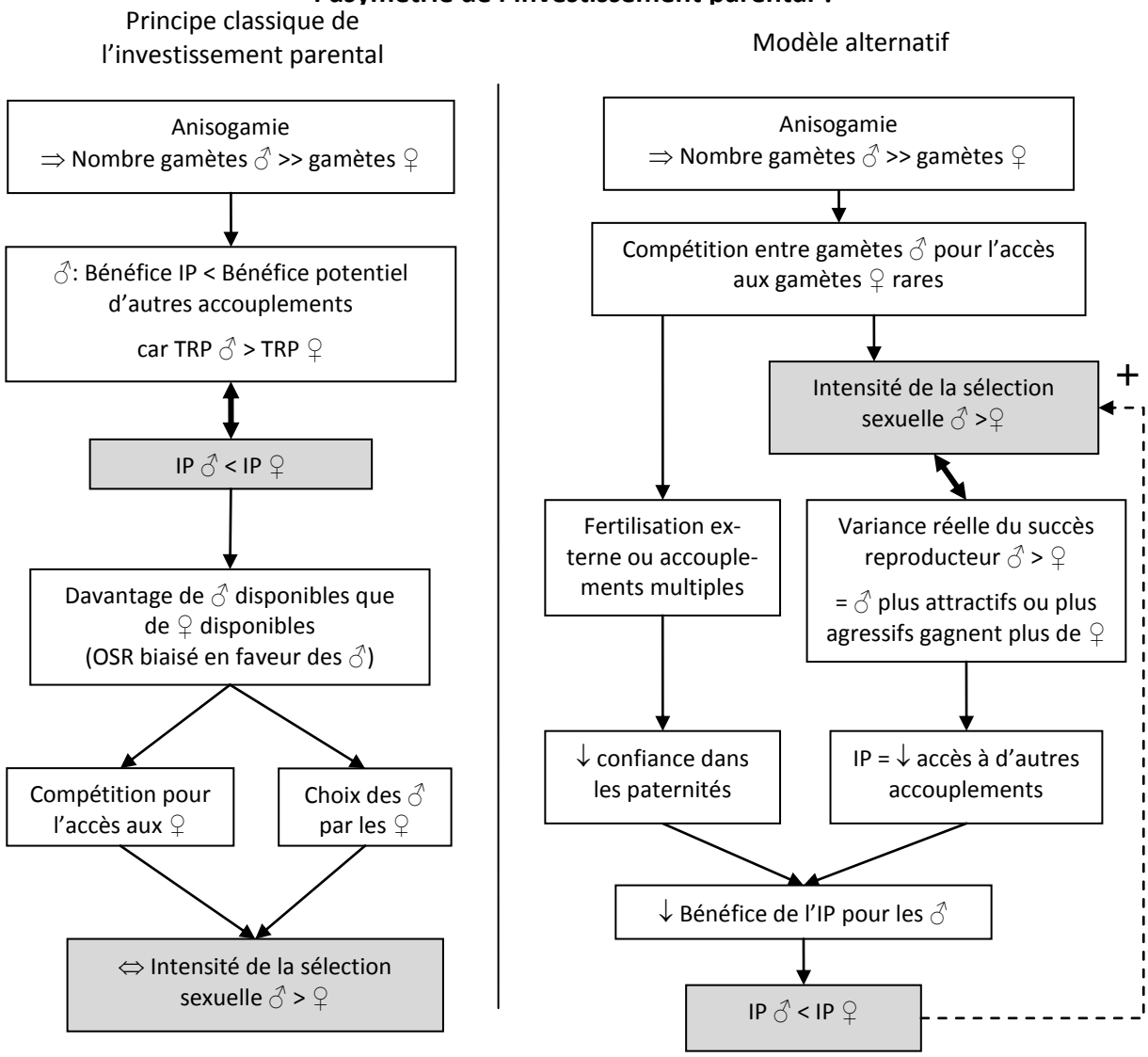


Figure a. Principe classique de l'investissement parental (Trivers 1972) et modèle alternatif proposant la sélection sexuelle comme origine à l'asymétrie d'investissement parental (d'après des arguments de Kokko et Jennions 2003). TPR : Taux Potentiel de Reproduction, IP Investissement Parental, OSR : Sex-Ratio Opérationnelle. La flèche de feedback positif indique que l'asymétrie d'investissement parental accentue l'intensité de la sélection sexuelle (grâce au processus de droite).

D'après Kokko & Jennions (2003), le lien de causalité classiquement établi entre l'asymétrie de l'investissement parental (IP) et celle de la sélection sexuelle reposerait sur la différence de taux potentiels de reproduction entre mâles et femelles (voir aussi Queller, 1997; Wade & Shuster, 2002). Or, dans les processus évolutifs, le potentiel compte moins que le taux réel de reproduction, qui en moyenne ne diffère pas entre mâles et femelles car, i) chaque individu a un père et une mère, ii) le nombre total d'accouplements ne diffère pas entre mâles et femelles lorsque la sex-ratio est équilibrée. Wade et Shuster (2002) ont montré de façon formelle que le modèle de Maynard Smith (1977) violerait ce principe de base du nombre moyen de descendants égal entre mâles et femelles (Wade & Shuster, 2002).

La sélection sexuelle créée par l'anisogamie serait donc à l'origine de l'asymétrie des IP et pas l'inverse. Les deux mécanismes conduisant à cette asymétrie sont la différence de variance dans le succès reproducteur entre mâles et femelles et l'incertitude des paternités (Queller, 1997). Cependant, l'asymétrie dans l'IP, en exerçant un rétrocontrôle positif, peut tout de même augmenter l'intensité de la sélection sexuelle.

1.2. Systèmes d'appariements et stratégies de reproductions

Au sens strict, le système d'appariement (*mating system*) se définit comme le nombre de partenaires sexuels par individu au cours d'un épisode reproductif. Deux grands types de systèmes existent, la monogamie, dans laquelle mâles et femelles n'ont qu'un seul partenaire sexuel, et par opposition, la polygamie. La polygamie se divise en polygynie, polyandrie et polygynandrie (ou promiscuité sexuelle). Dans les systèmes polygynes, certains mâles s'accouplent avec plusieurs femelles mais les femelles ne s'accouplent qu'une fois, tandis que l'inverse se produit dans les systèmes polyandres. Enfin, lorsque les deux sexes ont de multiples partenaires, on parle de polygynandrie.

Le lien existant entre système d'appariement et sélection sexuelle est assez direct, la sélection sexuelle devant être plus forte chez les espèces polygames que chez les espèces monogames. En effet, le potentiel de sélection sexuelle augmente lorsque la variance du succès reproducteur des individus augmente (Wade 1979, Wade et Shuster 2005). Dans un système polygyne typique, le potentiel de sélection sexuelle est fort car seuls quelques mâles ont accès à la reproduction alors que toutes les femelles (ou presque) s'accouplent une fois et ont des descendants (la variance du succès reproducteur des mâles est supérieur à celui des femelles). Dans un système monogame où chaque mâle est supposé s'accoupler avec une femelle, la variance attendue du nombre de descendants sera la même chez les mâles et les femelles. Lorsque les femelles ont plusieurs partenaires sexuels (systèmes promicuistes et polyandres), la compétition entre mâles pour l'accès aux femelles se fait aussi via la compétition spermatique, un mécanisme de compétition des spermatozoïdes pour la fertilisation de l'ovule après l'accouplement. Dans ces systèmes, les femelles peuvent aussi exercer un « choix cryptiques » sur les spermatozoïdes et influencer les paternités.

Le terme de système d'appariement est aussi employé dans un sens plus large pour désigner la stratégie de reproduction d'une espèce. Il comprend alors quatre composantes (1) la structure sociale (2) la tactique d'acquisition des partenaires (3) le système d'appariement au sens strict (4) les soins parentaux (Emlen & Oring 1977). Par structure sociale, il faut comprendre l'existence d'une paire qui persiste après l'accouplement pour permettre une meilleure survie des jeunes. Il n'y a pas de structure sociale chez les hyménoptères parasitoïdes, de même que les soins parentaux au sens traditionnel n'existent pas, même si pour quelques rares espèces l'investissement maternel dans la descendance se poursuit après la ponte par une défense de l'hôte parasité (e.g. *Gonozius nephantidis* Goubault et al., 2007). Pour éviter toute confusion, par la suite, le terme de *système d'accouplement* désignera le

nombre de partenaires et celui de *système d'appariement* gardera son sens large de stratégie de reproduction.

Dans la vision traditionnelle de la sélection sexuelle, les mâles sollicitent davantage les femelles que l'inverse, ce qui explique pourquoi les systèmes d'appariement sont classés davantage en fonction des activités des mâles pour acquérir un maximum de femelles qu'en fonction des tactiques des femelles pour profiter de la polyandrie. Emlen et Oring (1977) suggèrent que le fait que les femelles, ou les ressources utilisées pour les acquérir, puissent être monopolisées par les mâles, limite la reproduction des mâles et détermine les systèmes d'appariements. Cette capacité de monopolisation des femelles par les mâles dépendrait principalement de la distribution spatiale et temporelle des femelles réceptives (ou des ressources) donc de contraintes écologiques (voir aussi Borgia, 1979 ; Shuster & Wade, 2003; Thornhill & Alcock, 1983). Même si on ne peut pas la réduire exclusivement à cela (Shuster & Wade, 2003), l'intensité de la compétition entre mâles serait d'autant plus importante que le ratio du nombre de mâles sexuellement actifs sur le nombre de femelles réceptives et disponibles (Sex Ratio Opérationnel ou OSR) est déséquilibré en faveur des mâles (Emlen et Oring 1977). Thornhill et Alcock (1983) ont proposé une classification écologique des systèmes d'appariement chez les insectes basée sur l'hypothèse de Emlen et Oring (1977) qui est résumée dans le tableau 1.

Tableau 1. Classification des stratégies de reproduction des mâles chez les insectes (modifié d'après Thornhill et Alcock 1983, p234).

I. **Monogamie :** un mâle s'accouple avec une seule femelle car il ne peut pas accéder aux autres en raison
   a. Du gardiennage de la femelle contre les autres mâles
   b. Du suicide reproductif c'est-à-dire la mort du mâle à l'issus de l'accouplement
   c. De l'assistance à l'élevage des jeunes

II. **Polygynie :** les mâles peuvent s'accoupler avec plusieurs femelles
   a. Les femelles, ou les ressources attractives pour ces femelles, sont suffisamment regroupées et peuvent être monopolisées
      i. **Défense des femelles contre les autres mâles** (de plusieurs femelles successivement ou d'un groupe)
      ii. **Défense des ressources attractives** pour les femelles
         - défense des ressources sur site
         - défense de ressources collectées ou préparées par les mâles
   b. Les ressources ou les femelles sont dispersées à l'émergence et ne peuvent pas être monopolisées
      i. Dominance pure ou **polygynie de lek** (défense contre les autres mâles d'un territoire symbolique préféré par les femelles)

- défense de point élevé ou de repères dans le paysage
- défense d'un site en périphérie d'une ressource

ii. **Compétition de type course aux partenaires** (traduction approximative de « scramble competition ») : les mâles les plus performants et les plus rapides dans la recherche acquièrent le plus de femelles.

- rassemblement reproductif explosif lorsque les femelles ne sont disponibles que pendant un très bref intervalle de temps
- les mâles recherchent les femelles sur une période de temps plus longue.

La communication animale et l'utilisation d'autres informations pertinentes sont nécessaires pour la réussite de toutes ces stratégies de reproductions. La partie suivante définie ces différentes notions.

1.3. Information et communication animale

1.3.1. Signaux, indices et informations

D'après Maynard Smith et Harper (2003), un signal correspond à un acte ou une structure (physique ou chimique) qui altère le comportement d'un autre organisme, qui a évolué à cause de cet effet, et qui est efficace parce que la réponse du récepteur a elle aussi évolué. Les signaux transmettent aux individus récepteurs des informations portant sur les émetteurs et sont donc les véhicules empruntés par la communication animale. Les signaux ont de multiples fonctions : acquisition d'un partenaire sexuel, évincement d'un rival lors d'une confrontation pour l'accès à une ressource ou encore avertissement des congénères de la présence d'un danger. La nature des signaux émis varie selon le canal employé pour transmettre l'information (visuel, auditif/vibratoire, olfactif (chimique) et tactile). Cette diversité de la nature des signaux est liée à celle des systèmes d'émission et de réception. Ainsi, comme le bénéfice pour l'émetteur dépend de la réponse du récepteur, les propriétés sensorielles et cognitives du récepteur exercent de fortes pressions de sélection sur la forme du signal émis. Réciproquement, la sélection naturelle avantage les récepteurs capables de décrypter l'information contenue dans le signal (Johnstone, 1997).

Une partie des informations provenant d'autres organismes n'a pas été façonnée par la sélection naturelle pour communiquer de l'information et ne peut donc pas être considérée comme des signaux au sens strict. Ces informations se nomment indices (*cue* en anglais) et peuvent être définies comme toutes les autres variables informatives utilisées par les animaux

pour les guider dans leurs décisions, qu'elles appartiennent au monde animé ou inanimé (Maynard Smith & Harper, 2003; Seeley, 1998).

1.3.2. Evolution de la forme et du contenu des signaux

Pour étudier l'évolution d'un signal, il convient de faire une distinction entre ses deux composantes : sa forme et son contenu (Guilford & Dawkins, 1991). La forme du signal, c'est-à-dire le canal de communication choisi, la nature, l'intensité et le moment de l'émission du signal, est soumise à de multiples pressions de sélection (pour une revue des causes de l'évolution de la forme des signaux, Endler, 1993). Elle dépend notamment de son efficacité dans la transmission du message au receveur : le signal doit pouvoir être transporté sans déformation dans un environnement physico-chimique ayant des contraintes propres, tout en étant le plus adapté possible aux systèmes sensoriels et cognitifs du receveur. La forme du signal doit aussi minimiser les coûts liés à sa production pour l'émetteur, mais aussi les coûts liés à l'interception ou à l'utilisation du signal par des receveurs non désirés : les prédateurs, les parasites et les conspécifiques (espionnage).

Le contenu du signal est en fait l'information concernant l'émetteur et qui intéresse le receveur (Guilford & Dawkins, 1991), par exemple sa qualité en tant que partenaire sexuel potentiel ou concurrent pour l'accès au partenaire. Selon la définition de Maynard Smith & Harper (2003) (« un signal est efficace parce que la réponse du receveur a elle aussi évolué »), le signal doit transporter la plupart du temps une information fiable pour le receveur (voir Encart 3), mais pas nécessairement tout le temps (Maynard Smith & Harper, 2003). En effet, si les intérêts respectifs du receveur et de l'émetteur peuvent converger, il y a souvent des conflits d'intérêts entre les protagonistes, ce qui explique le recours à la tricherie. Dans ce cas, un signal devient une action ou une structure qui augmente la fitness d'un individu en altérant celle d'un autre organisme (Krebs & Dawkins, 1984). Une véritable course aux armements à travers l'évolution du signalement peut donc s'engager entre les émetteurs et les receveurs qui doivent « deviner » les intentions des émetteurs.

Encart 3. Le problème de la fiabilité du signal

L'un des problèmes fondamentaux de l'évolution des systèmes de communication et donc des signaux quels que soit leurs fonctions, est aujourd'hui encore de déterminer les conditions de maintien du signal, c'est-à-dire de leur honnêteté (Maynard Smith & Harper, 1995; 2003). En effet, si l'on ne considère pas les signaux comme étant exclusivement des manipulations du receveur par l'émetteur (Krebs & Dawkins, 1984), qu'est ce qui garantit au receveur que, dans la majorité des cas,

l'information contenue dans le signal est fiable ?

Dans le contexte du choix du partenaire sexuel, Zahavi (1975) propose le principe du Handicap : les signaux sont honnêtes car ils sont énergétiquement coûteux à produire, ou coûteux par leurs conséquences, comme l'augmentation du risque de prédation ou de parasitisme. Le coût est proportionnel à l'intensité du signal. Les partenaires de bonne qualité sont ceux capables d'endurer les coûts les plus importants pour la production du signal et qui donc produisent les signaux les plus intenses (figure a).

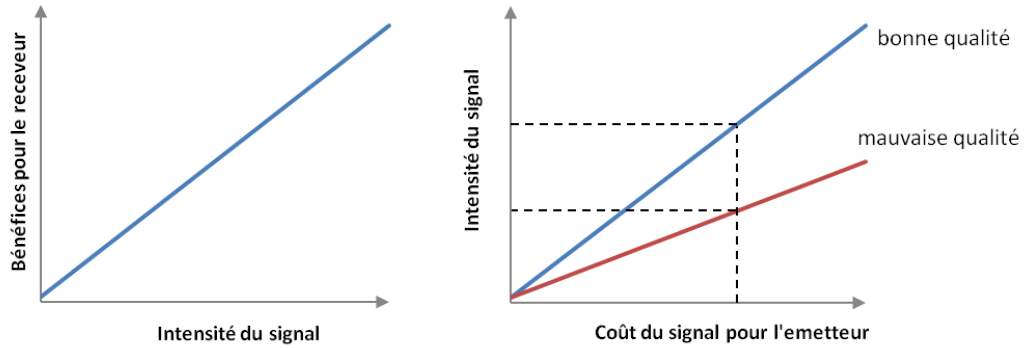


Figure a. Condition de maintien de la fiabilité du signal d'après le principe du Handicap. Pour que le signal soit honnête, les bénéfices pour le receveur devront être d'autant plus importants que le signal est intense (à gauche). La possibilité d'exprimer un signal intense dépend de la condition de l'émetteur, les émetteurs de bonne qualité produisant un signal plus intense à coût équivalent que des émetteurs de mauvaise qualité.

Est-ce que cela signifie que tous les signaux sont nécessairement coûteux ? Le coût minimal d'un signal est celui de son efficacité. L'émetteur dépensera toujours un minimum d'énergie pour le produire ou prendre un minimum de risques pour que le signal soit perçu par le receveur (Endler, 1993; Guilford & Dawkins, 1991 ; 1995). Les signaux handicapant demanderaient de produire en plus de ce coût de l'efficacité, un coût dit stratégique, nécessaire pour maintenir la fiabilité du signal lorsque la tricherie pourrait être profitable à l'émetteur. Mais, quand il n'y a pas d'intérêt à tricher, par exemple quand l'intérêt du receveur et de l'émetteur coïncident ou que les tricheurs sont punis, les études théoriques montrent aussi qu'un signal ayant un coût minimal peut être maintenu (Johnstone & Grafen, 1992; Maynard Smith, 1991). Enfin, pour Maynard Smith et Harper (1995), en plus des signaux à *« coût-minimal »* et des *handicaps*, il existe un troisième type de signaux honnêtes qu'ils nomment *Index* (Indices au pluriel) : quand le signal est directement lié à une caractéristique physique de l'émetteur et que cette caractéristique est directement reliée à sa qualité, le signal ne peut pas être contrefait. Dans la pratique, la distinction entre Index et Handicap peut être difficile à faire (Maynard Smith & Harper, 2003) et la nécessité de cette distinction est encore discutée (Otter & Horn, 2004).

1.3.3. Communication chimique et sélection sexuelle

Dans le mode de communication chimique, le message est transporté par des molécules volatiles (information olfactive) ou non (information gustative). Les signaux chimiques transmettant de l'information entre organismes (ou sémiochimiques, Law & Regnier, 1971) de la même espèce s'appellent des phéromones (Karlson & Luscher, 1959).

Les phéromones sexuelles représentent un mode de communication fréquemment utilisé pour trouver ou choisir un partenaire sexuel (pour une revue voir Wyatt, 2003) notamment chez les insectes. En plus de la spécificité de la molécule, la quantité de phéromone émise peut être une information en soi. Un des meilleurs exemples est celui du papillon diurne *Utetheisa ornatrix*, chez lequel la quantité de phéromone émise par les mâles lors de la parade sexuelle influence le taux d'acceptation de l'accouplement par la femelle, les mâles émettant le plus de phéromones remportant le plus d'accouplement (pour une revue voir Eisner & Meinwald, 1995). Cette phéromone sexuelle est synthétisée à partir d'alcaloïdes précurseurs issus de certaines plantes consommées pendant le stade larvaire (genre *Crotalaria*, famille des Fabaceae, Figure 4) qui fournissent une protection contre les prédateurs à tous les stades de l'insecte. Les femelles ont intérêt à préférer les mâles émettant le plus de phéromones, car la quantité de phéromone émise est proportionnelle à la quantité d'alcaloïdes offerts comme cadeau nuptial par les mâles au moment de l'accouplement (Dussourd et al., 1991, Figure 3). Les femelles utilisent les alcaloïdes contenus dans le spermatophore pour leur propre défense mais aussi pour celle de leur descendance. De plus, la quantité émise est aussi proportionnelle à la taille des mâles qui est un caractère héritable : les mâles de grande taille ont des fils de grande taille qui auront un succès reproducteur plus important et des filles également de plus grandes tailles, qui sont plus fécondes (Iyengar & Eisner, 1999).

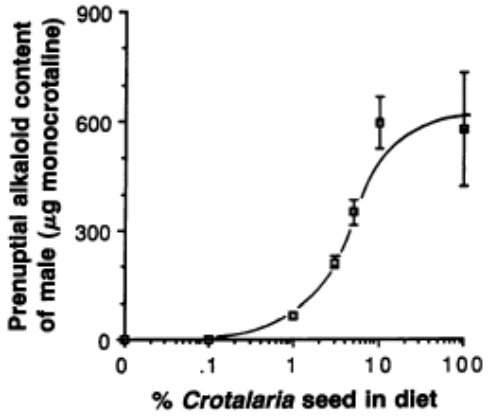


Figure 4. Relation entre le contenu en alcaloïdes des mâles et le pourcentage de plante en contenant dans leur régime alimentaire chez *Utetheisa ornatrix* (d'après Dussourd et al., 1991).

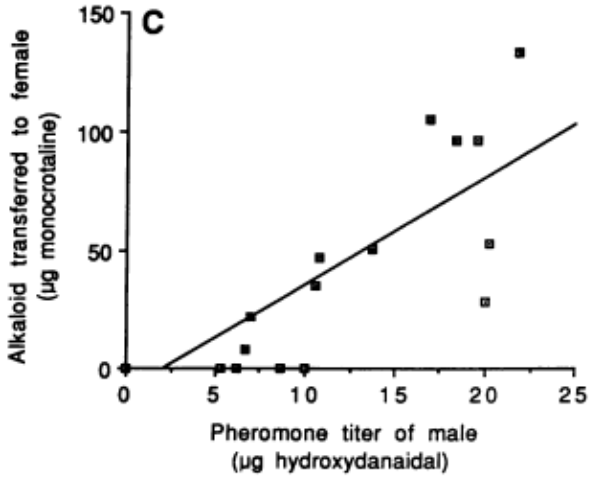


Figure 3. Relation entre la quantité de phéromone émise par les mâles et la quantité d'alcaloïde transférée aux femelles (d'après Dussourd et al., 1991).

2. LOCALISATION DES PARTENAIRES SEXUELS ET COMPETITION ENTRE MALES AVANT L'ACCOUPLEMENT CHEZ LES HYMENOPTERES PARASITOÏDES

Pour un mâle, la première étape pour obtenir un accouplement consiste à être capable de localiser les femelles (ou d'être localisé par elles) et d'évincer les mâles compétiteurs en étant le plus rapide et le efficace dans sa recherche, ou encore le plus combatif. Ce chapitre commence par une présentation de la classification usuelle des systèmes d'appariement des parasitoïdes et les liens pouvant être fait entre cette classification et les systèmes proposés dans la classification générale (Thornhill et Alcock 1983, Tableau 1). Les limites de cette classification seront aussi abordées. La seconde partie de ce chapitre propose une synthèse bibliographique des différentes sources d'informations utilisées par les mâles pour localiser (ou attirer) les femelles, et ceci en lien direct avec les stratégies décrites précédemment. La troisième partie discute des causes évolutives de la répartition de l'effort d'acquisition des partenaires entre les sexes. Finalement, à travers des exemples nous verrons si l'utilisation d'information par les mâles représente un moyen d'augmenter les chances de remporter des accouplements lors de la compétition directe ou indirecte pour l'accès aux femelles.

2.1. Classification de base des systèmes d'appariement chez les parasitoïdes

Le Tableau 1 (p 18) présente une classification des systèmes d'appariement chez les insectes fondée, d'après l'hypothèse d'Emlen et Oring (1977), sur la distribution spatio-temporelle des femelles réceptives. La classification classiquement proposée pour les hyménoptères parasitoïdes est aussi basée sur cette distribution (Godfray, 1994 ; Godfray & Cook, 1997). En effet, la possibilité d'accouplements locaux immédiatement ou peu après l'émergence, c'est-à-dire avant la dispersion hors du lieu de naissance, ou au contraire la nécessité de disperser pour trouver un partenaire, dépendent directement de la distribution spatiale des femelles réceptives. Or, chez les parasitoïdes, les deux sexes sont le plus souvent sexuellement matures et réceptifs dès l'émergence (Quicke, 1997 ; Godfray & Cook, 1997 ; mais voir Quimio & Walter, 2000). La distribution spatiale des femelles par rapport aux mâles à l'émergence est donc principalement déterminée/conditionnée par le mode de développement larvaire (solitaire, grégaire) et la distribution des hôtes en conditions naturelles. Les hôtes peuvent être agrégés sous forme de patch ou isolés (un « patch » est une sous-unité spatiale d'une zone explorée par les femelles, dans laquelle les hôtes sont agrégés (Wajnberg, 2006)). Chez les parasitoïdes grégaires ou quasi-grégaires (définitions Encart 1) les accouplements devraient avoir lieu sur ou à proximité de l'hôte ou du groupe d'hôtes. A

contrario, pour que la rencontre puisse avoir lieu chez les parasitoïdes solitaires parasitant des hôtes isolés spatialement, l'un des deux sexes doit obligatoirement disperser à la recherche de l'autre.

2.1.1. Accouplements sur le site d'émergence ou accouplements locaux.

Chez les parasitoïdes grégaires, les coûts à la consanguinité sont souvent réduits ou absents (van Wilgenburg et al., 2006 voir encart 4 pour les exceptions). En effet, chez les haplo-diploïdes, les mutations délétères s'expriment chez les mâles haploïdes et sont donc théoriquement purgés du génome (Antolin, 1999; Henter, 2003). La dépression de consanguinité est donc supposée plus faible que chez les espèces diploïdes (pour une méta-analyse voir, Henter, 2003). Dans ces conditions, les accouplements entre mâles et femelles émergeant d'un même hôte sont favorisés. En effet, les mâles réduisant leur durée de développement pour émerger avant les femelles (du même hôte ou du même agrégat d'hôte) sont avantagés car ils ont accès aux femelles vierges dès leur émergence (Doyon & Boivin, 2006), parfois même avant l'émergence (Leonard & Boake, 2006). Cette solution épargne aux mâles les dépenses énergétiques et les risques engagés lors des déplacements hors du patch d'émergence. Les femelles trouvent aussi un intérêt à ces accouplements locaux grâce auxquels elles peuvent partir immédiatement à la recherche d'hôtes avec un stock de spermatozoïdes pour féconder leurs œufs.

En contrepartie, les mâles entrent en compétition directe pour les accouplements, compétition qui peut aller jusqu'à des combats à mort comme chez les espèces du genre *Melittobia* (partie 2.4.2). L'intensité de la compétition dépend, comme nous le verrons dans le chapitre 4, de la sex-ratio choisie par la ou les femelles fondatrices (femelle à l'origine du groupe d'accouplement). Plus la sex-ratio est biaisée en faveur des femelles, moins la compétition entre frères sera élevée (plus de femelles disponibles par mâles)(Hamilton, 1967). Dans la classification proposée par Thornhill & Alcock (1983)(Tableau 1) les systèmes d'appariement avec accouplements locaux correspondraient à de la polygynie avec défense des femelles contre les autres mâles (Godfray & Cook, 1997). Cependant, lorsqu'investir dans la rapidité de développement (protandrie) et la rapidité de la localisation des femelles (à courte distance) est plus rentable qu'investir dans les interactions physiques, le système correspondrait à une course aux partenaires où les femelles ne sont disponibles que pendant une brève période de temps.

A noter que si les accouplements se produisent inévitablement entre frères et sœurs lorsqu'il n'y a qu'une femelle fondatrice, ces accouplements ne sont pas obligatoires lorsqu'elles sont plusieurs à exploiter un agrégat ou même un hôte. Dans ce dernier cas, les accouplements peuvent avoir lieu (1) au hasard mais aussi (2) entre individus non apparentés ou (3) entre individus apparentés. Le deuxième type d'accouplement peut être sélectionné si la consanguinité est coûteuse (voir Encart 3). Les accouplements entre apparentés peuvent apparaître quand les émergences ne sont pas synchrones entre descendants issus de pontes par des mères différentes (Hardy et al., 2005b). Ces prédictions restent théoriques et, à ma connaissance, les modalités d'accouplements au sein des groupes d'accouplements n'ont jamais été rigoureusement testées chez des espèces ayant des accouplements strictement locaux.

Les accouplements locaux se rencontrent aussi chez les parasitoïdes solitaires si les hôtes sont groupés sous la forme d'agrégats et que le développement larvaire des parasitoïdes dans les groupes d'hôtes est synchronisé. Le meilleur exemple de ces parasitoïdes dits quasi-grégaires est le cas des espèces de Trichogrammes (Waage & Lane, 1984), dont les femelles parasitent, seule ou à plusieurs, les pontes de certains papillons, ces pontes qui forment des plaques d'œufs rangés côte à côte (« ooplaques ») allant de quelques dizaines à plusieurs centaines d'œufs.

2.1.2. Recherche des partenaires après dispersion du patch de naissance

Lorsque mâles et femelles n'émergent pas à proximité les uns des autres mais en provenance d'hôtes éloignés, alors ils doivent se retrouver pour s'accoupler. C'est le cas chez les parasitoïdes solitaires qui exploitent des hôtes isolés. Lorsque les accouplements ont lieu hors du patch de naissance, les systèmes d'appariements peuvent alors être classés en fonction des informations utilisées par les partenaires sexuels pour se retrouver (Godfray, 1994 ; Godfray & Cook, 1997) :

1) La recherche du partenaire peut être facilitée lorsque les membres de l'autre sexe se signalent en émettant des phéromones sexuelles volatiles (perceptibles hors du patch de naissance) ou en déposant des phéromones non volatiles sur le substrat. Souvent, ce sont les femelles qui émettent ces signaux et les mâles qui les cherchent (pour les exemples voir partie 2.2.2.1.). Les mâles les plus efficaces dans la perception de ces signaux et dans le vol orienté en direction de ces signaux devraient être favorisés par

sélection sexuelle, ce qui revient à une compétition de type « courses aux partenaires » (Tableau 1).

2) Les mâles recherchent les femelles sur les sites où elles ont le plus de chance de se trouver (sites d'émergence, sites de ponte ou encore les sites où elles se nourrissent). Les mâles devraient alors utiliser les informations en rapport avec les hôtes ou avec les plantes abritant les hôtes pour localiser ces sites, puis utiliser d'autres informations une fois dans l'habitat des femelles (voir partie 2.2.2.2). Puisqu'à ma connaissance la défense par les mâles de ces sites constituant des ressources attractives pour les femelles n'a jamais été décrite chez les hyménoptères parasitoïdes (système décrit chez d'autres parasitoïdes comme le diptère *Lordotus miscellus* Toft, 1984), une compétition de type « course aux partenaires » est le système le plus probable.

3) Les femelles rejoignent les mâles dans un site d'agrégation des mâles ce qui correspondrait soit à un rassemblement reproductif (« swarm »), soit à un lek s'il y a un choix des femelles (Shelly & Whittier, 1997 ; pour une revue voir Hardy et al., 2005b ; Quicke, 1997) (voir partie 2.2.2.3). Chez les insectes, les causes évolutives des rassemblements reproductifs et des leks sont très discutées en lien avec les coûts et les bénéfices attendus pour chacun des deux sexes (Shelly & Whittier, 1997).

2.1.3. Limites de la classification : accouplements locaux partiels

La classification présentée ci-dessus propose une situation simple avec, d'une part, des espèces s'accouplant localement (Local Mate Competition, LMC), et d'autre part, des espèces où les mâles seraient toujours obligés de disperser pour trouver des femelles. Cependant, la réalité biologique est loin d'être aussi dichotomique et les stratégies permettant d'acquérir un partenaire peuvent être variées au sein d'une même espèce (Hardy et al., 2005b), soit parce qu'il existe un dimorphisme de forme (revue par Godfray, 1994; Godfray & Cook, 1997), soit en fonction de l'expérience des individus et des conditions qu'ils rencontrent. Même lorsque les mâles et les femelles émergent à proximité les uns des autres, une proportion plus ou moins importante d'individus peuvent avoir intérêt à disperser avant l'accouplement (Antolin & Strand, 1992 ; Fauvergue et al., 1999 ; Hardy, 1994 ; Myint & Walter, 1990 ; Nadel & Luck, 1992 ; Nunney & Luck, 1988 ; Ode et al., 1998). Par exemple, en supposant que seuls les mâles et les femelles émergeant le même jour peuvent se rencontrer, 15% des femelles et 20% des mâles de l'espèce *Leptopilina boulardi* ne rencontrent aucun partenaire potentiel sur leur fruit de naissance. Ces proportions s'élèvent à 25% et 20% chez les femelles

et les mâles *L. heterotoma* (Fauvergue et al., 1999). Chez les espèces *L. boulardi* et *L. heterotoma*, parasitoïdes quasi-grégaires de drosophiles, de 60 à 80% des femelles et des mâles dispersent à l'émergence, les mâles dispersant davantage que les femelles chez *L. boulardi* (pour une revue des études portant sur les comportements de dispersion à l'émergence voir Hardy et al., 2005b).

L'asynchronisme des émergences n'est pas la seule cause de dispersion hors du patch d'émergence avant l'accouplement. Les mâles issus de la ponte d'une seule femelle fondatrice vierge ou ayant épuisé ces réserves de spermatozoïdes n'auront pas de sœurs. Pour se reproduire, ils devront donc disperser pour rechercher des femelles. Une mortalité différentielle entre sexes pendant le développement larvaire peut aussi conduire à l'émergence de femelles n'ayant pas de frères (e.g. *Goniozus legneri* et *G. nephantidis* Hardy et al., 1999; Hardy et al., 2000).

Finalement, pour certains parasitoïdes grégaires et semi-grégaires, les accouplements entre frères et sœurs sont désavantageux. En raison du déterminisme du sexe à un seul locus complémentaire (sl-CSD), les femelles accouplées avec un frère risquent une fois sur deux de perdre une partie de leur descendance (Whiting, 1943)(Encart 4). Elles ont donc intérêt à rester vierges et à partir à la recherche d'hôtes ou d'un rassemblement de mâles. Chez *Bracon hebetor* Say (Hym : Braconidae), parasitoïde grégaire de chenilles de pyralidae, les femelles ne sont pas matures immédiatement après l'émergence (Ode et al., 1995). Elles profitent de cette période réfractaire à la reproduction pour disperser (Ode et al., 1998) et s'accoupler préférentiellement avec des mâles issus d'hôtes différents, ce qui réduit la probabilité de s'accoupler avec un frère (Ode et al., 1995). Chez *Cotesia glomerata* L. (Hymenoptera: Braconidae), de 50 à 100% des femelles et 30% des mâles qui dispersent sont vierges. Bien que le sl-CSD soit suspecté chez cette espèce, les femelles ne semblent pas capables d'éviter les accouplements avec leurs frères, mais un problème de puissance statistique pourrait être à l'origine de ce résultat non significatif (Gu & Dorn, 2003).

Les espèces chez lesquelles le système d'appariement a évolué vers des accouplements strictement locaux (LMC stricte) sont plutôt rares et sont limitées probablement à celles chez lesquelles les mâles ne peuvent pas disperser pour rechercher des femelles hors du patch. Cela concerne par exemple les mâles *Melittobia sp* incapables de disperser à cause de leur ailes vestigiales et de leur cécité (pour une revue de l'histoire naturelle du genre voir, Abe et al., 2003; Abe et al., 2005; Cooperband et al., 2003; Reece et al., 2007).

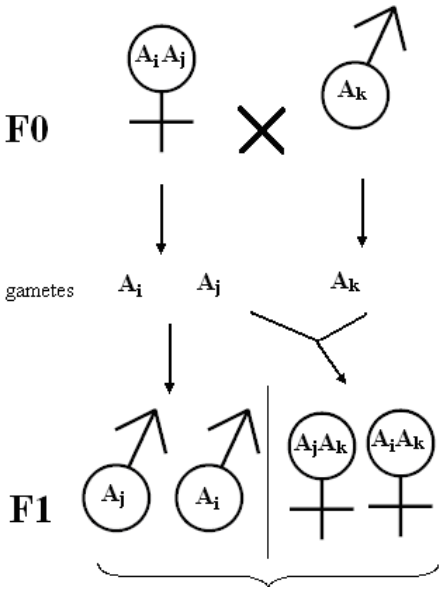
Un exemple de la diversité des stratégies adoptées par les mâles pour rechercher et acquérir des femelles se trouve chez le parasitoïde quasi-grégaire de pupes de diptères *Spalangia cameroni* (Hymenoptera : Pteromalidae) (Myint & Walter, 1990). Les accouplements consanguins semblent peu coûteux chez cette espèce (King, 1995) et la sex-ratio est biaisée en faveur des femelles (60 à 75% de femelles, Myint & Walter, 1990), ce qui plaide, en plus du grégarisme des hôtes, en faveur d'accouplements locaux. Cependant Myint et Walter (1990) montrent que les accouplements entre frères et sœurs sont le résultat d'une coïncidence des moments d'émergence, et que les mâles dispersent généralement de leur patch de naissance sans attendre l'émergence des femelles. Les femelles dispersent également à l'émergence. Ainsi, des mâles sont capturés à la fois sur les sites de pontes des femelles, même en leur absence, et sur des sites ayant des hôtes parasités. Les femelles vierges sont attractives pour les mâles ainsi que l'odeur de la litière animale dans lequel se trouvent les hôtes. Un mélange d'au moins deux « systèmes » peut donc être proposé pour *S. cameroni :* des accouplements locaux et des accouplements après dispersion sur les sites de ponte. Pour compliquer un peu plus le système, les hôtes parasités par des femelles sur le point d'émerger sont plus attractifs pour les mâles que les hôtes sains ce qui semblerait indiquer que, comme chez *Lariophagus distinguendus* Först (Hymenoptera : Pteromalidae) (Steiner et al., 2005), les femelles vierges immatures émettent déjà des phéromones et que les mâles pourraient aussi rechercher les femelles sur leur site d'émergence. Ce double système a aussi été proposé pour un autre Pteromalidae, *Pachycrepoideus vindemmia* (Nadel & Luck, 1992).

Les différents types de systèmes d'appariement utilisés chez les parasitoïdes, sachant que pour une même espèce plusieurs stratégies différentes peuvent être utilisée, sont résumés dans le Tableau 2. Les informations que les mâles utilisent pour localiser les femelles selon le type de système y sont aussi rapportées. La partie suivante propose une synthèse illustrée de l'ensemble des signaux et indices liés directement ou même indirectement aux conspécifiques et qui servent au rapprochement des partenaires sexuels chez les hyménoptères parasitoïdes. Les informations utilisées seront présentées en relation à la distance séparant les partenaires.

Encart 4 : Déterminisme du sexe à un locus complémentaire (sl-CSD) et coût des accouplements consanguins

Chez de nombreux hyménoptères, le sexe ne dépend pas seulement du degré de ploïdie des œufs, mais aussi de la composition allélique à un locus dit de déterminisme du sexe (single locus Complementary Sex Determination sl-CSD Whiting, 1943 ; Cook, 1993; Cook & Crozier, 1995 ; pour une revue récente voir des espèces concernées, van Wilgenburg et al., 2006;). Les œufs diploïdes et hétérozygotes au locus du sl-CSD se développent en femelles et ceux qui sont hémizygotes, c'est-à-dire qu'ils ne portent qu'une copie de l'allèle, se développent en mâles haploïdes. En revanche, les œufs homozygotes se développent en mâles diploïdes le plus souvent stériles lorsqu'ils sont viables (mais voir Cowan & Stahlhut, 2004). En cas d'accouplement avec un mâle porteur du même allèle, une femelle perdra donc la moitié de ses œufs fécondés avec les spermatozoïdes de ce mâle. D'une manière générale, dans une population où les accouplements ont lieu au hasard, la probabilité de rencontrer un partenaire porteur du même allèle est égale à $2/k$ où k est le nombre d'allèles au locus du CSD (Cook & Crozier, 1995). Mais, lorsque les accouplements ont lieu entre apparentés, cette probabilité augmente jusqu'à atteindre une chance sur deux en cas d'accouplement frères-sœurs quel que soit le nombre d'allèles existants (voir figure ci contre). Par conséquent, en cas d'accouplement avec un frère, une femelle risque une fois sur deux de perdre la moitié de ces œufs fécondés, ce qui représente 25% de sa descendance lorsque la sex-ratio primaire est équilibrée.

Le sl-CSD impose un coût important à la consanguinité et ne peut donc pas être présent chez les espèces où les accouplements ont lieu fréquemment de façon locale (e.g. *Nasonia vitripennis, Trichogrammes sp,* ou *Melittobia sp*., Godfray & Cook, 1997 ; Hardy et al., 2005b ; van Wilgenburg et al., 2006). Lorsque le caractère grégaire du mode de développement larvaire ou de la distribution des hôtes est en conflit avec le sl-CSD, des mécanismes ont été sélectionnés pour favoriser les accouplements entre non apparentés (exemple de *Bracon hebetor* Say (Hym : Braconidae)). Le sl-CSD est probablement le mode de déterminisme du sexe ancestral (Hardy et al., 2005b ; mais voir van Wilgenburg et al., 2006).



F2

Frères F1

Sœurs F1		A_i		A_j	
	A_iA_k	A_i	♂*n*	A_i	♂*n*
		A_k	♂*n*	A_k	♂*n*
		$\mathbf{A_iA_i}$	**♂*2n***	A_iA_j	♀*2n*
		A_iA_k	♀*2n*	A_iA_j	♀*2n*
	A_jA_k	A_j	♂*n*	A_j	♂*n*
		A_k	♂*n*	A_k	♂*n*
		A_iA_i	♀*2n*	$\mathbf{A_jA_j}$	**♂*2n***
		A_kA_i	♀*2n*	A_kA_j	♀*2n*

Conséquence du système de déterminisme du sexe à un locus complémentaire sur la proportion de mâles diploïdes dans la descendance résultant des accouplements entre frères et sœurs. L'accouplement entre des mâles et des femelles portant des allèles *i, j* et *k*, conduit à la production d'œufs fertilisés donnant seulement des descendant hétérozygotes (filles) en F1. La table de croisement génétique présente le génotype des descendants des accouplements frères-sœurs en F2. ♂n : mâle haploïde, ♂2n : mâle diploïde, ♀2n : femelle diploïde.

Tableau 2. Résumé des différents systèmes d'appariement existant chez les mâles parasitoïdes en fonction de la dispersion des femelles hors du patch de naissance avant l'accouplement. Le risque d'accouplements consanguins est aussi indiqué. Les informations utilisées pour le rapprochement sont résumées (voir partie 2.2). Pour les espèces données comme exemple, l'accouplement des mâles a lieu : * majoritairement sur leur patch de naissance puis ils recherchent d'autres femelles ailleurs, ** majoritairement hors du patch d'émergence.

Système d'appariement des mâles	Dispersion ♀?	Consanguinité	Informations utilisées pour le rapprochement	Compétition entre ♂ pour l'accès aux ♀	Exemples (références dans le texte)
I. Accouplement sur leur patch de naissance :					
A. Au hasard	Non	Elevée	Phéromones sexuelles ♀ peu ou pas volatiles dont phéromones émises avant l'émergence Phéromones sexuelle ♂ peu volatiles arrêtant les ♀ Informations visuelles & vibratoires	Directe (combat) et/ou indirecte (rapidité, mimétisme)	*Melittobia sp* *Nasonia vitripennis* *Trichogramma sp**
B. Evitement des accouplements entre frères et sœurs	Non	Faible	Idem		
C. Evitement des accouplements entre non apparentés	Non	Elevée	Idem		
II. Accouplement hors de leur patch de naissance :					
A. Dans les lieux où les ♀ ont le plus de chance de se trouver (les ♂ recherchent les ♀)					
1. <u>Site de ponte</u>	Oui	Faible	Indices liés aux hôtes ou aux plantes hôtes puis phéromones ♀ sexuelles peu ou pas volatiles	Indirecte (perception)	*Epidinocarsis lopezi* *Pachycrepoideus vindemmiae*** *Spalangia cameroni***
2. <u>Site d'émergence</u> (Possibilité de concurrence locale)	Non	Faible	Indices liés aux hôtes ou aux plantes hôtes puis phéromones sexuelles ♀ émises avant l'émergence, informations visuelles, vibratoires	Indirecte (perception, mimétisme)	*Rhyssa sp.* *Lariophagus distinguendus***
B. Dans un lieu quelconque déterminé par des ♀ isolées (les ♂ sont assistés dans leur recherche par les ♀)	Oui	Faible	Phéromone sexuelles ♀ perceptibles à distance Phéromone sexuelle ♀ déposée sur le substrat	Indirecte (perception)	*Leptopilina sp*** *Aphelinus asychis*
C. Dans un lieu quelconque déterminé par les ♂ (rassemblement reproductif de ♂ rejoint par les ♀)	Oui	Faible	Phéromones sexuelles émises par les ♂et les ♀	Indirecte (Choix ♀)	*Fopius arisanus* *Bracon hebetor***

2.2. Informations utilisées lors de la recherche d'un partenaire sexuel

2.2.1. Informations utilisables pour le rapprochement lorsque mâles et femelles se situent à faible distance

Pour localiser un partenaire sur son patch de naissance, les informations qui ne sont perceptibles qu'à très courte distance sont suffisantes. Les femelles produisent des phéromones sexuelles impliquées dans le rapprochement. Elles ont pour effet d'attirer et surtout de retenir les mâles (Kainoh et al., 1991 ; Steiner et al., 2006). Elles induisent aussi bien souvent des comportements appartenant à la parade sexuelle chez le mâle (Syvertsen et al., 1995 ; Sullivan, 2002 ; Ruther, 2000; Finidori-Logli, 1996 ; revue par Kainoh, 1999). Ces phéromones sont dites « faiblement volatile » lorsque leur distance d'action ne dépasse pas quelques centimètres ou de « contact » lorsqu'un contact de l'antenne avec la surface imprégnée de phéromone est nécessaire (Tableau 3, lorsque cette donnée était disponible, la taille de l'espace actif a été indiquée). Chez les espèces où les mâles s'accouplent hors de leur patch d'émergence, les phéromones sexuelles perceptibles à faible distance pourront aussi être utilisées une fois la première étape du rapprochement effectuée (voir partie suivante).

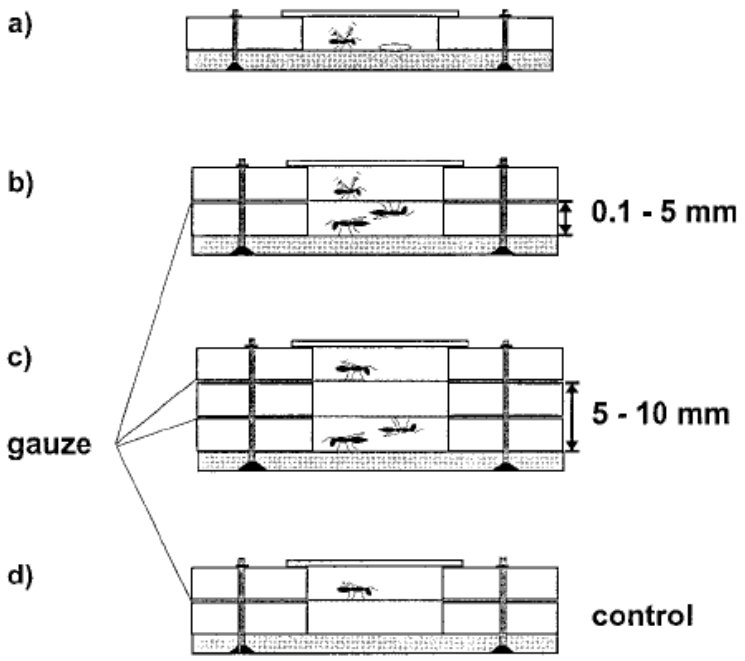


Figure 5. Dispositif expérimental utilisé par Ruther et al. (2000a) afin de tester l'attractivité pour les mâles *Lariophagus distinguendus* pour (a) des papier filtres imbibés d'extrait de femelles, (b) et (c) d'odeur de femelles invisibles (le mâle est dans le compartiment du haut et séparé des femelles par un voile de gaze qui laisse passer les odeurs),(d) contrôle : mâle seul.

La méthodologie d'étude des effets de ces phéromones sexuelles consiste à examiner la réponse comportementale de mâles à qui l'on présente soit des femelles vivantes mais masquées à leur vue (Ruther et al., 2000a), soit des extraits de femelles (rinçage, ou broyat complet ou de certains organes, dans un solvant), appliqués sur différents supports (papier filtre, ampoule en verre, cadavre lavé préalablement) (Figure 5). Si une augmentation du temps passé sur le support dont on teste l'attractivité (« comportement d'arrêt ») ou un comportement appartenant à la parade sexuelle sont observés plus fréquemment que sur le contrôle, on peut conclure qu'une information chimique est impliquée dans le rapprochement. L'identification de la phéromone responsable de l'activité biologique peut avoir lieu dans un second temps. Elle nécessite d'avoir recours à des méthodes de l'écologie chimique comme la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse sur des fractions d'extrait ayant une activité biologique sur les mâles. La phéromone peut être un mélange de plusieurs composés dont des hydrocarbones cuticulaires spécifiques aux sexes (Danci et al., 2006a ; Shu & Jones, 1993 ; Syvertsen et al., 1995).

Chez *Roptrocerus xylophagorum* (Ratzeburg)(Hym : Pteromalidae), des extraits de femelles déposés sur une ampoule de verre suffisent à provoquer chez les mâles les comportements composants la parade sexuelle et des tentatives de copulation avec l'ampoule (Sullivan, 2002 ; Figure 7). Les mâles entament la parade lorsqu'ils sont à moins de 2 cm d'une femelle.

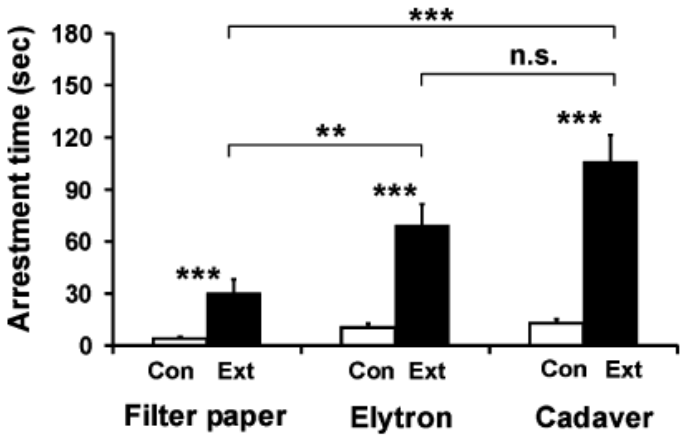


Figure 6. Temps passé par des mâles *N. vitripennis* sur des extraits de papier filtre, l'élytre d'un coléopère (modèle cuticule insecte) ou sur un cadavre de mâle dépourvu d'odeur (Con : témoin (solvant), Ext : traité avec de l'extrait de femelle) pendant une période d'observation de 5 minutes. Les astérisques indiques des différences significative (***P<0.001, **P<0,01, n.s. non significatif) (Steiner et al., 2006).

Lorsque la parade sexuelle est complexe et demande un contact physique entre mâle et femelle, une information visuelle et tactile est souvent associée à la présence de phéromone sexuelle pour provoquer la parade. Ainsi, les femelles *Nasonia vitripennis* vierges produisent une phéromone retenant les mâles lorsqu'ils rentrent en contact avec un extrait (Figure 6, traitement contrôle vs extrait de femelle). Les autres éléments de la parade sexuelle, qui normalement a lieu sur le dos des femelles chez cette

espèce (Hardy et al., 2005a), sont exprimés uniquement lorsque les extraits de femelles sont appliqués sur un leurre, c'est-à-dire le cadavre d'un mâle nettoyé de toute phéromone (Steiner et al., 2006). Il semble aussi que la réponse des mâles dépende du support sur laquelle la phéromone est appliquée, la cuticule d'insecte étant un meilleur support que le papier filtre (Figure 6, papier filtre vs élytre). La phéromone sexuelle est en réalité composée de plusieurs hydrocarbones cuticulaires spécifiques aux femelles.

Connaître l'âge, le statut d'accouplement et la périodicité journalière à laquelle les phéromones sexuelles sont produites par les femelles sont des éléments complémentaires pour déterminer la ou les stratégies d'acquisition des partenaires. Ainsi, la production de phéromone sexuelle peut commencer chez les femelles dès le début du stade nymphal (voir aussi Steiner et al., 2005; Yoshida, 1978) ou seulement au stade de la mélanisation (e.g. *N. vitripennis* Steiner et al., 2006). Les mâles pourraient donc être retenus sur leur patch d'émergence par ces phéromones femelles perceptibles à travers la momie de l'hôte.

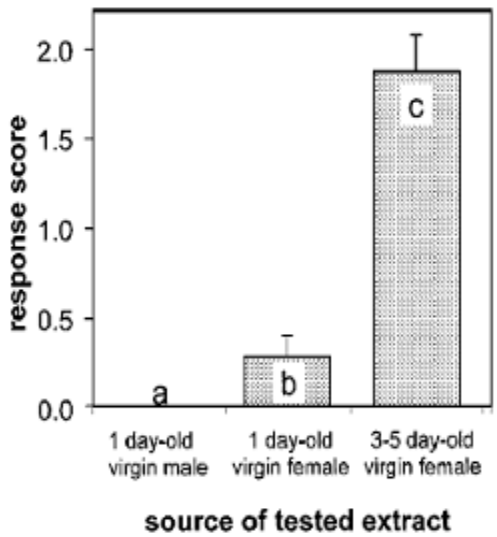


Figure 7. Réaction de mâles *R. xylophagorum* a des ampoules en verre traitées avec des extraits de males âgés de 1 jour, de femelles vierges âgées de 1 jour et de femelles vierges âgées de 3 à 5 jours (solvant acétone). Le score de réponse correspond à la somme de coefficients attribués à des comportements observés lors de la parade sexuelle (Sullivan, 2002).

Pour les femelles *R. xylophagorum*, l'émission de phéromones augmente avec l'âge (Figure 7), ce qui indiquerait que les accouplements n'ont pas lieu nécessairement à proximité de l'hôte d'émergence. Cependant, d'après l'auteur de l'étude, les femelles s'accoupleraient rapidement après l'émergence (Sullivan, 2002).

Les femelles ne sont pas les seules à produire des phéromones sexuelles peu ou pas volatiles. La première identification de phéromone sexuelle mâle attirant les femelles a été faite chez *Melittobia digitata* Dahms (Cônsoli et al., 2002). Chez *N. vitripennis*, les mâles émettent aussi une phéromone sexuelle mâle attirant les femelles lorsqu'elles sont vierges. Elle a un effet répulsif envers les femelles dans les minutes qui suivent l'accouplement (Ruther et al., 2007, Figure 8).

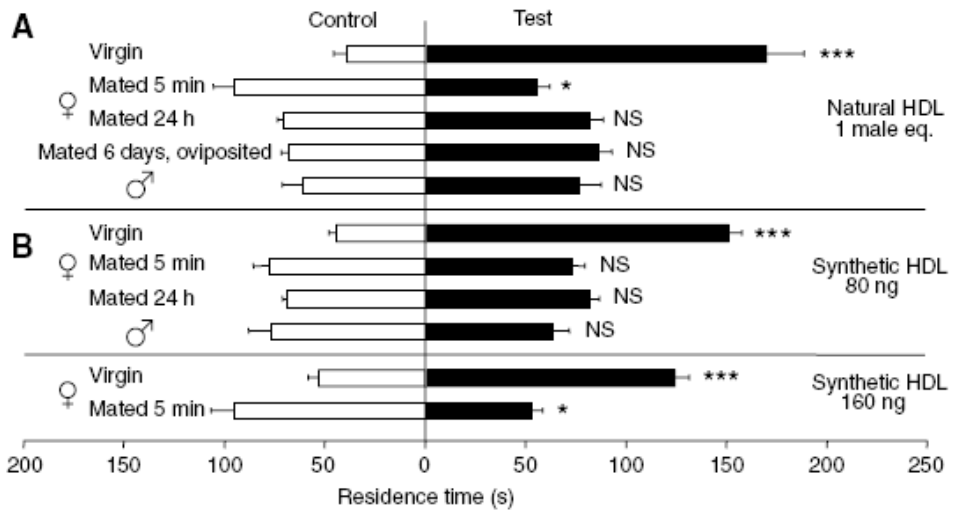


Figure 8. Réponse des femelles en fonction de leur statut d'accouplement et de leur âge à des extraits naturels et synthétiques de phéromone sexuelle mâle chez *N.vitripennis* (Ruther et al., 2007).

Nous allons voir maintenant quelles sont les informations utilisées pour se rapprocher d'un partenaire lorsque les sexes émergent dans des endroits distants ou lorsqu'une partie des accouplements a lieu après la dispersion hors du patch de naissance.

2.2.2. Informations utilisables pour le rapprochement lorsque les partenaires sont éloignés

2.2.2.1. Etre assisté dans sa recherche

Phéromones sexuelles volatiles émises par les femelles

Comme de nombreuses espèces insectes, les femelles parasitoïdes peuvent aussi émettre des phéromones sexuelles volatiles, c'est-à-dire perceptibles par les conspécifiques mâles lorsqu'ils se trouvent à une distance supérieure à quelques centimètres. Pour être spécifique, c'est-à-dire n'avoir qu'une fonction sexuelle intraspécifique, ces phéromones ne doivent être émises que par les femelles réceptives et ne recruter que des mâles. Chez les espèces monogames ou lorsque les ré-accouplements sont très rares, l'émission de ces phéromones s'arrête généralement après l'accouplement (Fauvergue et al., 1999). Au contraire, lorsque les femelles s'accouplent plusieurs fois, les femelles accouplées restent réceptives et demeurent aussi attractives que les femelles vierges (e.g. *Ascogaster quadridentata*, DeLury et al., 1999). La composition chimique de ces phéromones sexuelles volatiles a été identifiée pour quelques espèces de parasitoïdes (voir Tableau 3 pour la liste des espèces et pour une revue voir Kainoh 1999).

Dans l'état actuel de mes recherches bibliographiques, j'ai pu établir une liste de 35 espèces d'hyménoptères parasitoïdes appartenant à 10 familles pour lesquelles il a été montré l'existence de phéromones sexuelles volatiles (Tableau 3). La mise en évidence peut se faire soit en laboratoire en utilisant un olfactomètre ou un tunnel de vol, soit en conditions naturelles. Quelle que soit la méthode employée, l'utilisation d'une information olfactive est démontrée si l'odeur de femelles réceptives vivantes ou des extraits de femelles (rinçage dans un solvant) réussit à attirer significativement plus de mâle que le témoin contenant des mâles ou aucune source d'odeur.

L'émission des phéromones au cours de la vie des femelles ne dépend pas seulement du statut d'accouplement. Comme pour les phéromones sexuelles peu volatiles, elle évolue également avec l'âge des femelles. Un cas extrême est celui des femelles *Dentrocerus carpenti* (Curtis) (Hym: Megaspilidae) : elles commencent à émettre des phéromones avant l'émergence, mais ne restent attractives pour les mâles que pendant les 2h post-émergence (Schwörer et al., 1999). L'émission varie aussi avec la photophase de façon cyclique (Cormier et al., 1998). Les périodes d'émissions des femelles *Aphidius ervi* coïncident avec la période de réceptivité des mâles aux phéromones et ont lieu uniquement le matin (McClure et al., 2007). Chez une espèce proche, *Aphidius nigripes*, les mâles sont capturés essentiellement le matin entre 8h et 10h en condition naturelle (Mc Neil & Brodeur, 1995).

Les extraits de femelles peuvent induire non seulement l'envol des mâles et un vol orienté, mais aussi un comportement de parade sexuelle. Chez *Syndinpus rubigonosus*, l'éthyl palmitoleate est la phéromone sexuelle impliquée dans l'ensemble du processus de recherche et d'acquisition de partenaires puisqu'elle provoque à la fois l'envol puis le vol orienté, ainsi que les comportements de parade sexuelle après l'atterrissage (Eller et al., 1984). Néanmoins, la communication chimique peut être plus complexe et impliquer à la fois une phéromone volatile stimulant la recherche à distance chez les mâles et une phéromone perceptible uniquement à faible distance nécessaire pour provoquer la parade (e.g. *Aphidius nigripes* et *A. ervi* Marchand & Mc Neil, 2000 ; Mc Neil & Brodeur, 1995 ; McClure et al., 2007). Chez *G Glyptapanteles flavicoxis* la phéromone responsable de l'attraction à faible distance, ainsi que de la parade, compte quatre composants. Cependant, ces composés ne suffisent pas à attirer les mâles quand la source d'odeur à atteindre se situe à une distance supérieure à 10 cm, alors qu'une femelle vivante est attractive à cette même distance (Danci et al., 2006a ; Swedenborg & Jones, 1992a, b; voir aussi *Macrocentrus grandii* Swedenborg et al., 1993).

Autres phéromones volatiles utilisables dans le rapprochement

Les phéromones utilisées dans la communication intraspécifiques pourraient aussi intervenir dans le rapprochement en vue de la reproduction. Ainsi, chez *Brachymeria intermedia* (Nees) (Walker), mâles et femelles émettent la même phéromone volatile qui est attractive pour les conspécifiques des deux sexes : cette phéromone d'agrégation, qui aurait un rôle dans le rassemblement pour passer l'hiver, jouerait aussi avoir un rôle dans la localisation des partenaires en facilitant les rencontres (Mohamed & Coppel, 1987).

Une phéromone spécifique aux femelles et attirant les mâles peut aussi être perçues par les autres femelles : les femelles *Alloxysta victrix* évitent la phéromone (6-methyl-5-heptene-2-one, MHO) émise par les femelles vierges et accouplées (e.g. Micha et al., 1993). Cette phéromone a une fonction sexuelle puisqu'elle attire les mâles, mais aussi une fonction d'évitement en réduisant la compétition pour l'exploitation des hôtes (voir aussi (Quicke, 1997).

Phéromones sexuelles déposées sur le substrat par les femelles

Certaines femelles déposent des phéromones sur le substrat alors qu'elles s'y déplacent (Kainoh et al., 1991; Kainoh & Oishi, 1993). Ces marques sont utilisées par les mâles pour localiser les femelles. Ainsi, les femelles *Aphelinus asychis* ne produisent pas de phéromones sexuelles volatiles perceptibles à distance mais déposent sur le substrat une marque chimique utilisable par les mâles pour les localiser (Fauvergue et al., 1995)(Figure 10). Chez le parasitoïde quasi-grégaire d'œufs de papillons, *Trichogramma brassicae*, les femelles vierges déposent elles aussi sur le substrat des marques chimiques attractives pour les mâles (Pompanon et al., 1997)(Figure 9). Cependant, contrairement à *A. asychis*, les sexes ne sont pas obligatoirement séparés à la naissance. Fauvergue et al. (1998a) ont testé l'hypothèse que, pour trouver les femelles, les mâles *T. brassicae* et *A. asychis* devraient utiliser différemment l'information contenue dans ces marques : les mâles *A. asychis* devraient suivre les pistes de phéromones et trouver les femelles le long de ces pistes, alors que les mâles *T. brassicae* devraient rester sur la trace à attendre l'émergence des femelles. En étudiant la locomotion de mâles des deux espèces sur des traces, ils ont montré que les mâles des deux espèces exploitent les traces de la même façon : ils ne suivent pas la « piste », mais s'arrêtent et changent de direction lorsqu'ils la croisent, comme pour chercher les femelles à proximité immédiate de la trace. Il serait donc possible que les accouplements hors du patch d'émergence soit fréquent chez *T. brassicae* (Fauvergue et al., 1998a).

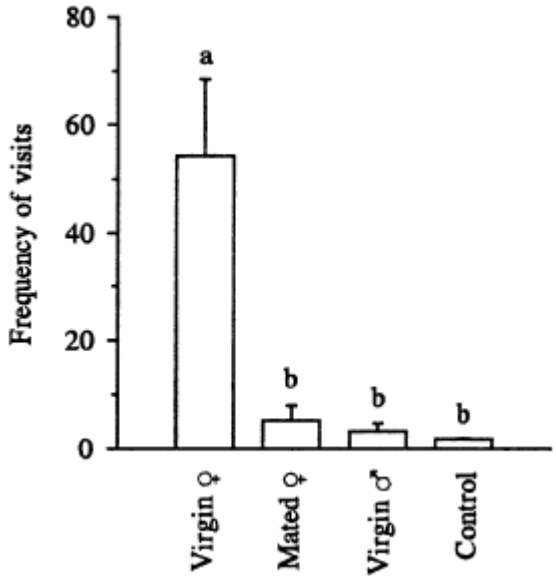


Figure 10. Attractivité pour des mâles *Aphelinus asychis* (nombre moyen de visites) de feuilles ayant préalablement été exposées pendant 30 min à une femelle vierge, à une femelle accouplée, à un mâle, ou encore à aucun individu (témoin)(Fauvergue et al., 1995).

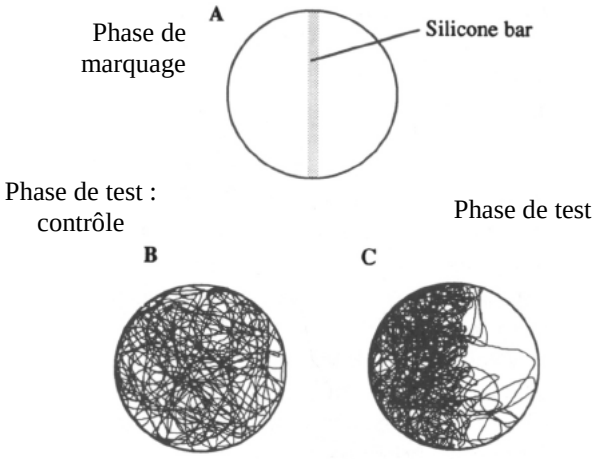


Figure 9. Procédure expérimentale et exemple de déplacement des mâles *Trichogramma brassicae*. (A) la moitié de l'arène est exposée à une femelle vierge pendant 30 min, (B) déplacement d'un mâle lorsqu'aucune femelle n'était présente pendant la phase de marquage, (C) déplacement d'un mâle après qu'une femelle a marché sur le côté gauche de l'arène (Pompanon et al., 1997).

Tableau 3 : Liste des espèces de parasitoïdes chez lesquelles l'existence de phéromones permettant la communication entre les sexes a été montrée (*les phéromones sont toujours émises par les femelles, sauf indication contraire*). Pour chaque espèces, les caractéristiques de la ou des phéromones impliquées (phéromones femelles de contact, faiblement volatiles, volatiles, phéromones sexuelles mâles et phéromones déposées sur le substrat), si elles ont été identifiées chimiquement, ainsi que la méthode employée pour la mise en évidence, sont précisées : (T) = terrain, (C) = essais comportementaux, (E) = essais comportementaux à partir d'extraits chimiques, (O) = olfactomètrie, (WT) = tunnel de vol ; Id. : identification de la composition chimique de la phéromone. Dev : type de développement larvaire (G : Grégaire, S : Solitaire). Expérience : * source provenant de Kainoh et al. (1999), § de Fauvergue et al. (1999).

SUPERFAMILLE Famille *Espèce*	Dev	Hôtes	Caractéristiques	Id.	Références
CERAPHRONOIDAE					
Megaspilidae					
Dendrocerus carpenteri (Curtis)	S	Parasitoides d'Aphididae	Volatile (C)	Non	(Schwörer et al., 1999)
CHALCIDOIDEA					
Aphelinidae					
Aphelinus asychis (Walker)	S	Pl. Aphididae (Hem.)	Pas de volatile (O) mais phéromone déposée sur le substrat (C)	Non	(Fauvergue et al., 1995)
Aphytis melinus (DeBach)	G	Pl. Diaspididae (Hem.)	Pas de volatile (O) mais phéromone déposée sur le substrat (C)	Non	(Bernal & Luck, 2007)
Eretmocerus mundus (Mercet) *E. eremicus* (Rose & Zolnerowich)	S	Pl. Aleyrodidae (Hem.)	Volatile (O) + Non volatile déposé sur substrat (C)	Non	(Ardeh et al., 2004)
Chalcididae					
Brachymeria intermedia (Nees) *B. lasus* (Walker)	S	*Lymantria dispar* (Lep : Lymantriidae)	Volatile (T), attractive pour les ♂ et les ♀, la même substance est émise par les mâles (phéromones d'aggrégation)	Non	(Mohamed & Coppel, 1987)
Cynipidae					
Charips brassicae (Ashmead)	S	*Diaeretiella rapae* (Braconidae parasitoide d'Aphididae)	Volatile (O)	Non	Read et al. 1970 *
Encyrtidae					
Epidinocarsis lopezi (De Santis)	S	*Phenacoccus manihoti* (Pseudococcidae)	Volatile (T)	Non	(van Dijken et al., 1989)
Eulophidae					
Diglyphus isaea (Walker)	S	Pl. Agromyzidae (Dipt.)	Phéromone de Contact (E)	Oui	(Finidori-Logli et al., 1996)

SUPERFAMILLE Famille *Espèce*	Dev	Hôtes	Caractéristiques	Id.	Références
Melittobia digitata (Dahms)	G	Polyphage (Hym, Col, Dipt)	Emise par les ♂attirant les ♀ (faiblement volatile)	Oui	(Cônsoli et al., 2002)
Tetrastichus hagenowii (Ratz)	S ?	*Periplaneta spp* (Orth., Blattidae)	Volatile (E)	Non	(Takahashi & Sugai 1982)*
Mymaridae					
Anaphes listronoti (Huber)	G	*Listronotus origonensis* (Col., Curculionidae)	Volatile (O)	Non	(Cormier et al., 1998)
Pteromalidae					
Anisopteromalus calandrae (Howard)	S	*Callosobruchus chinensis* (Col., Bruchidae)	Faiblement volatile (< 2,5cm)	Non	(Yoshida, 1978)*
Lariophagus distinguendus	S	Pl. Curculionidae (Col.)	Faiblement volatile (<0,5cm), perceptible avant l'émergence et émis par les ♂ aussi (mimétisme)	Oui	(Ruther et al., 2000a) (Steiner et al., 2005)
Nasonia vitripennis	G	Pl. Muscidae (Dipt.)	- Faiblement volatile < 3cm (O), pas de phéromone sexuelle volatile - Phéromone ♂ attractive à faible distance	Oui Oui	(Steiner et al., 2006) (Ruther et al., 2007)
Roptrocerus xylophagorum	S	Pl. Scolytes (Col.)	Faiblement volatile < 2cm (C + E)	Oui	(Sullivan, 2002)
Spalangia cameroni	S	Pl. Muscidae (P)	Volatile (O)	Non	(Myint & Walter, 1990)
Trichogrammatidae					
Trichogramma brassicae	S	Noctuidae (Lep.)	Déposée sur le substrat	Non	(Pompanon et al., 1997)
T. maidis	S	Noctuidae (Lep.)	Volatile (T)	Non	(Pintureau & Tooders 1983) §
T. pretiosum	S	Noctuidae (Lep.)	Volatile (T)	Non	(Kazmer & Luck, 1995)§
CYNIPOIDEA					
Eucoilidae					
Leptopilina boulardi	S	Drosophila (Dipt.)	Volatile (T+WT)	Non	(Fauvergue et al., 1999)
Leptopilina heterotoma	S	Drosophila (Dipt.)	Volatile (T+WT)	Non	(Fauvergue et al., 1999)
Charipidae					
Alloxysta victrix	S	parasitoïdes d'Aphididae	Volatile ♀ (O+T) mais active aussi sur les ♀ (phéromone d'espacement)	Oui	(Micha et al., 1993)

SUPERFAMILLE Famille *Espèce*	Dev	Hôtes	Caractéristiques	Id.	Références
ICHNEUMONOIDEA					
Braconidae					
Aphidius colemani	S	Pl. *Aphis spp*	Volatile (O + T)	Non	(Reed et al. 1994)**
A. nigripes	S	Pl. Aphididae	- Peu volatile provoquant le courtship (E) - Volatile (F)(WT)	Oui	(Mc Neil & Brodeur, 1995) (Marchand & Mc Neil, 2000)
A. rhopalosiphi	S	Pl. Aphididae	Volatile (E + T)	Non	(Decker et al., 1993)*§
A. ervi	S	Pl. Aphididae	Plusieurs composants : - Volatile (WT) (E+T) - Peu volatile (E)	 Non Non	(Powell & Zhang 1983)* (McClure et al., 2007) (McClure et al., 2007)
Apanteles glomeratus	G	Pl. Lepidoptera	Volatile (T) Sécrétion avant l'émergence	Non	(Tagawa & Kitano 1981)*§, (Tagawa, 1977)
A. medicaginis	S?	*Colias philodice* (Lep., Piridae)(L)	Volatile (WT)	Non	(Cole, 1970)
Ascogaster quadridentata	S	Pl. Tortricidae	Volatile ♀ (O + T) ♂attirant aussi les ♂ mais pas les ♀	Oui	(DeLury et al., 1999)
A. reticulates Watanabee	S	Pl. Tortricidae	Faiblement volatile	Oui	(Kainoh et al., 1991)
Cardiochiles nigriceps	S	*Heliothis virescens* (Lep., Noctuidae)	Plusieurs composants : - Volatile (T) - Faiblement volatile (3-7cm) - Phéromone de Contact	 Non Non Oui	 (Lewis et al., 1971 ; Vinson 1978) (Syvertsen et al., 1995)
Cotesia flavipes	G	Pl. Pieridae	Faiblement volatiles (E)	Non	(De Freitas et al., 2004)
Cotesia rubecula	S	*Pieris rapae* (Lep., Pieridae)	Volatile (WT)	Non	(Field & Keller, 1993b) (Field et Keller 1994)*
Diachasma alloeum	S	*Rhagoletis sp* (Dipt.,Tephritidae)	Volatile (O)	Non	(Stelinski et al., 2006)
Diaeretiella rapae	S	*Brevicoryne brassicae* (Hem., Aphididae)	Volatile (O)	Non	(Read et al 1970)*
Fopius arisanus	S	*Bactrocera tryoni* (Dipt., Tephritidae)	Volatile « à courte distance » émis par les ♀ (T)	Non	(Quimio & Walter, 2000)

SUPERFAMILLE Famille *Espèce*	Dev	Hôtes	Caractéristiques	Id.	Références
Glyptapanteles flavicoxis	G	*Lymantria spp* (Lep., Pyralidae)	Faiblement volatile (EAD + O) Volatile (O)	Oui Non	(Danci et al., 2006a; Danci et al., 2006b)
Lysiphlebus testaceipes	S	Pl. Aphididae	Volatile (T)	Non	(Fauvergue et al., *in press*)
Macrocentruus grandii	S	*Ostria nubilalis* (Lep., Pyralidae)	Volatile (WT + T) Plusieurs composants	Oui	(Swedenborg & Jones, 1992a, b; Swedenborg et al., 1993)
Meteorus pulchricornis	S	Pl. Lep.	Volatile (E)	Non	(Askari & Coppel, 1978)*
Microplitis croceipes	S	*Heliothis spp* (Lep., Noctuidae)	Volatile (T + WT)	Non	(Powell & King 1984) §
Pholetesor ornigis	?	?	Volatile (T)	Non	(Ridgway & Mahr 1986)*
Praon volucre	?	Pl. Aphididae (Hem.)	Volatile (T) (O+EAG)	Oui	(Decker et al., 1993; Nazzi et al., 1996)
Ichneumonidae					
Campoletis sonorensis	S	*Heliothidis virescens* (Lep., Noctuidae)	Volatile (WT)	Non	(Mc Auslane et al., 1990; Vinson, 1972)
Diadromus pulchellus *D. collaris*	S	*Acrolepiopsis assectella* (Lep. Acrolepiidae)	EAG	Non	(Lecomte & Pouzat, 1985)
Diapetimorpha introita (Cresson)	S	Spodoptera (Lep, Noctuidae)	Volatile (T)	Non	(Jewett & Carpenter, 1998)
Diplazon pectorarius	?	Aphidophagus (Hym. : Syrphidae)	Volatile (O)	Non	(Rotheray 1981)*
Eriborus terebrans	S	*Ostria nubilalis* (Lep. : Pyralidae)	Faiblement volatile ()	Oui	(Shu & Jones, 1993)
Ichneumon promissorius (Erichson)	S	Pl Lepidoptères	Volatile (C+E)	Non	(Jewett et Carpenter 1999)
Itoplectis conquisitor	S	Pl. Lepidoptères	Volatile (C)(E)	Oui	(Robacker & Hendry, 1977; Robacker et al., 1976)
Phaeogenes invisor	?	*Tortrix viridana* (Dip. : Tortricidae)	Volatile (**WT**)	Non	(Cole, 1970)
Syndipnus rubiginosus	S	*Pikonema askensis* (Hym. : Tenthredinidae)	Volatile (E+T)	Oui	(Eller et al., 1984)

2.2.2.2. Chercher les femelles dans leur habitat : attractivité pour les mâles des semiochimiques liés aux hôtes et des volatiles émis par les plantes

Afin de rechercher les sites attractifs pour les femelles (e.g. les sites de ponte), les mâles pourraient utiliser les mêmes indices et signaux allélochimiques que ceux utilisés par les femelles pour localiser leurs hôtes (pour une revue voir Godfray, 1994). Ainsi, la comparaison des réponses électro-physiologiques des antennes de mâles et de femelles a montré que les mâles *Apanteles obliquae* (Hym., Braconidae) perçoivent les odeurs de plantes et d'hôtes de la même manière que les femelles (Jyothi et al., 2002).

Les femelles *Lariophagus distinguendus* n'émettent pas de phéromones sexuelles perceptibles à distance (Figure 11a)(Ruther & Steidle, 2000). En revanche, les composés organiques volatiles émis par les fèces de leurs hôtes (sémiochimique des acariens associés aux fecès), qui sont attractifs à distance pour les femelles (Steidle & Ruther, 2000), le sont aussi pour les mâles (Figure 11b, c et d)(Ruther & Steidle, 2000). Une explication adaptative consiste à dire qu'en localisant les hôtes, les mâles *L. distinguendus* trouverait aussi les sites d'émergences des femelles. Ainsi, les mâles *Rhyssa persuasoria* s'agrègent sur les sites d'émergence potentiels des femelles, attirés par les semiochimiques produits par le champignon symbiotique de leur hôte *Syrex noctilio* (Davies & Madden, 1985; Madden, 1968).

Les mâles sont parfois attirés par les volatiles émis par les plantes comme par les femelles. *Diachasma alloleum* est un parasitoïde de deux espèces de mouches, l'une se développant sur des aubépiniers (*Rhagoletis pomonella*) et l'autre sur les myrtilles (*R.*

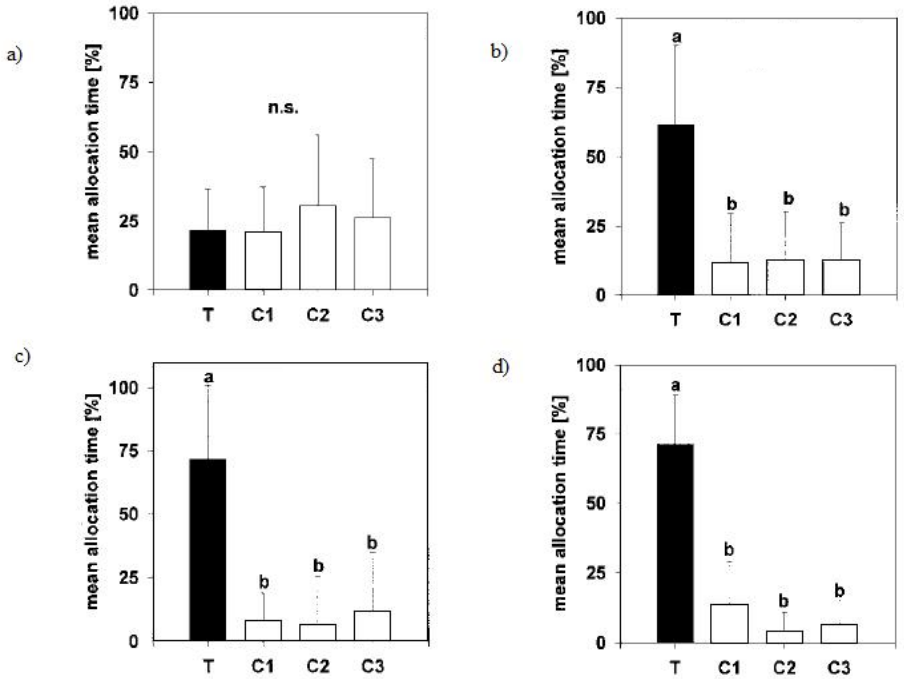


Figure 11. Mise en évidence de l'absence d'attractivité des femelles et de l'attractivité d'indices liés aux hôtes (fèces des acariens) pour les mâles *L. distinguendus*. Temps moyen passé dans chacun des quatre secteurs de l'olfactomètre. C1-C3 contrôles, T : sources d'odeurs testées : a) 10 femelles vierges, b) fèces des larves hôtes, c) extrait dans l'hexane à partir des fèces, d) volatiles émis par les fèces. (d'après Ruther & Steidle, 2000).

mendax). Les mâles et les femelles sont spécifiquement attirés par l'odeur de la plante saine dont leurs hôtes sont originaires : les mâles et les femelles émergeant de *R. pomonella* sont d'avantage attirés par les aubépines et ceux émergeant depuis *R. mendax* préfèrent les odeurs de myrtilles (Stelinski & Liburd, 2005). Chez cette espèce, les mâles et les femelles issus d'hôtes différents s'accouplent normalement et les femelles émettent une phéromone sexuelle volatile également attractive pour les mâles, quel que soit l'hôte d'origine (Stelinski et al., 2006). La préférence pour l'odeur de la plante d'origine de son hôte pourrait constituer un mécanisme d'isolement avant l'accouplement conduisant à une spéciation sympatrique chez ce parasitoïde (Stelinski & Liburd, 2005 ; Stelinski et al., 2006).

Le Tableau 4 présente la liste des espèces pour lesquelles les mâles utiliseraient une information environnementale liée aux hôtes pour localiser les sites de ponte ou d'émergence des femelles.

Tableau 4. Liste des espèces chez lesquelles les mâles sont attirés par la même information olfactive liée aux hôtes que les femelles. Dev : type de développement larvaire (S : solitaire, G : grégaire).

Espèces	Dev	Hôtes	Information olfactive attractive (Réf)
Campoletis sonorensis	S	*Heliothidis virescens* (Lep.)	Odeurs de plantes hôtes (cotonnier) (WT) (Mc Auslane et al., 1990)
Diachasma alloleum	S	*Rhagoletis pomonella R.* (Dipt.)(P)	Odeurs de plantes hôtes (aubépine et myrtilles) (O) (Stelinski & Liburd, 2005)
Diglyphus isaea Walker	S	Pl. Agromyzidae (Dipt.)	Odeurs de plantes hôtes infestées par des chenilles mineuses (réferences dansFinidori-Logli et al., 1996)
Epidinocarsis lopezi	S	*Phenacoccus manihoti* (L) (Hom., Pseudococcidae)	Femelles placées sur des plantes hôtes contenant des hôtes sont plus attractives (T) (van Dijken et al., 1989)
Lariophagus distinguendus	S	Pl. Curculionidae (Col.)	Semiochimique des acariens associées aux fèces des hôtes (O + E)(Ruther & Steidle, 2000) (identifié)
Pachycrepoideus vindemmiae	S	Pl. Diptères (P)	Levure (T) (Nadel & Luck, 1992)
Rhyssa persuasoria *Megarhyssa nortoni nortoni*	S	*Syrex noctilio* (Hym., Siricidae)	Semiochimique produit par le champignon symbiotique *(Amylosterum reolarum)* de l'hôte *Syrex noctilio* (Davies & Madden, 1985; Madden, 1968)
Spalangia cameroni	S	Pl. Muscidae (P)	L'odeur de la litière animale contenant les hôtes est attractive (O+T) (Myint & Walter, 1990)

2.2.2.3. Se regrouper et attirer les femelles ?

Des rassemblements de mâles, de taille plus ou moins importante, ont été observés en conditions naturelles chez quelques espèces d'hyménoptères parasitoïdes (pour une revue des espèces ayant des rassemblements reproductifs voir Hardy et al., 2005b ; Quicke, 1997 p289). A ma connaissance, les informations utilisées par les mâles pour initier le regroupement et celles utilisées par les femelles pour localiser le rassemblement restent à découvrir. Il a été proposé que les mâles se regrouperaient afin d'augmenter l'efficacité d'un signal phéromonal attractif à distance pour les femelles. Cependant, il n'y a aucune preuve empirique chez les insectes que le regroupement augmenterait l'efficacité du signalement en terme de gain individuel (nombre de femelles arrivant par mâle Shelly & Whittier, 1997). Chez *Fopius arisanus* Sonan (Hym Braconidae), un parasitoïde dont les mâles se rassemblent dans la canopée lorsqu'ils sont immatures, ou près du sol une fois la maturité sexuelle atteinte, l'odeur des mâles n'est même pas attractive pour leurs conspécifiques des deux sexes (Quimio & Walter, 2000). Il est plus probable que les mâles s'agrègent sur un site de passage des femelles ou attractif pour elles, comme par exemple un point remarquable du paysage (« hilltopping » références dans Hardy et al., 2005b) ou un site contenant des hôtes (e.g. *Bracon hebetor* Antolin & Strand, 1992 ; Hardy et al., 2005b; Quicke, 1997 p289).

2.2.2.4. Conclusion sur les informations utilisables

Cette revue au sujet des informations utilisées par les mâles pour localiser (ou attirer) les femelles fait presque uniquement référence à des informations olfactives (signaux chimiques volatiles ou non et indices olfactifs liés aux hôtes et aux plantes hôtes). A faible distance, les informations visuelles et tactiles peuvent être nécessaires en association avec les phéromones sexuelles pour provoquer la parade sexuelle (voir partie 2.2.1). Néanmoins dans le contexte du rapprochement des partenaires, l'importance des informations visuelles effectives à longue distance reste méconnue. Pourtant, la présence de la plante hôte, et donc l'information visuelle associée à cette plante, améliore la réponse des mâles *Campoletis sonorensis* aux phéromones sexuelles volatiles émises par les femelles et aux plantes hôtes (Mc Auslane et al., 1990). Concernant les signaux et indices acoustiques, les vibrations du substrat consécutives à l'émergence lorsque les hôtes sont cachés pourraient aussi être employées par les mâles pour la localisation (une référence dans Godfray & Cook, 1997). L'émission de signaux sexuels de nature acoustique par les mâles, perceptibles à distance par

les femelles, semble peu probable chez les parasitoïdes en raison de leur petite taille (Hardy et al., 2005b).

Les études des patrons d'émergences et de dispersion indiquent que de nombreux parasitoïdes dispersent hors de leur patch de naissance pour trouver des femelles (partie 2.1.3.). Cette revue des informations liées aux femelles perceptibles par les mâles confirme que de tels systèmes mixtes existent : les mâles peuvent utiliser plusieurs stratégies pour trouver des femelles car ils peuvent se fier à différentes sources d'informations olfactives selon l'échelle spatiale de la recherche. Afin d'affiner les prédictions concernant les systèmes d'appariement, nous avons vu qu'il peut être nécessaire de déterminer l'âge et la période pendant laquelle les femelles émettent des phéromones, et comment la sensibilité des mâles varie avec l'âge, l'expérience, ou la photopériode. Il a aussi été montré en laboratoire que les conditions atmosphériques influencent fortement l'efficacité de recherche des mâles parasitoïdes (e.g. vitesse du vent et pression atmosphérique, Marchand & Mc Neil, 2000). Lorsque les accouplements ne peuvent avoir lieu que sur une période de temps très brève, des conditions défavorables à la recherche devraient avoir pour conséquences qu'une partie des femelles restent vierges (effet négatif de l'hygrométrie, Schwörer et al., 1999).

De nombreux points restent cependant à éclaircir. Premièrement, les futures études sur les phéromones sexuelles devront chercher à vérifier à quelle distance les femelles sont attractives pour les mâles en conditions naturelles. De plus, nos connaissances sur la perception par les mâles des informations liées indirectement aux femelles (lors de la recherche des sites de ponte ou d'émergence) sont très limitées. Concernant les accouplements ayant lieu hors du patch d'émergence des mâles, la classification partage les systèmes d'appariement en deux catégories : les rencontres sur un lieu arbitraire, grâce à l'émission d'une phéromone sexuelle femelle attractive à distance pour les mâles, et les rencontres sur un lieu comme le site de ponte ou d'émergence des femelles, les mâles localisant ces lieux grâce aux indices liés aux hôtes. Or les mâles pourraient être capables de combiner les deux types d'information pour améliorer leur chance de rencontrer les femelles. L'existence de tels systèmes mixtes a rarement été considérée (Godfray & Cook, 1997 mais voir Mc Auslane, 1990 #306) et mériterait d'être étudiée.

2.3. Rôle respectif de chaque sexe dans l'acquisition des partenaires

Chez les parasitoïdes, comme chez la plupart des espèces animales se reproduisant sexuellement, la majorité de l'effort de recherche apparent, c'est-à-dire la mobilité, est généralement assumée par les mâles (Kokko et al. 2007). En effet, comme nous venons de le voir, excepté lors des rassemblements reproductifs dans des essaims ou des leks, ce sont eux qui se déplacent à la rencontre des femelles. De manière générale, se déplacer pour chercher un partenaire sexuel représente une dépense énergétique importante, des risques accrus de mortalité par prédation, mais aussi une perte de temps en raison du *trade-off* avec d'autres activités de recherche comme celle des d'hôtes ou celle de nourriture (Sirot, 1996). D'après la théorie générale de la sélection sexuelle, les femelles sont une ressource limitante pour les mâles, ce qui intuitivement conduit à la prédiction que les mâles doivent endurer la majorité des coûts de recherche (Alexander & Borgia, 1979 ; Greenfield, 1981). D'un autre coté, se signaler présente aussi en plus des coûts énergétiques nécessaires à la production du signal, des risques élevés en terme de prédation et de parasitisme (pour une revue voir Zuk & Kolluru, 1998). Par conséquent, lorsque l'un des deux sexes se signale en attendant d'être rejoint, alors les mâles doivent endosser ce rôle s'il est davantage coûteux que le déplacement (Alexander & Borgia, 1979 ; Greenfield, 1981). Cette deuxième prédiction semble également respectée chez les parasitoïdes car lorsque les femelles se signalent pour aider les mâles dans leur recherche, elles utilisent des phéromones sexuelles (voir partie 2.2.2.1). Produire un signal phéromonal seraient un mode de signalement «à coût minimal » beaucoup moins coûteux d'un point de vue énergétique que les signaux acoustiques ou visuels, ce qui expliquerait pourquoi chez les insectes, l'attraction à distance des partenaires par des moyens acoustiques comme chez les grillons ou visuel comme chez les lucioles est pratiqué par les mâles tandis que les femelles attirent plus généralement les mâles grâce à des phéromones (Alexander & Borgia, 1979 ; Alexander et al., 1997 ; Andersson, 1994 ; Zuk & Kolluru, 1998).

A ma connaissance, le coût énergétique supporté par les femelles et lié à la production d'un signal chimique est inconnu chez les parasitoïdes et les insectes en général (Andersson, 1994 ; Zuk & Kolluru, 1998). Cependant, l'émission des phéromones volatiles s'arrête généralement après l'accouplement chez les espèces de parasitoïdes monogames (Fauvergue et al., 1999; Quicke, 1997). Un autre coût indirect qui pourrait être porté par les femelles si elles n'éteignent pas leur signal après l'accouplement est celui de l'espionnage par les conspécifiques du même sexe (pour une définition de la notion d'espionnage voir Danchin et

al., 2004; Wyatt, 2003), qui pourraient essayer de profiter des patchs d'hôtes qu'elles découvrent. Répondre à un signal sexuel peut aussi générer un coût en termes de temps et d'énergie consacrés à la reproduction : chez certaines espèces d'hyménoptères parasitoïdes, les mâles servent de pollinisateurs à des orchidées car ils sont trompés par l'odeur imitant la phéromone sexuelle volatile femelle et la forme des organes sexuels de la fleur ((e.g. *Lissopimpla excelsa* (Hymenoptera : Ichneumonidae) et orchidée du genre *Cryptostylis* Schiestl et al., 2004).

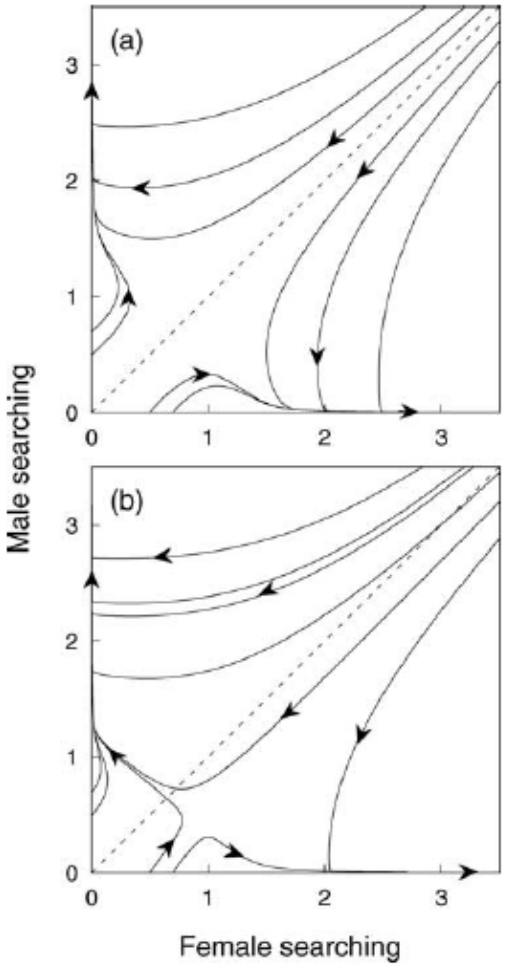


Figure 12. En l'absence de compétition spermatique, les trajectoires évolutives peuvent devenir asymétrique si le coût de la recherche est plus important pour les femelles que pour les mâles : (a) coût de l'effort de recherche équivalent entre les sexes, (b) coût supérieur pour les femelles (Kokko & Wong, 2007).

La prédiction verbale que les mâles endurent la majorité de l'effort de recherche (mobilité et signalement) lorsque les femelles sont le sexe limitant est restée longtemps en contradiction avec les prédictions du modèle théorique développé par Hammerstein et Parker (1987), seul modèle ayant formalisé cette question. Ces auteurs montrent que la recherche du partenaire peut être envisagée comme un jeu évolutif dépendant de la fréquence : le besoin de rechercher les membres de l'autre sexe est diminué quand le sexe opposé fait un effort de recherche plus important. Cependant, ce modèle prédit que les stratégies « seuls les mâles cherchent » ou « seules les femelles cherchent » sont évolutivement stables. Les femelles pourraient donc théoriquement perdre à la fois le jeu de l'investissement parental et celui de la recherche de partenaires (Hammerstein & Parker, 1987).

Cette impasse théorique n'a été contournée que très récemment par Kokko et Wong (2007). Ils montrent que : i) lorsque la compétition spermatique est prise en compte (accouplement multiples par les femelles), alors les mâles doivent effectivement assumer la majorité de l'effort de recherche, comprenant le signalement et la mobilité, en situation de forte compétition, ii) lorsqu'il

n'y a pas de compétition spermatique (monoandrie), il faut supposer que les coûts endurés lors de la recherche sont plus importants pour les femelles que pour les mâles pour obtenir la prédiction que seuls les mâles cherchent (Kokko & Wong, 2007)(Figure 12).

Cette deuxième prédiction du modèle de Kokko et Wong (2007) pourrait s'appliquer aux parasitoïdes : la plupart des espèces de parasitoïdes sont monoandriques (Ridley, 1993) et les coûts de la recherche sont plus importants pour les femelles que pour les mâles. En effet, les femelles vierges peuvent se reproduire sans s'être accouplées et perdraient donc des opportunités de ponte en recherchant un mâle.

Ce sont donc les mâles qui assument la plupart des coûts de la recherche des partenaires sexuels chez les hyménoptères parasitoïdes. Nous allons maintenant voir quelle place occupe l'utilisation de l'information dans la compétition entre mâles pour l'accès aux femelles.

2.4. Informations et compétitions entre mâles avant l'accouplement

2.4.1. Compétition indirecte : sensibilité aux signaux

Nous avons vu que, pour la localisation, les mâles se basent sur un ensemble de signaux sexuels et d'indices environnementaux. Dans cette course pour l'acquisition des femelles, les mâles les plus efficaces dans l'utilisation de ces informations devraient avoir plus de descendants. De plus les quantités de phéromones sexuelles émises par les femelles peuvent être infimes (Phelan, 1992 ; 1997). Ce type de compétition sexuelle pour la sensibilité aux signaux, qui est très peu considérée d'un point de vue théorique, expliquerait le développement d'un dimorphisme antennaires chez certaines espèces d'insectes (Andersson, 1994). La structure des antennes, le type et le nombre de sensilles présents sur les antennes peuvent être identiques ou différents entre les mâles et les femelles chez les hyménoptères parasitoïdes (e.g. *Cotesia glomerata* et *Cotesia rubecula* Bleeker et al., 2004). Mais, même lorsque d'un point de vue structurel les différences sont minimes, la sensibilité individuelle des sensilles des mâles peut être plus grande que celle des femelles. Ainsi, les sensilles mâles chez *Micropletis croceipes* détectent mieux les substances testées que celles des femelles, bien que les molécules testées soit des volatiles liées aux hôtes, et non des phéromones sexuelles (Ochieng et al., 2000). L'hypothèse du pistage asymétrique (*Asymmetric Tracking Hypothesis*, Phelan 1992 ; 1997) propose que ce sont les mâles qui s'adaptent aux femelles : lorsqu'elles émettent les signaux sexuels, la réponse des mâles doit suivre les changements pouvant intervenir dans la composition ou le taux d'émission de ces signaux. D'après cette hypothèse, les mâles doivent être sensibles aux bouquets d'odeurs les plus fréquemment émis

par les femelles sans pour autant être trop sélectifs. Cette hypothèse proposée à l'origine pour expliquer les variations existantes dans la composition des phéromones sexuelles chez les lépidoptères (Phelan 1992, 1997), pourrait expliquer la plus grande sensibilité aux composés organiques volatiles des mâles *M. croceipes*.

Alexander et al. (1997) considèrent que le rôle joué par l'apprentissage dans les comportements sexuels est négligeable chez les insectes non sociaux parce qu'ils ont une durée de vie courte et souvent peu de contacts avec des conspécifiques. Le premier contact a parfois lieu au moment de la rencontre avec un partenaire sexuel potentiel (mais voir Dukas, 2006 pour une revue). Or, les mâles parasitoïdes sont capables d'apprentissage associatif basé sur des informations olfactives (e.g. *Itoplectis conquisitor* Robacker et al., 1976) ou visuelles (e.g. *Nasonia vitripennis* Baeder & King, 2004) lorsque la récompense est un accouplement. Les capacités d'apprentissage pourraient se révéler cruciales pour l'acquisition des femelles et mériteraient d'être davantage explorées.

2.4.2. Compétition directe : gardiennage pré-copulatoire, combat létaux et stratégies alternatives

Les exemples de compétition directe entre mâles s'observent principalement lorsque les accouplements ont lieu sur le site d'émergence des femelles. Ainsi, lorsque les mâles ne peuvent pas disperser, la compétition entre les mâles peut aller jusqu'à des combats mortels comme dans le genre *Melittobia,* les mâles décapitant leur adversaire à l'aide de leurs mandibules (Abe et al., 2005 ; van den Assem, 1980). L'agressivité des mâles *M. acasta* augmente avec le nombre de compétiteurs présents et les mâles de grandes tailles ont plus de chance de remporter la compétition (Reece et al., 2007). Cependant, la taille relative de deux mâles n'a pas d'effet sur la probabilité d'observer un combat lors d'une rencontre. Ainsi, les combats entre mâles de tailles égales sont aussi fréquents qu'entre mâles de tailles différentes (Reece et al., 2007). Ce résultat suggère que les mâles n'estiment pas leur capacité à gagner face à leur opposant avant de s'engager dans un conflit. Reece et al. (2007) proposent que les mâles n'utilisent pas cette information car il y a plus à perdre qu'à gagner à refuser un combat, les mâles ne pouvant pas courtiser efficacement les femelles s'il reste des opposants. Chez *N. vitripennis*, il n'y a pas de relation entre la taille des mâles et le succès lors des interactions avec d'autres mâles (Burton-Chellew et al., 2007).

Lorsque les mâles dispersent pour rechercher des opportunités d'accouplement hors de leur patch d'émergence, il devrait exister une corrélation négative entre la disponibilité des

femelles sur le patch et le taux de dispersion des mâles (Leonard & Boake, 2006). Si les mâles estiment l'intensité de la compétition par le ratio entre le nombre de femelles disponibles et le nombre de compétiteurs mâles, on s'attend donc à observer une augmentation de la proportion de mâles dispersant avec l'intensité de la compétition. A ma connaissance, aucune étude n'a testé rigoureusement cette hypothèse. Les mâles *Pachycrepoideus vindemmiae* quittent plus rapidement le patch de naissance quand d'autres mâles y sont présents, c'est-à-dire lorsqu'ils sont en compétition (Nadel & Luck, 1992). Cependant, il semblerait que ce phénomène ne soit pas le résultat des interactions avec les autres mâles. Il est à noter que les effectifs utilisés dans cette étude sont insuffisants pour conclure de façon définitive (voir Hardy et al. 2005, Hardy 1994 pour une critique). Martel (2007), propose que les mâles estiment la qualité de leur patch d'émergence non pas en fonction du ratio entre femelles et compétiteurs comme je viens de le proposer, mais en fonction du nombre de femelles disponibles. Effectivement, le temps passé sur le patch de naissance par les mâles *Trichogramma turkestanica* (=*evanescens*), parasitoïde quasi-grégaire d'œufs de lépidoptère, dépend du nombre de femelles vierges ainsi que du nombre d'œufs parasités ou ayant été parasités.

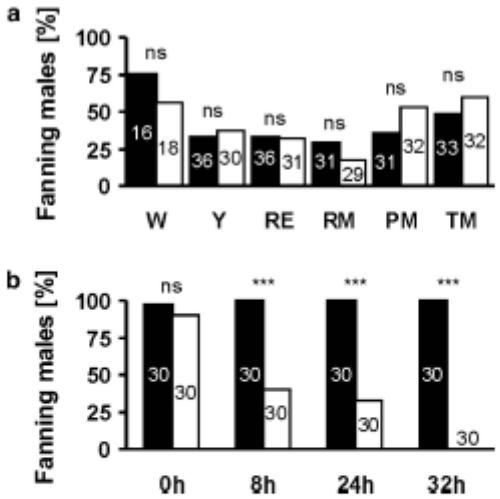


Figure 13. Mimétisme chimique des mâles *Lariophagus distenguendus* (Steiner et al., 2005). Pourcentage de mâles répondant par vibration des ailes à des pupes de différents stades larvaires : **(a)** et des parasitoïdes adultes 0, 8, 24 et 32h après l'émergence, **(b)**. Barre noire : femelles ; barre blanche : mâles. W : pupe blanche, Y jaune, RE yeux rouges, RM pièces buccales rouges, PM partiellement mélanisée, TM totalement mélanisé.

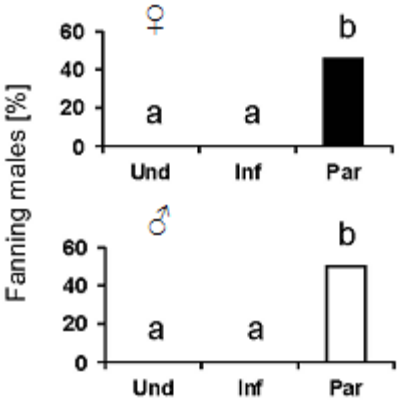


Figure 14. Réponse des mâles *L. distenguendus* à différents types de grain (Und : sain, Inf : infesté par un hôte, Par : infesté par un hôte parasité). Barre noire : hôte parasité par une femelle, barre blanche : hôte parasité par un mâle (d'après Steiner et al., 2005).

Lariophagus distinguendus est un parasitoïde de larves de bruches se développant dans des graines. Les mâles parasitoïdes *L. distinguendus* émettent la même phéromone sexuelle que les femelles avant l'émergence (Figure 13a). De plus, cette phéromone est perceptible par

les mâles à travers le grain contenant l'hôte (Figure 14), ce qui permettrait aux femelles d'être repérées par les mâles très tôt et d'être accouplées dès leur émergence. Après avoir identifié la phéromone, Steiner et al. (2005) ont d'abord proposé que les mâles miment la phéromone sexuelle femelle afin de détourner les autres mâles émergés plus tôt des graines contenant des femelles. Les mâles dégradent activement cette phéromone après l'émergence, ce qui conduit à éteindre le signal après 32h (Figure 13b). En effet, en situation de compétition directe avec d'autres mâles, porter une phéromone sexuelle femelle s'avère coûteux pour un mâle : les mâles jeunes sont souvent victimes d'une confusion homosexuelle qui leur fait perdre la compétition pour l'accès aux femelles (Ruther & Steiner, in press).

La compétition directe entre mâles pour l'accès aux femelles peut être intense, même chez les parasitoïdes solitaires. Ainsi, comme les mâles de *N. vitripennis* (Hardy et al., 2005a), les mâles *Cotesia rubecula* utilisent des stratégies dites « sournoises » pour ravir les femelles à leur rival (Field & Keller, 1993a). Plusieurs mâles peuvent être attirés simultanément par une même femelle secrétant une phéromone sexuelle volatile (Field & Keller, 1993a). Une première stratégie consiste à exploiter l'effort fait par un autre mâle pour induire la réceptivité chez la femelle en court-circuitant sa parade. Une deuxième stratégie possible consiste à adopter avant, pendant, ou immédiatement après l'accouplement la posture prise par les femelles quand elles acceptent l'accouplement. Ce signal visuel agirait conjointement avec la contamination par les phéromones sexuelles femelles pour distraire un rival le temps que la femelle quitte le patch (la réceptivité des femelles à un second accouplement ne dure que quelques minutes) (Field & Keller, 1993a). Les cas rapportés de stratégie de gardiennage post-accouplement sont rares chez les parasitoïdes (pour une revue chez les insectes voir, Alcock, 1994).

3. CHOIX DU PARTENAIRE CHEZ LES HYMENOPTERES PARASITOÏDES

Le chapitre précédent a montré le caractère essentiel de l'utilisation d'informations pertinentes dans la phase de recherche des partenaires. Ce présent chapitre s'intéresse à la phase suivante de la séquence d'appariement, celle du choix des partenaires par les femelles ou par les mâles.

La première partie du chapitre est consacrée au rôle des comportements de parade sexuelle et de la communication chimique dans la reconnaissance de l'espèce. La seconde partie pose la question des critères de choix qui peuvent motiver l'acceptation ou le rejet d'un mâle par une femelle. En d'autres termes, la seconde partie cherche à déterminer les caractéristiques qualitatives souhaitables chez le mâle. Les différentes prédictions des modèles théoriques d'évolution de la préférence seront discutées par rapport à nos connaissances des informations échangées entre mâles et femelles lors de la parade sexuelle chez les parasitoïdes. La troisième partie porte sur la notion de conflit sexuel et de résistance des femelles à l'accouplement comme un moyen éventuel de tester la qualité des mâles.

3.1. Reconnaissance spécifique

Les mécanismes impliqués dans la reconnaissance de l'espèce joueraient un rôle important dans l'évolution des caractères sexuels secondaires et des préférences pour ces caractères (voir Andersson, 1994). Mais les processus de spéciation allopatrique et sympatrique peuvent aussi être renforcés ou même créés par la sélection sexuelle pour le choix du partenaire (pour une revue voir Panhuis et al., 2001). Quoi qu'il en soit, le premier critère de choix du partenaire reste l'appartenance à la même espèce.

Chez les parasitoïdes, la reconnaissance peut être opérée par la femelle au moment de la rencontre, le trait comportemental ou phénotypique permettant la discrimination étant alors exprimé par le mâle. Dans le complexe de cinq espèces du genre *Muscidifurax* qui vivent pour certaines en sympatrie, les caractéristiques de la parade sexuelle des mâles varient subtilement d'une espèce à l'autre, mais ces faibles variations serait suffisante pour assurer un isolement reproductif (pour les références voir dans Hardy et al., 2005a). Cependant, l'isolement reproductif, grâce aux divergences comportementales, n'est pas toujours parfait. Ainsi, chez trois espèces du genre *Nasonia*, *N. vitripennis*, *N. longicornis* et *N. giraulti*, rencontrées en sympatrie, la séquence comportementale lors de la parade sexuelle et la répétition du nombre de séquences diffère d'une espèce à l'autre (Beukeboom & van den Assem, 2001; van den

Assem & Werren, 1994). Pourtant, les femelles sont en partie réceptives aux parades des mâles hétérospécifiques et des accouplements ont lieu avec ces mâles (Bordenstein et al., 2000). Le niveau d'acceptation des accouplements hétérospéciques est très variable selon les souches et l'étude de croisements entre ces souches a conduit à l'identification des QTL intervenant dans le choix du partenaire et la reconnaissance de l'espèce par les femelles (Velthuis et al., 2005).

Les informations chimiques émises par les mâles sont aussi utilisées par les femelles pour éviter les accouplements avec des hétérospécifiques. Chez *Melittobia digitata*, les mâles émettent une phéromone sexuelle capable d'attirer à distance leurs conspécifiques femelles (Cônsoli et al., 2002) mais aussi celles d'espèces proches *M. femorata et M. australica* (Matthews et al., 1985). Ceci suggère que les trois espèces utilisent des phéromones sexuelles relativement similaires. Cependant, les femelles *M. digitata* rejettent les mâles hétérospécifiques lorsqu'ils sont à très faible distance ou après contact antennaire, alors que ceux-ci les courtisent indifféremment. La reconnaissance spécifique pourrait avoir lieu grâce à une phéromone sexuelle de contact (Cônsoli et al., 2002).

Finalement, les femelles ne sont pas toujours les seules responsables de l'évitement des accouplements hétérospécifiques. En utilisant les phéromones sexuelles émises par les femelles, les mâles aussi peuvent se montrer sélectifs. Ainsi les mâles *Syndipnus gaspesianus* ne sont pas attirés à distance par les femelles de l'espèce sympatrique *S. rubiginosus* ou par leur phéromone (Eller et al., 1984; voir aussi *Brachymeria intermedia* et *B. lasus* Mohamed & Coppel, 1987). Utilisant la technique de la détection par électro-antenogramme couplée à la chromatographie en phase gazeuse, Danci et al (Danci et al., 2006b) ont montré que les mâles des deux espèces *Glyptapenteles xavicoxis et G. indiensis* détectent certains composés présents dans le bouquet phéromonal émis par les femelles hétérospéciques. L'ensemble des composés du bouquet est néanmoins nécessaire pour provoquer l'attraction à faible distance et la parade sexuelle, et permet donc aux mâles de faire la distinction entre femelles conspécifiques et hétérospécifiques (Danci et al., 2006b).

La reconnaissance de l'espèce est le premier critère d'acceptation d'un partenaire. La partie suivante traite des critères de choix utilisés par les femelles dans le cadre d'une rencontre avec un mâle de la même espèce.

3.2. Qualité du partenaire comme critère de choix

3.2.1. Bénéfices matériels et sélection directe pour la préférence

Pour une femelle, une des raisons pour préférer un partenaire sexuel à un autre est qu'il lui fournit des bénéfices matériels, comme un territoire, un site de ponte, de meilleures qualités, davantage de bénéfices nutritionnels sous forme de cadeaux lors de la parade ou de l'insémination (voir encart 5), ou bien encore un investissement plus important dans le soin aux jeunes. Ces bénéfices non génétiques améliorent la fitness des femelles via leur fécondité ou leur survie mais aussi en augmentant le succès d'élevage de leurs jeunes (pour une revue des preuves empiriques voir Andersson, 1994 ; Møller & Jennions, 2001). Les stratégies de reproduction décrites jusqu'à présent chez les parasitoïdes ne font pas état de gains matériels directs lors de l'appariement avec un mâle (Godfray, 1994).

Encart 5. Coût et bénéfices des accouplements pour les femelles

L'accouplement représente plus qu'un moyen de fertiliser leurs œufs pour les femelles. Il peut en lui-même, via le stockage des spermatozoïdes ou via les composés présents dans le liquide séminal des mâles, bénéficier ou coûter à la femelle en affectant sa fécondité, sa survie ou sa fertilité (pour une revue complète voir Arnqvist et Nilsson 2000). Ainsi, les produits accessoires de l'éjaculat ont des bénéfices nombreux sur la fitness des mâles parfois au détriment de celle des femelles (pour une revue voir (Poiani, 2006)).

Tableau a. Principaux effet de l'accouplement sur la fitness des femelles chez les insectes (d'après Anqvist et Nilsson 2000). Les effets antagonistes sont signalés par un signe moins et les effets positifs par un signe plus.

	Durée de vie de la femelle	Taux de production des œufs	Fertilité des femelles
Accouplement en lui-même	-	- / +	0
Stockage des spermatozoïdes	0	- / +	- / +
Produits accessoires de l'éjaculat :			
Stimulant la production d'œufs	-	+	0
Inhibant la réceptivité des femelles	- / +	-	-
Substance anti-spermatique	-	0	0
Substance pro-spermatique	0	0	+
Nutriments	+	+	0

La sélection directe pour le choix du partenaire lorsque le choix permet de réduire les coûts liés à l'accouplement est parfois aussi classée parmi les modèles théoriques d'évolution

du choix pour des effets phénotypiques directs (Andersson & Simmons, 2006). Cependant, ce type de choix du partenaire correspond plutôt à un évitement des coûts imposés par les mâles et est mieux comprise dans le cadre théorique des conflits d'intérêt entre les sexes (Chapman et al., 2003 ; mais voir Eberhard & Cordero, 2003)(voir partie 3.3).

La sélection peut opérer directement sur la préférence lorsque les bénéfices pour la femelle sont directs. La partie suivante aborde les mécanismes de sélection indirecte pour la préférence lorsque les bénéfices sont de meilleurs gènes pour la descendance.

3.2.2. Bénéfices génétiques et sélection indirecte de la préférence pour des bons gènes

Certains systèmes d'appariement comme les leks, ne sont pas basés sur la fourniture de ressources matérielles par les mâles. Comment expliquer dans ce cas que les femelles se montrent sélectives, alors même que le choix peut être coûteux pour les femelles en termes de temps, d'énergie et de risque de prédation ? La préférence des femelles peut s'exprimer envers les mâles ayant la meilleure qualité génétique, caractéristique qui serait héritable. Ceci conduirait à une sélection indirecte pour la préférence à travers la coévolution entre la préférence et les traits préférés qui deviennent génétiquement associés (pour une revue des modèles théoriques voir Andersson, 1994 ; Kokko et al., 2003; Kokko et al., 2006). Deux mécanismes sont théoriquement possibles : (i) les femelles peuvent préférer des mâles dont les fils auront un plus grand succès d'accouplement (Processus d'emballement dit de Fisher, Iwasa & Pomiankowski, 1995; Kirkpatrick, 1982), (ii) elles peuvent préférer des mâles dont les descendants seront plus viables ou plus résistants aux parasites (Mécanisme Indicateur des bons gènes Grafen, 1990a, b; Hamilton & Zuk, 1982 ; Zahavi, 1975). Ce sont ces mécanismes qui seraient à l'origine des caractères sexuels secondaires exagérés (Andersson 1994).

A ma connaissance, les critères de choix des femelles hyménoptères pour les mâles n'ont jamais été réellement étudiés en rapport avec ces questions, essentiellement parce qu'à de très rares exceptions près, les mâles n'arborent pas de caractères sexuels secondaires particuliers. Dans le genre *Mesopolobus* (Hym, Pteromalidae), les tibias des mâles sont ornementés de bandes jaunes et oranges et sont exhibés devant les yeux de la femelle pendant l'accouplement. L'importance de ce caractère n'a cependant pas été élucidée (références dans Godfray 1994, p277).

Encart 6. Quel lien entre la taille et la fitness chez les mâles parasitoïdes ?

Comme chez les autres animaux, la valeur sélective des mâles parasitoïdes dépend de leur capacité à trouver des femelles pour s'accoupler et à remporter l'accouplement en situation de compétition directe. La taille corporelle a un effet direct sur la fitness si la longévité ou les capacités de dispersion en dépendent (Godfray 1994, p260) ou lorsqu'en situation de compétition les mâles de grande taille remportent la compétition (intra sexuelle)(voir partie 2.4.2, mais voir Burton-Chellew et al., 2007 pour un contre-exemple).

La valeur sélective des mâles dépend aussi de leur capacité d'insémination, c'est-à-dire du nombre de spermatozoïdes transmis aux femelles accouplées. Lorsque le nombre d'accouplements réalisés par un mâle est faible, on n'observe généralement pas d'effet de la taille sur le succès reproducteur des mâles (Ode et al., 1996). En revanche, les mâles sont limités par la quantité de spermatozoïdes dont ils disposent[1] : (i) dans certaines conditions où ils s'accouplent fréquemment (Damiens & Boivin, 2005 ; Ode et al., 1996), (ii) lorsque les femelles acceptent plusieurs accouplements et que la probabilité de remporter la compétition spermatique dépend de la quantité de spermatozoïdes alloués (e.g. *Anisopterus calandrus,* Khanh et al., 2005). Ces études ont montré soit indirectement à travers le nombre de filles produites (Ode et al., 1996, Henter, 2004 et références à l'intérieur;), soit plus rarement en comptant directement le nombre de spermatozoïdes (Lacoume et al., 2007 voir Figure ci dessous) qu'il existe une corrélation positive entre la taille des mâles et le nombre de filles produites / la quantité de spermatozoïdes dont ils disposent.

A ma connaissance, le lien existant entre la fitness et la taille chez les mâles parasitoïdes a été le plus souvent examiné en rapport avec le test du modèle de la « qualité de l'hôte » chez les parasitoïdes solitaires (Charnov, 1982)(partie 4.2.2). Ces études montrent généralement l'existence d'une corrélation positive entre la qualité de l'hôte et la taille des adultes (pour une revue voir Ode & Hardy, 2007).

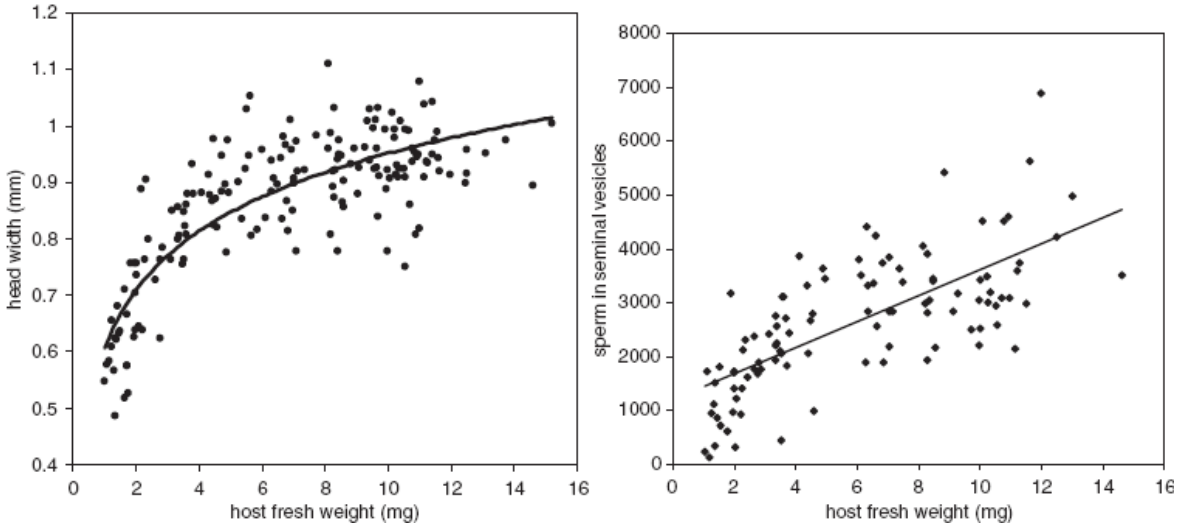


Figure a. Relation entre la taille du mâle estimée par la largeur de la tête (mm) et le poids de l'hôte (mg) chez le parasitoïde *Dinarmus basalis* (à gauche). Relation entre le nombre de spermatozoïdes présents dans les vésicules séminales et le poids de l'hôte (Lacoume et al., 2006)(à droite).

[1]Pour les mâles, la disponibilité des spermatozoïdes à un instant dépend de la dynamique de production des spermatozoïdes au cours de la vie, certaines espèces ayant un stock fini à l'émergence et d'autres pouvant au contraire faire arriver à maturation des spermatozoïdes tout au long de leur vie (voir l'indice de spermatogénèse proposé par Boivin et al., 2005).

Les études qui se sont intéressées au succès d'accouplement des mâles parasitoïdes ont parfois montré un avantage aux mâles de grande taille (pour une revue voir Henter, 2004). Ainsi, la longévité étant positivement liée à la taille, les mâles de grande taille aurait la possibilité de rencontrer davantage de femelles (e.g. *Bracon hebetor* Ode et al., 1996). La taille peut aussi avoir un effet positif sur les quantités de spermatozoïdes produits (Lacoume et al., 2007), donc sur le nombre de filles dont un mâle peut être le père, trait qui est directement lié à la valeur sélective des mâles en raison de l'haplodiploïdie. Henter (2004) a montré que les femelles qui s'accouplent avec des mâles de grande taille produisent une sex-ratio d'avantage biaisée en faveur des filles et suggère qu'il pourrait exister une sélection positive sur la taille des mâles. Les filles profiteraient aussi d'avoir un père de grande taille car, chez les parasitoïdes comme chez de nombreux insectes, la fécondité des femelles est souvent proportionnelle à leur taille (Godfray, 1994 p260 ; Rivero & West, 2002). Mais, pour autant, est-ce qu'un choix actif sur la taille des mâles pourrait être sélectionné chez les femelles dans le cadre de la préférence pour les bons gènes chez les parasitoïdes ? La réponse à cette question devrait être négative car l'héritabilité de la taille doit être faible chez les parasitoïdes. En effet, la taille adulte dépend essentiellement de la qualité de l'hôte dans lequel le mâle s'est développé (Encart 6). Il n'y a donc a priori pas de raison pour les femelles de préférer s'accoupler avec un mâle de grande taille excepté dans une situation où les quantités de spermatozoïdes transmis pourraient être limitées.

Lorsque le choix du partenaire se fait sur la base des bons gènes, les mâles de bonne qualité seront les mêmes pour toutes les femelles. Nous allons voir maintenant que les mâles de bonne qualité peuvent varier selon les femelles car les bénéfices génétiques dépendent aussi de la compatibilité génétique entre les partenaires.

3.2.3. Recherche de compatibilité et évitement de l'incompatibilité génétique

Certaines combinaisons d'allèles ont pour effet d'augmenter la valeur sélective d'un génotype, via par exemple l'avantage aux hétérozygotes, et d'autres ont l'effet inverse, via l'expression d'allèles récessives délétères (pour une revue voir Mays & Hill, 2004). Les femelles doivent donc tenir compte de la concordance éventuelle des allèles et préférer s'accoupler avec des mâles génétiquement compatibles (Trivers, 1972). La Figure 15 compare le fonctionnement des bons gènes et des gènes compatibles comme deux critères de choix du partenaire sexuel.

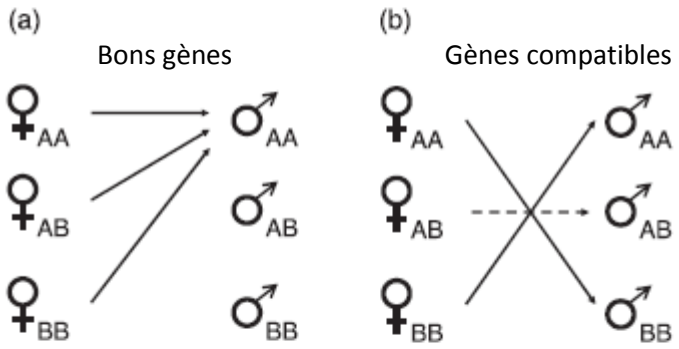


Figure 15 Les deux composantes de la qualité génétique : les bons gènes (effet additif sur la fitness) et les gènes compatibles (effet non-additif sur la fitness) (a) quand l'allèle A est un bon gène, toutes les femelles vont maximiser leur fitness en choisissant le mâle A. (b) quand les allèles A et B représentent des gènes compatibles, chaque femelle va maximiser sa fitness en s'accouplant avec un mâle différent (la femelle AB peut choisir n'importe quel mâle car, quel que soit le mâle qu'elle choisira, la moitié de ses descendants seront hétérozygotes (ligne pointillé)(Neff & Pitcher, 2005).

Le choix du partenaire pour les gènes compatibles a aussi été discuté dans le contexte de l'évitement de l'incompatibilité génétique (Zeh & Zeh, 1996), même si fondamentalement les mécanismes génétiques conduisant à la préférence de certains génotypes ou à l'évitement d'autres reviennent à rechercher un partenaire avec des gènes compatibles (Neff & Pitcher, 2005). L'évitement des accouplements consanguins (*inbreeding*), définit comme un accouplement avec un partenaire dont on partage des gènes en provenance d'un ancêtre commun, est un cas particulier de choix du partenaire pour des gènes compatibles (Tregenza & Wedell, 2000). En effet, *l'inbreeding* conduit à une plus grande proportion d'homozygotes dans la descendance et donc à une expression accrue d'allèles délétères qui est l'une des causes possibles de la dépression de consanguinité (Charlesworth & Charlesworth, 1987). La compatibilité résulterait de la balance entre *outbreeding* et *inbreeding*, c'est-à-dire d'une position d'équilibre entre la préférence pour un mâle non-apparenté issu d'une autre population et très différent génétiquement et celle pour un mâle apparenté génétiquement proche (Bateson, 1978 ; Bateson, 1993). Kokko et Ots (2006)(modèle développé pour des organismes diploïdes) prédisent qu'un taux *d'inbreeding* assez élevé peut être sélectionné même pour des coûts à la consanguinité relativement importants, car s'accoupler avec un apparenté augmente la fitness inclusive (pour des exemples voir Cohen & Dearborn, 2004 ; Schjørring & Jäger, 2007).

La reconnaissance de parentèle, c'est-à-dire la capacité à discriminer les apparentés (Sherman et al., 1997), est l'un des mécanismes évolutifs possibles pour l'évitement de *l'inbreeding* (pour une revue voir Pusey & Wolf, 1996, voir aussi discussion de l'article III). L'encart 7 présente les différentes moyens employés par les animaux pour discriminer les apparentés.

Encart 7. Les mécanismes de reconnaissance de parentèle

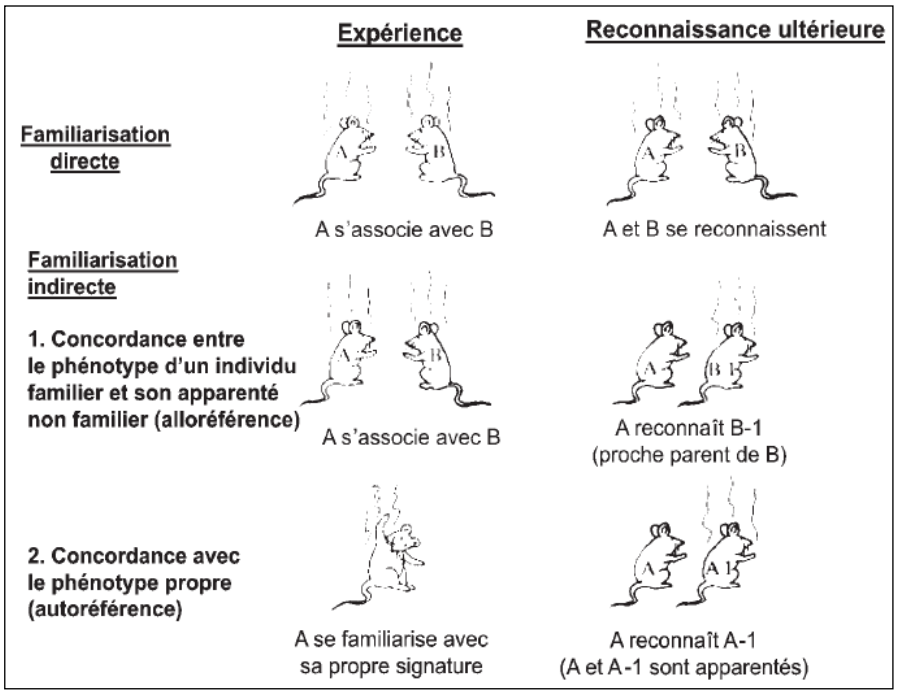
Trois composantes sont nécessaires pour former un système de reconnaissance (Holmes, 2004; Sherman et al., 1997):

- **La production**

Pour être reconnaissable comme des parents, les individus doivent être porteurs d'une signature spécifique et fiable (Waldman, 1988). Les signatures chimiques sont couramment employées et peuvent avoir une origine *environnementale* ou *endogène*, et être *produites* ou *acquises* (Sherman et al., 1997).

- **La perception**

Quelle que soit son origine, la signature perçue doit être comparée à une *« empreinte »* mentale représentant les apparentés (Holmes, 2004 ; Sherman et al., 1997 ; Waldman, 1988). La reconnaissance de parentèle fonctionne selon trois mécanismes dont les deux premiers sont représentés dans la figure ci-dessous (reprise de Ligout & Porter, 2006) :



i) **La familiarisation directe** ou mécanisme d'association préalable.

ii) **La familiarisation indirecte** ou reconnaissance de parentèle par concordance des phénotypes (Holmes & Sherman, 1982) :

1. **Alloréférence**
   Ce mécanisme, comme celui de la reconnaissance par association préalable, n'est utilisable que chez des animaux sociaux ou ayant une phase grégaire pendant leur développement (Alexander, 1990 ; Holmes, 2004 ; Mateo & Holmes, 2004).
2. **Autoréférence** ou « effet de l'aisselle » (surnommé ainsi par Dawkins, 1982**).**
   Utilisable chez des espèces où l'apprentissage des caractéristiques des apparentés n'est pas possible. Les preuves empiriques et les discussions autour

de l'existence de l'autoréférence se sont multipliées récemment (Enigl & Schausberger, 2004 ; Hauber & Sherman, 2000 ; revue par Hauber & Sherman, 2001; Ivy et al., 2005 ; Mateo & Johnston, 2000 ; Petrie et al., 1999).

iii) **Les allèles de reconnaissance** (Hamilton, 1964 ; voir aussi l'effet « barbe-verte » de Dawkins, 1976 ; Blaustein, 1983) - non représenté sur le schéma ci-dessus : l'empreinte n'est pas apprise mais innée et génétiquement liée aux gènes codant pour la production de la signature. Certains travaux expérimentaux et théoriques ont montré que ce mécanisme pouvait exister (Jansen & van Baalen, 2006 ; Keller & Ross, 1998 ; Lizé et al., 2007; Queller et al., 2003). Cependant, ce mécanisme de reconnaissance de parentèle est généralement considéré comme le mécanisme le moins parcimonieux et le plus douteux d'un point de vue théorique (Dawkins, 1982 ; Holmes & Sherman, 1983 ; Tang-Martinez, 2001).

- **L'action**

Selon le degré de concordance entre l'empreinte et la signature perçue, des règles dépendantes du contexte sont utilisées pour déterminer comment se comporter envers un apparenté (Sherman et al., 1997). Par conséquent, l'absence apparente de discrimination ne signifie pas pour autant qu'il n'y a pas eu de reconnaissance, et réciproquement, dans certains contextes la reconnaissance peut arriver sans preuve de reconnaissance directe (Tang-Martinez, 2001).

Les hyménoptères parasitoïdes ayant un déterminisme du sexe dépendant de la composition allélique à un locus du sexe (*single-locus Complementary Sex Determination*) (Cook & Crozier, 1995) représentent un bon exemple de génotypes présentant des risques d'incompatibilité génétique. En effet, nous avons vu (2.1.3, Encart 4) que ce système, en cas d'accouplement concordant entre un mâle et une femelle porteurs de la même allèle, conduit à la production de mâles diploïdes stériles lorsqu'ils sont viables (Cook & Crozier, 1995). Par conséquent, chez ces espèces, la discrimination des apparentés pourrait être un des mécanismes réduisant l'occurrence des accouplements entre frères et sœurs (voir exemple de *Bracon hebetor* p27) (van Wilgenburg et al., 2006). La reconnaissance de parentèles peut avoir lieu sur la base de la reconnaissance d'un indice environnemental comme l'hôte d'origine chez les parasitoïdes grégaires (Ode et al., 1995). Théoriquement, l'autoréférence au phénotype sur la base d'une signature endogène est un mécanisme envisageable chez les parasitoïdes solitaires, qui a été proposé chez d'autres arthropodes (e.g. le criquet *Gryllodes sigillatus* , (Ivy et al., 2005), (Enigl & Schausberger, 2004), voir discussion de l'article III).

Pour les espèces de parasitoïdes n'ayant pas ce système de déterminisme du sexe, les femelles auraient théoriquement intérêt à préférer s'accoupler avec leur frère afin d'améliorer leur fitness inclusive. Cependant, des études empiriques ont montré que les femelles *N.*

vitripennis étaient incapables de reconnaître leur frère (King, 1995, voir aussi partie 4.3.3.3, p86).

3.2.4. Choix du partenaire lorsque la qualité n'est plus un critère de préférence : biais sensoriel du receveur

La préférence des femelles pour un caractère porté par les mâles pourrait parfois être l'expression d'une capacité sensorielle sélectionnée dans un autre contexte que la sélection sexuelle (receiver bias models Endler & Basolo, 1998; Ryan, 1990). La sélection agirait sur la forme du signal émis par les mâles plus que sur son contenu. Les mâles détournant les capacités des systèmes sensoriels des femelles en arborant un caractère attractif dans un autre contexte pour les femelles seraient avantagés. Ainsi, chez la guêpe chasseuse d'abeille *Philanthus triangulum*, les femelles utilisent certains composés émis par les abeilles lors de la reconnaissance de leur proie. Herzner *et al* (2005) ont montré que la phéromone sexuelle utilisée par les mâles pour séduire les femelles a une composition chimique très proche de celle de la proie. A ma connaissance, l'évolution de la forme des signaux émis chez les mâles n'a jamais été étudiée en relation avec ces hypothèses chez les hyménoptères parasitoïdes.

3.2.5. Mécanismes d'estimation de la qualité

Jusqu'à présent, j'ai utilisé les termes de *choix* ou de *préférence* indifféremment pour désigner les biais d'accouplements existants. Pourtant, il conviendrait de les distinguer. En effet, le choix du partenaire serait le résultat de : i) la préférence, c'est-à-dire la disposition intrinsèque d'un individu à s'accoupler plus rapidement avec certains phénotypes du sexe opposé, et ii) la sélectivité, c'est-à-dire l'intensité avec laquelle un individu s'engage dans un processus d'échantillonnage avant de décider de s'accoupler (Kokko et al., 2006). D'après cette définition, il existe donc deux mécanismes principaux d'estimation de la qualité du partenaire sexuel. Le premier, dit du choix « du meilleur-parmi-*N* » (*best-of-N*), suppose un échantillonnage d'un certain nombre de mâles par les femelles avant de n'en retenir, après comparaison, que le meilleur (ou les meilleurs si elles sont polyandres). D'après Alexander et al (1997), ce mécanisme a très peu de chance d'être observé chez les insectes en raison de leur mode de vie excluant l'apprentissage au contact des adultes dans un contexte social. De plus, même pour les espèces se rassemblant pour s'accoupler, les observations n'iraient pas dans le sens de femelles visitant plusieurs mâles avant de choisir. Le second mécanisme est celui du « modèle de la préférence minimale » ou « modèle à seuil ». Les femelles ont un niveau

d'exigence particulier pour un critère comportemental ou tout autre trait, et acceptent le premier mâle qui égale ou dépasse ce critère, le seuil pouvant être fixe ou variable en fonction des conditions (pour une revue voir Jennions & Petrie, 1997).

Chez les hyménoptères parasitoïdes, le critère principal de choix d'un mâle par une femelle semble être le respect par le mâle d'une séquence de comportement propre à chaque espèce. Selon les espèces, les mâles produisent pendant la parade différents stimuli visuels (mouvements stéréotypés des antennes, de la tête ou des pattes), olfactifs (phéromones sexuelles), tactiles (contact antennaire) et vibratoires (vibration des ailes). Ces signaux sexuels induisent la réceptivité des femelles s'ils sont correctement produits, c'est-à-dire, par exemple, dans un certain ordre. Celles-ci se placent alors chez certaines espèces dans une posture caractéristique, ou restent simplement immobiles, pour signifier leur acceptation (pour une revue voir Hardy et al., 2005a). Le comportement d'accouplement des parasitoïdes a été décortiqué dans une revue récente de Hardy, Ode et Siva-Jothy (2005), complétant celle de van den Assem (1996). Cette revue détaille de nombreux exemples, c'est pourquoi je ne m'étendrai pas davantage sur ce sujet des mécanismes proximaux de la parade sexuelle.

Le principal mécanisme d'estimation de la qualité des mâles par les femelles serait donc un modèle de « préférence minimale ». Or, nous avons vu précédemment (partie 3.1) que la parade sexuelle des mâles variait d'une espèce à l'autre chez des espèces proches vivant en sympatrie et que ces différences comportementales conduisaient à la reconnaissance spécifique par les femelles. Il serait donc difficile pour le moment de faire une distinction entre les mécanismes responsables de la reconnaissance de l'espèce et ceux gouvernant l'acceptation du partenaire au sein d'une même espèce.

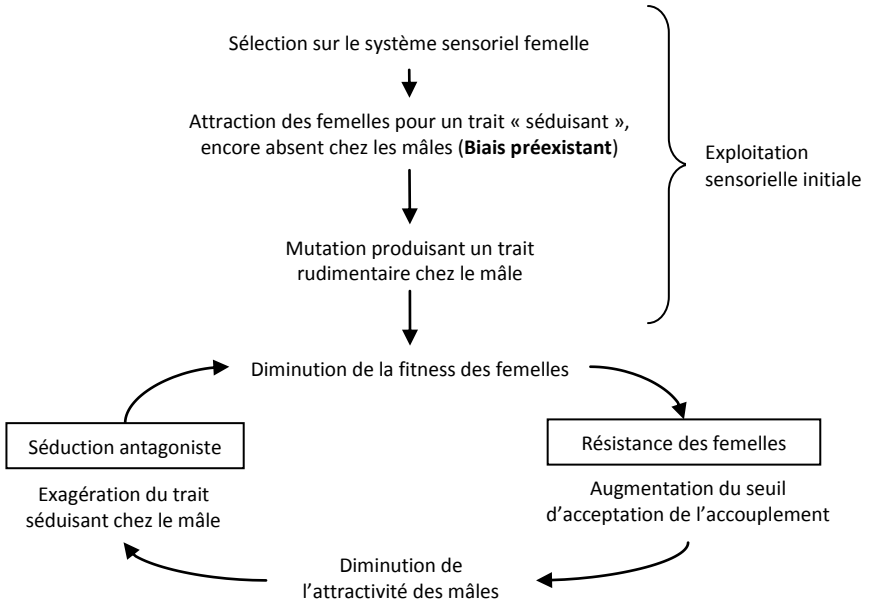
Chez *Venturia canescens*, le modèle biologique utilisé dans la thèse, il semble que, plus la parade sexuelle dure longtemps, moins les femelles acceptent l'accouplement (van Santen & Schneider, 2002). Cependant, la relation inverse entre durée de la parade et succès des accouplements est observée chez d'autres Ichneumonidae. La partie suivante traite justement de la relation entre résistance, c'est-à-dire la réticence ou le refus que les femelles peuvent exprimer face aux mâles, et choix du partenaire.

3.3. Résistance à l'accouplement : conflit sexuel ou estimation de la qualité des mâles ?

D'après Parker (1979), l'intérêt des mâles diverge souvent de celui des femelles en ce qui concerne les décisions liées à la reproduction. Ainsi, le nombre optimal d'accouplements pour les mâles est presque toujours supérieur à celui attendu pour les femelles (Arnqvist et Nilsson 2000) : les mâles cherchent à obtenir le plus de partenaires possibles, les femelles se montrent sélectives et résistent aux mâles qui ne leur conviennent pas. Alors que la théorie classique de la sélection sexuelle pour des bénéfices directes propose que la préférence des femelles aillent aux mâles qui leur font subir le moins de coûts, la théorie des conflits sexuels propose qu'un certain nombre de traits portés par les mâles et préférés par les femelles ont pu évoluer en étant coûteux pour les femelles (voir Arnqvist & Rowe, 2005 ; Chapman et al., 2003 ; Parker, 2006 ; Tregenza et al., 2006)(Encart 8).

Encart 8. Modèle de sélection sexuelle antagoniste

Les préférences des femelles pour certains traits mâles peuvent être à l'origine de simples « biais » sensoriels. Ces biais proviennent de la sélection sur le système sensoriel des femelles dans d'autres contextes, comme la recherche de nourriture (voir aussi partie 3.2.4). En raison de ces biais préexistants, « choisir » pourrait s'avérer impossible pour les femelles. Par conséquent, les femelles subissent des accouplements suboptimaux réduisant leur valeur sélective pour diverses raisons : trop fréquents, ayant lieu au mauvais endroit, coûteux énergétiquement ou du point de vue immunitaire, risqués du point de vue prédation, ou encore avec un mâle de mauvaise qualité pour d'autres caractères (Arnqvist & Rowe, 2005). Le modèle verbal de Holland et Rice (1998, figure ci-dessous) prédit que le seuil d'acceptation de l'accouplement des femelles, c'est-à-dire le degré de résistance des femelles aux traits séduisants des mâles, devrait augmenter en réponse aux coûts directs imposés par les mâles. La résistance des femelles augmenterait la pression de sélection sur les mâles, conduisant à la persistance du trait chez ces mâles. Selon cette vision, les mâles manipuleraient la préférence des femelles à leur avantage (voir aussi Gavrilets et al., 2001).



Cordoba-Aguilar et al. 2003 (2003) remettent en cause l'idée que la résistance des femelles aux mâles se fasse exclusivement à leur détriment. Ils l'interprètent comme une forme de sélectivité envers les mâles, c'est-à-dire comme un mécanisme de choix où l'information sur la qualité des mâles ne peut être acquise qu'en subissant les coûts.

Un exemple chez les hyménoptères parasitoïdes semble corroborer cette hypothèse de la résistance comme un moyen d'estimer la qualité des mâles. Chez les hyménoptères parasitoïdes ichneumons (Ichneumoninae), la phase pré-copulatoire est caractérisée par une lutte physique systématique entre des mâles qui essayent d'agripper les femelles et des femelles qui essayent de se dégager en bougeant, en frappant les mâles avec leur pattes et en les mordants avec leur mandibules (Teder, 2005). Chez ces espèces, les femelles cèdent d'autant plus facilement aux mâles qu'ils sont grands. De plus, sur deux espèces parmi les quatre testées, la durée des tentatives d'accouplements est plus importante pour les mâles accédant aux accouplements (Figure 16), ce qui indique que les mâles les plus persévérants outrepassent la résistance des femelles et accèdent aux accouplements (Teder, 2005). Malgré cette lutte, l'accouplement est sous le contrôle des femelles, comme le prouve le fait qu'une fois accouplées elles refusent toute tentative d'accouplement supplémentaire. A la vue de ces résultats, il apparaît comme première interprétation que la résistance des femelles aux mâles pourrait être un moyen pour les femelles d'estimer la qualité des mâles. Cependant, un autre résultat s'oppose à cette interprétation : la durée des tentatives de montes (mesurant la persévérance des mâles) n'est pas corrélée à la taille des mâles. La persévérance des mâles ne peut donc pas représenter une information fiable pour les femelles sur la taille des mâles. Une autre piste reste cependant à explorer. En effet, l'âge des mâles a un effet négatif sur leur taux de succès en condition de privation de nourriture, ce qui suggère que les mâles en bonne condition physique accèderaient davantage aux accouplements (Teder, 2005). Le test de l'effet de l'interaction entre la persévérance des mâles et l'âge sur la proportion d'accouplement n'a pas été réalisé, ce qui ne permet pas d'aller plus loin dans l'interprétation des résultats.

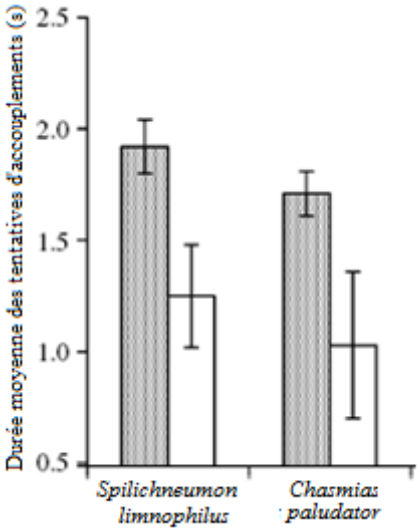


Figure 16. Logarithme de la durée moyenne des tentatives de monte des mâles accédant à l'accouplement (barre grise) et de ceux qui ni accèdent pas (barre blanche) ± ES chez deux espèces d'Ichneumoninae (modifié d'après Teder, 2005).

4. MANIPULATION DE LA SEX-RATIO EN REPONSE AUX CONSPECIFIQUES CHEZ LES HYMENOPTERES PARASITOÏDES

Pour se reproduire, les femelles recherchent des hôtes favorables dans lesquels pondre. Une fois un îlot d'hôtes localisé, si elles sont accouplées et que leur réserves de spermatozoïdes sont suffisantes, elles ont le choix, au moment de la ponte, de produire des fils et des filles en proportion variable (sex-ratio primaire). La manipulation de la sex-ratio de la descendance a lieu simplement en contrôlant l'ouverture de la spermathèque. Les œufs non fécondés donnent des mâles et les œufs fécondés des femelles (voir aussi Encart 1, p 4). Or face à la variabilité environnementale, le contrôle de la sex-ratio constitue un avantage adaptatif (King, 1987), à condition d'être capable d'intégrer les informations en provenance de l'environnement et de produire une réponse comportementale en adéquation avec les variables environnementales estimées. Chez les hyménoptères parasitoïdes, les études empiriques ont montré que la sex-ratio peut être influencée par les traits d'histoire de vie de la mère (âge, taille, nombre d'œufs, état nutritionnel), son expérience (temps depuis insémination), des facteurs génétiques, les caractéristiques de l'hôte (espèce, taille, âge, sexe ou état parasitaire), la sex-ratio de la population adulte, et les changements saisonniers de température, de photopériode et d'humidité (pour une revue voir King 1987 ; Godfray 1994). Parmi l'ensemble de ses facteurs, je me suis plus particulièrement intéressée à l'influence sur la sex-ratio des interactions directes ou indirectes avec les conspécifiques adultes femelles et mâles.

Nous allons d'abord voir comment les mâles peuvent influencer l'allocation aux sexes de leur partenaire sexuel. La deuxième partie de ce chapitre présente les modèles théoriques d'évolution de la sex-ratio impliquant les conspécifiques. La troisième partie de ce chapitre est consacrée à une revue des études empiriques ayant testé les prédictions de ces modèles. Les mécanismes comportementaux utilisés par les femelles pour ajuster leur réponse sont aussi abordés dans cette troisième partie.

4.1. Rôles des sexes dans le contrôle de l'allocation des sexes

A l'exclusion des études sur les éléments génétiques et les endosymbiontes modifiant la sex-ratio (pour une revue, Stouthamer et al., 2002), les études existantes sur l'allocation aux sexes chez les parasitoïdes ont admis que la sex-ratio de leur descendance est entièrement sous le contrôle des femelles grâce à un mécanisme simple, celui de la fertilisation des œufs (Shuker et al., 2006). Or, les mâles pourraient avoir un intérêt évolutif à influencer la sex-ratio

de la descendance des femelles avec lesquelles ils s'accouplent car ils ne transmettent leurs gènes qu'aux filles et ceci en raison de l'haplo-diploïdie.

Un premier effet possible des mâles sur la sex-ratio est a priori défavorable pour les deux sexes, puisqu'il s'agit de contraindre les femelles à produire d'avantage de fils en leur allouant peu de spermatozoïdes. Ainsi, chez *Trichogramma evanescens*, la quantité de spermatozoïdes alloués à chacune des femelles par les mâles diminue progressivement jusqu'à être nulle quand le nombre de femelles accouplées augmente et que le stock de spermatozoïdes des mâles diminue (Damiens & Boivin, 2005). En raison de l'épuisement progressif des réserves de spermatozoïdes avec l'âge, la sex-ratio produite par les femelles peut devenir biaisée en faveur des mâles (Cheng et al., 2004 ; Chevrier & Bressac, 2002 ; King, 1987). Par conséquent, si la quantité de spermatozoïdes transférés par les mâles est insuffisante, elles seront plus rapidement contraintes à ne produire que des mâles. Ce comportement n'est pas avantageux pour les femelles si elles ne peuvent pas s'accoupler à nouveau. Sauf si la compétition pour l'accès aux femelles est nulle, il n'est pas non plus avantageux pour les mâles d'allouer des quantités insuffisantes de spermatozoïdes à leur partenaire car ils doivent théoriquement maximiser le nombre de descendants filles par accouplement. Les mâles pourraient tout de même trouver un intérêt à s'accoupler alors qu'ils ont épuisé leurs réserves spermatiques. En effet, chez les espèces monoandres, les femelles n'acceptent pas de nouvel accouplement, même si le premier a été interrompu, ou qu'aucun spermatozoïde n'a été transféré (Hardy et al., 2005a). D'après Damiens et Boivin (2006), pour un mâle ayant épuisé ses réserves de sperme, la stratégie consistant à poursuivre les accouplements serait avantageuse car elle augmenterait sa valeur sélective relativement aux autres mâles de la population en diminuant le nombre de femelles disponibles.

Le deuxième type d'influence possible des mâles sur l'allocation aux sexes des femelles est positif pour les mâles puisqu'il s'agirait de leur faire produire davantage de filles (voir la partie suivante). A ma connaissance, deux études seulement ont cherché à mesurer ce type d'influence des mâles à l'allocation aux sexes (Henter, 2004 ; Shuker et al., 2006). Chez *Uscana semifumipennis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), le mâle avec lequel une femelle s'accouple peut influencer sa sex-ratio (Henter, 2004). Ce résultat s'observe quel que soit le nombre de descendants produits et ne pourrait donc pas s'expliquer uniquement par une quantité insuffisante de spermatozoïdes transmise par les mâles. Ayant exclu les causes habituelles de distorsion de la sex-ratio, Henter (2004) propose que la qualité du sperme des mâles pourrait être variable et que, d'une manière ou d'une autre, les produits accessoires de

l'éjaculat contenu dans le fluide séminal influenceraient la décision de fertilisation des œufs (pour une revue voir Poiani, 2006). Afin d'expliquer une partie de la variabilité existante entre les valeurs de sex-ratio observées et celles attendues selon le modèle théorique d'évolution de la sex-ratio de compétition locale pour l'accouplement (Orzack, 1986 ; 1993 ; 2002)(voir partie suivante pour une description de ce modèle, Hamilton, 1967). Shuker et al. (2006) ont mesuré la contribution éventuelle des mâles aux variations de la sex-ratio. En utilisant *N. vitripennis*, ils ont examiné la sex-ratio de la descendance de mâles issus de souches différentes et croisé chacun avec plusieurs femelles toutes originaires de la même souche. Cependant, leurs résultats ne montrent pas d'influence importante des mâles sur la sex-ratio.

Dans la suite de cette synthèse bibliographique, l'influence des mâles sur la sex-ratio de la descendance des femelles ne sera abordée que du point de vue de l'information que les interactions avec les mâles fournissent aux femelles.

4.2. Modèles théoriques d'évolution de la sex-ratio impliquant les conspécifiques

> " I formerly thought that when a tendency to produce the two sexes in equal numbers was advantageous to the species, it would follow from natural selection, but I now see that the whole problem is so intricate that it is safer to leave its solution for the future. " (Darwin, 1882, p259)

En 1930, Fisher apporta la réponse aux interrogations de Darwin et expliqua pourquoi la proportion de femelles est généralement égale à la proportion de mâles chez la plupart des espèces. En raisonnant de façon comptable, il peut effectivement paraître plus avantageux du point de vue « de l'espèce » de produire davantage de filles que de fils, ceux-ci ayant chacun à disposition d'avantage de gamètes (voir Seger & Stubblefield, 2002, pour une revue complète de l'évolution de la pensée de Darwin sur le problème de la sex-ratio et la question de la sélection de groupe). Or, si les femelles sont plus nombreuses que les mâles dans une population, elles ont chacune moins d'opportunités de se reproduire et moins de descendants que les mâles. Les parents produisant plus de mâles auront donc plus de petits enfants que les autres. La stratégie la plus avantageuse consiste donc à allouer d'avantage de ressources pour produire des mâles, c'est-à-dire à biaiser sa sex-ratio en faveur du sexe rare. Cette stratégie d'allocation aux sexes est transmise à la descendance, ce qui, immanquablement, conduit à ce que davantage de mâles que de femelles soient produits. Comme le raisonnement appliqué

précédemment est valable aussi si la proportion de mâles dans la population est plus importante que la proportion de femelles, une sélection fréquence-dépendance conduit à maintenir la sex-ratio de la population à une valeur d'équilibre égale à 0,5.

Cependant, deux conditions sont nécessaires pour que la valeur de 0,5 soit une stratégie évolutivement stable. D'abord, il est nécessaire que la production d'un fils ne soit pas plus coûteuse que celle d'une fille, c'est-à-dire qu'il faut que les deux sexes bénéficient autant d'une augmentation de l'investissement parental (Charnov, 1982). Ensuite, les accouplements doivent avoir lieu au hasard dans l'ensemble de la population (population panmictique) (Hamilton, 1967). Les principaux modèles d'évolution de la sex-ratio expliquant les manipulations de la sex-ratio chez les parasitoïdes ont été développés à partir de la relaxe de l'une de ces deux hypothèses. La première catégorie de modèles englobe les modèles qui prennent en compte les effets de la structure spatiale de la population sur la sex-ratio individuelle. Ce sont les modèles de compétition locale pour l'accouplement (Local Mate Competition, LMC Hamilton, 1967), dans lesquels les conspécifiques femelles, à travers le paramètre *n*, le nombre de fondatrices, influencent la sex-ratio déposée par les femelles dans l'hôte (sex-ratio primaire). La deuxième catégorie de modèles s'intéresse aux effets de la qualité de l'hôte sur cette sex-ratio, lorsque le succès reproducteur des fils ou des filles n'est pas affecté de la même manière par la qualité de l'hôte (Charnov, 1982), définie par la taille ou le fait d'être déjà parasité. Après avoir présenté ces deux grandes catégories de modèles, je présenterai un troisième modèle dans lequel la sex-ratio des femelles accouplées et physiologiquement aptes à produire à la fois des fils et des filles, est influencée par la capacité des autres femelles à féconder leurs œufs, et donc à produire des femelles (Godfray, 1990).

4.2.1. Compétition locale pour les partenaires

Constatant que chez certaines espèces animales la sex-ratio était très biaisée en faveur des filles, Hamilton (1967) proposa d'expliquer cette déviation par rapport à l'équilibre de Fisher (1930), par la structure particulière des populations. Lorsque les accouplements n'ont lieu qu'entre les descendants d'un nombre limité de femelles (appelées fondatrices), et que seules les filles dispersent une fois accouplées, la sex-ratio attendue est biaisée en faveur des filles. En effet, en produisant plus de filles que de fils, une mère réduit la compétition pour l'accouplement entre ses fils (entre frères) et augmente le nombre de filles avec lesquelles peuvent s'accoupler ses fils (Nunney & Luck, 1988). Hamilton (1967) montre que la sex-ratio

optimale ne dépend que du nombre de fondatrices, c'est à dire du nombre de conspécifiques qui pondent sur le site (Figure 17, Encart 5).

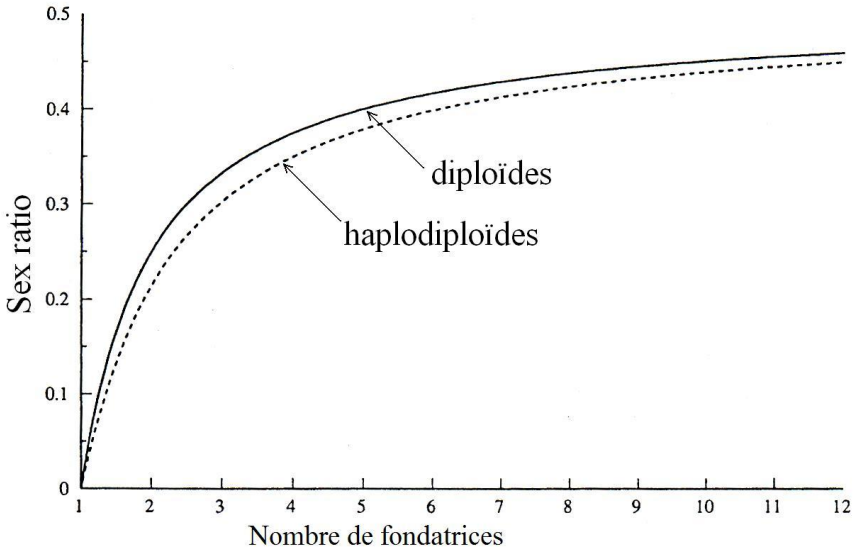


Figure 17. Evolution de la sex-ratio optimale en fonction de *n*, nombre de femelles (fondatrices) qui colonisent un patch, selon les prédictions des modèles d'Hamilton (1967, 1979) pour les espèces à reproduction diploïdes et haplodiploïdes.

Encart 5: Le modèle séminal de « *Local Mate Competition* »

Le modèle de compétition locale pour l'accouplement repose sur les hypothèses suivantes. La ressource utilisable par les individus, c'est-à-dire les hôtes dans le cas des parasitoïdes, est distribuée de manière agrégée dans l'environnement, dans des patchs de qualité équivalente, chacun étant colonisé par un nombre constant de n femelles. Ces femelles, appelées fondatrices, sont toutes accouplées et pondent chacune le même nombre d'œufs sur ce patch. Après la ponte, elles meurent et on n'observe pas de chevauchement des générations. Les descendants des fondatrices s'accouplent entre eux au hasard sur leur patch d'émergence, et seules les femelles accouplées dispersent au hasard pour coloniser d'autres patchs (et le cycle recommence). Dans ces conditions, la sex-ratio optimale dépend exclusivement du nombre de femelles conspécifiques sur le patch (Hamilton 1967). D'un point de vue formel, la sex-ratio optimale s'obtient par le raisonnement suivant (d'après Bulmer, 1994). La fitness d'une femelle est estimée par : *Fitness = nombre de filles produites + nombre de femelles du groupe inséminées par ses fils* **(1)**.

Deux types de femelles coexistent dans la population. Les femelles de type sauvage, très majoritaires, produisent chacune F femelles et M mâles et ont donc une sex-ratio $r = M/(M+F)$. Les femelles du type mutant produisent une sex-ratio $s = m / (m+f)$. Sur un patch de n-1 femelles sauvages, la fitness d'un mutant vaut $f + \left[\frac{(n-1)F + f}{(n-1)M + m}\right]m$. Le terme entre crochet est le nombre de femelles disponibles pour l'accouplement dans chaque groupe local d'accouplement. La fréquence des mutants est supposée suffisamment faible dans la population pour être négligeable, ce qui conduit à estimer la fitness d'un sauvage par $F + (F/M) \times M$. La fitness relative des mutants par rapport aux sauvages se déduit alors en faisant le rapport de ces deux fitness et en remplaçant F, f, M et m par leur expression en fonction de r et s

$$w(s,r) = \frac{fitness_{\text{mutant}}}{fitness_{sauvage}} = \left\{(1-s) + \frac{[(n-1)(1-r)+(1-s)]s}{(n-1)r+s}\right\} / 2(1-r) \quad (1)$$

Chercher la sex-ratio r = r*, c'est-à-dire la stratégie qui, lorsqu'elle est adoptée par l'ensemble de la population, rend son invasion par un mutant (porteur d'une autre stratégie) impossible, revient à dire que la meilleure réponse pour le mutant est de jouer $s = r^*$. On cherche r^* vérifiant la relation suivante : $\delta w / \delta s|_{s=r=r^*} = 0 \Leftrightarrow r^* = \frac{n-1}{2n} = \frac{1}{2} - \frac{1}{2n}$ (2). Dans cette expression, la sex-ratio optimale ne dépend que du nombre de fondatrices.

Cette expression analytique n'est valable que pour les organismes diploïdes. En effet, la division de la population en groupes restreints d'accouplement qui est proposée par Hamilton (1967) conduit nécessairement à une augmentation de la consanguinité en raison de la fréquence importante des accouplements entre frères et sœurs. Chez les organismes à reproduction haplodiploïde, le lien de parenté entre une mère et ses fils reste inchangé en cas de consanguinité mais augmente entre une mère et ses filles, ce qui rend les filles meilleures que les fils pour transmettre les gènes de leur mère. Cette asymétrie dans la relation affecte la sex-ratio optimale, qui se trouve d'avantage biaisée en faveur des femelles et ne dépend encore que du nombre de conspécifiques présent sur le patch (Fig. 1) : $r^* = \frac{(n-1)(2n-1)}{n(4n-1)}$ (3) (Hamilton, 1979).

Dans le deuxième chapitre de cette synthèse bibliographique, nous avons vu que les systèmes d'appariement situés entre, à un extrême la panmixie et à l'autre une LMC stricte, ne sont pas rares chez les hyménoptères parasitoïdes (voir aussi Hardy, 1994). Nunney et Luck (1988) ont donc proposé de construire un nouveau modèle remettant en cause l'hypothèse de non dispersion des mâles hors de l'îlot de naissance. Ils montrent que, lorsque le taux moyen d'émigration hors du patch augmente, la sex-ratio optimale est moins biaisée en faveur des fils, car la compétition entre les frères diminue.

Une autre hypothèse du modèle originel dont le réalisme biologique est contestable, est que le nombre de fondatrices demeure constant dans le temps et l'espace. Dans la nature, la taille des groupes de fondatrices varie probablement d'un patch à l'autre. L'expression de r^* dans le modèle de LMC reste cependant valide sous certaines conditions. Ainsi, lors d'une utilisation simultanée du patch par les fondatrices, si les femelles sont capables d'évaluer précisément le nombre de fondatrices du groupe auquel elles appartiennent, alors elles doivent faire varier leur sex-ratio comme prédit dans l'équation (3) (Luck et al., 1993). En revanche, lorsque la colonisation du patch est séquentielle, les femelles sont probablement incapables d'estimer le nombre final de fondatrices. A condition que le coefficient de consanguinité, qui dépend de n (Frank, 1985), ne soit pas modifié et que les émergences restent synchrones, Nunney et Luck (1988) ont montré que la meilleure stratégie qu'une femelle puisse adopter

lorsque les variations de la taille du groupe sont stochastiques et non prévisibles, est d'ajuster une sex-ratio « hamiltonienne » en fonction du nombre moyen de fondatrices par patch.

Werren (1980) construit un modèle de LMC plus spécifique s'appliquant au superparasitisme qui suppose que la rencontre avec un hôte parasité est perçue comme l'indice d'une utilisation antérieure du patch par une conspécifique. Il considère le cas de deux femelles de parasitoïdes grégaires qui parasitent successivement un même hôte Il suppose aussi que les pontes des deux femelles peuvent être variables en taille. Sous l'hypothèse que les adultes issus des deux pontes émergent de façon synchrone, la fitness de la deuxième femelle, et donc sa sex-ratio optimale qui en est déduite (r_2), dépendent de T la taille relative des deux pontes, et de r_1, la proportion de fils pondu par la première femelles (Figure 18). Dans le même article, Werren (1980) effectue le premier test quantitatif de son modèle en utilisant *N. vitripennis*, un parasitoïde grégaire de pupes de diptère. Il peut distinguer la descendance de la première et de la deuxième femelle car elles proviennent de deux souches qui diffèrent par la couleur de leurs yeux. Lorsque la taille relative de la deuxième ponte diminue, la sex-ratio à l'émergence devient d'avantage biaisée en faveur des filles (Figure 19).

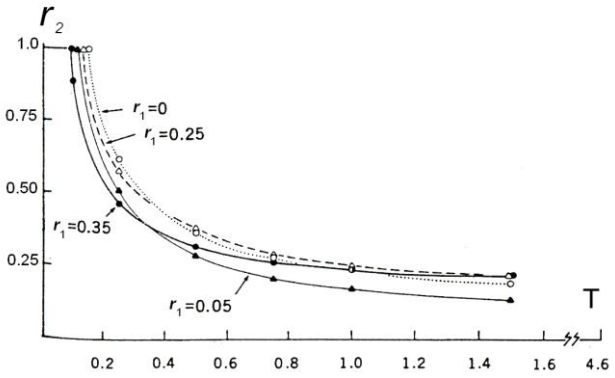


Figure 18. La sex-ratio prédite pour la 2ème femelle de parasitoïde grégaire qui parasite un hôte est une fonction de la taille relative des deux pontes (T) et de la sex-ratio produite par la 1ère femelle (r1).

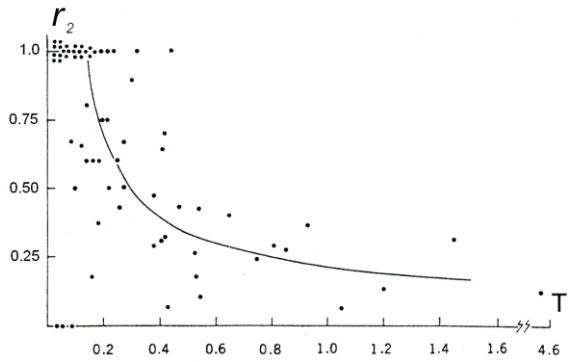


Figure 19. Chaque point représente la proportion de fils observée pour la deuxième femelle (r_2), lorsque deux femelles de *Nasonia vitripennis* pondent successivement dans un même hôte. La courbe correspond aux valeurs prédites de (r_2) quand r_1= 0,087.

4.2.2. Le modèle de qualité de l'hôte et l'argument de surpopulation larvaire

Le modèle de qualité de l'hôte a été construit afin d'expliquer les manipulations de la sex-ratio en fonction de la qualité de l'hôte (Charnov, 1982). Bien que ce modèle n'ait pas directement de rapport avec les conspécifiques, il doit être considéré lors des études de la sex-ratio en condition de superparasitisme. Sous l'hypothèse que le succès reproducteur d'un des deux sexes, par exemple les femelles, est davantage affecté par la qualité de l'hôte Charnov (1982) prédit qu'une mère devrait allouer les hôtes de meilleures qualités aux filles. Le retour sur investissement pour la mère est alors plus important. Parmi les facteurs qui modifient la qualité des hôtes, le cas le plus étudié, et qui a directement influencé le développement du modèle, est celui de l'effet de la taille de l'hôte chez les parasitoïdes solitaires : si la taille de l'adulte est positivement corrélée à la taille de l'hôte, et que le succès reproducteur relatif des femelles est supérieur à celui des mâles pour une taille donnée, les femelles doivent pondre une plus grande proportion de mâles dans les petits hôtes.

Ce modèle représente une explication alternative au modèle de LMC de Werren (1980) pour expliquer la réduction du nombre de filles par hôte lors du superparasitisme chez les parasitoïdes grégaires (Waage, 1982). Il est désigné par King (1996, 2002) sous le terme de *Crowding Model* (Modèle de surpopulation larvaire) sans avoir été formalisé. Un hôte déjà parasité représente pour une mère une ressource de moins bonne qualité, car l'augmentation du nombre d'œufs par hôte entraîne une diminution de la quantité de ressource disponible pour chacun des descendants. Si le succès reproducteur à l'âge adulte des femelles est plus affecté que celui des mâles par la réduction des ressources pendant le développement larvaire, alors les mères devraient être sélectionnées pour allouer d'avantage de mâles aux hôtes déjà parasités (Waage, 1982). Selon cet argument, un hôte parasité n'est pas perçu comme un indice de la présence d'une conspécifique, comme dans le modèle de Werren (1980), mais renseigne la femelle sur la qualité de l'hôte.

4.2.3. Modèle des femelles contraintes

Alors que, dans la théorie de la LMC, les conspécifiques influencent la sex-ratio soit directement à travers le nombre de fondatrices, soit indirectement via le superparasitisme, Godfray (1990) propose un modèle dans lequel les conspécifiques interviennent d'une autre manière. Ce modèle prédit que, dans une population panmictique où, selon Fisher (1930), la sex-ratio d'ensemble doit être égale à 0,5, la sex-ratio produite par des femelles aptes à produire à la fois des fils et des filles dépend de la proportion de femelles conspécifiques qui

ne produisent que des fils (Godfray, 1990). L'existence de ces femelles dites contraintes est rendue possible par le système de reproduction haplodiploïde. Lorsque certaines femelles sont contraintes, celles qui ne le sont pas sont sélectionnées par un mécanisme fréquence-dépendance pour produire une sex-ratio biaisée en faveur des filles de manière à ramener la population à l'équilibre « fisherien ». Si la proportion de femelles contraintes dépasse 0.5, les femelles non contraintes ne peuvent plus compenser la surproduction de mâles qui en résulte et alors la sex-ratio de la population est supérieure à 0,5.

Je considèrerai dans la suite de ce chapitre que les femelles contraintes sont des femelles vierges, mais un épuisement des réserves spermatiques ou des accouplements avec un mâle stérile (pseudo-virginité des femelles) peuvent aussi être responsables d'une partie des pontes contraintes (Godfray, 1990).

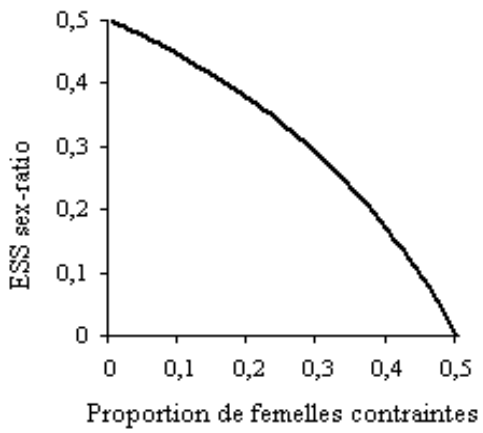


Figure 20. La Sex-ratio ESS pour les femelles non contraintes dans une population panmictique est une fonction de la proportion de femelles contraintes

Dans le modèle de Godfray (1990), les femelles contraintes produisent autant de descendants que les femelles non contraintes. Si p est la proportion de femelles contraintes dans la population, et r la sex-ratio produite par les femelles non contraintes, la proportion de filles produite à la génération suivante est $(1-r)(1-p)$, et la proportion de fils $p+r(1-p)$. Le nombre moyen d'accouplement par fils s'exprime par le rapport de ces deux proportions. Dans une population panmictique à l'équilibre, chaque fils s'accouple en moyenne avec une seule femelle, donc ce rapport vaut 1. Pour p fixé, la sex-ratio à l'ESS des femelles non contraintes est : $r^* = \frac{1-2p}{2(1-p)}$ (Figure 20).

La sex-ratio optimale ne dépend donc que de la proportion de femelles contraintes dans la population. Si cette proportion varie d'une génération à l'autre, la capacité à l'évaluer représenterait un avantage adaptatif. Nous verrons par la suite que les femelles non contraintes peuvent modifier leur sex-ratio en réponse aux interactions avec les mâles et les femelles.

4.2.4. Résumé des prédictions théoriques des modèles d'évolution de la sex–ratio

Les modèles d'évolution de la sex-ratio que nous venons de voir prédisent la réponse optimale dans des conditions données de compétition locale pour les accouplements, ou pour un taux de femelles contraintes dans la population. Compte tenu d'une part de la variabilité environnementale et d'autre part du mécanisme de contrôle de la sex-ratio offert par l'haplodiploidie, les femelles qui seraient capables de modifier la sex-ratio de leur descendance en fonction des conditions qu'elles rencontrent localement devraient être avantagées. Dans la suite de ce chapitre, nous allons voir quelles sont les informations fournies par les interactions avec les conspécifiques et par quels mécanismes elles peuvent intégrer ces informations.

Le Tableau 5 résume les prédictions qualitatives des différents modèles d'évolution de la sex-ratio lorsque des femelles sont confrontées à des conspécifiques mâles et femelles (vierges ou accouplées). Ces prédictions appellent des tests expérimentaux. Mais, avant ces test, la validation des hypothèses initiales des modèles, notamment concernant le système d'appariement, est en principe indispensable quel que soit le type du modèle (Parker & Maynard Smith, 1990). Nous considérons que les tests expérimentaux valident les prédictions quand elles s'ajustent qualitativement aux données. Ce point de vue prête à discussion car certains auteurs considèrent que l'observation d'une réponse qualitativement conforme aux prédictions ne suffit pas à valider un modèle d'optimisation (Orzack, 2002). Ce débat dépasse le sujet de cette thèse car il n'est pas spécifique au modèle d'évolution de la sex-ratio, et se pose pour tous les modèles d'optimalité (voir la discussion générale de cette thèse).

Tableau 5. Prédictions qualitatives des différents modèles d'évolution de la sex-ratio en réponse à la présence de conspécifiques mâles et femelles et de femelles confamiliales. Le tableau indique si la proportion de fils produite par une femelle en présence d'autres individus conspécifiques ou confamiliaux est supérieure (>) inférieure (<) ou égale (=) à celle produite par une femelle quand elle est seule à exploiter un patch (d'après King, 1996).

	Conspécifiques :		Confamiliales :
Modèles :	Femelles	Mâles	Femelles
Compétition locale pour l'accouplement	>	=	=
Surpopulation larvaire (Modèle de Qualité de l'Hôte)	>	=	>
Femelles contraintes	< ou =	>	=

4.3. Informations et manipulations de la sex-ratio en réponse aux conspécifiques

4.3.1. Effet de la présence d'autres femelles avant et/ou pendant la ponte sur la sex-ratio

4.3.1.1. Effet du nombre de fondatrices (modèle de LMC)

Dans cette partie, nous nous intéresserons aux mécanismes par lesquels les femelles estiment et répondent de manière adaptée au nombre de fondatrices, qui est le paramètre *n* du modèle de LMC (Hamilton, 1967). Les espèces concernées sont donc celles pour lesquelles la plupart des accouplements ont lieu de façon locale.

Effet du ratio « nombre d'hôtes sur nombre de fondatrices par patch »

L'augmentation de la sex-ratio avec le nombre de femelle exploitant simultanément un patch est conforme aux prédictions de la théorie de la LMC d'Hamilton (1967). Lorsque cette augmentation s'observe alors que le patch est de taille constante, elle peut s'expliquer par la diminution du nombre d'hôtes disponibles par femelle (Waage, 1982 ; Waage & Lane, 1984). En effet, chez certaines espèces la séquence d'allocation des sexes sur un patch d'hôte est fixée, et les œufs mâles sont pondus en début de séquence (Rabinovitch et al., 2000 ; Strand, 1988 ; Suzuki et al., 1984 ; van Welzen & Waage, 1987 ; Waage, 1982; Waage & Lane, 1984). Si les femelles ont tendance à éviter le superparasitisme, la réduction du nombre d'hôtes disponibles par femelle, et donc du nombre d'œufs pondus, provoquent une augmentation « mécanique » de la proportion d'œufs mâles pondus. Ce mécanisme a été montré chez plusieurs espèces des genres *Telenomus* et *Trichogramma*, parasitoïdes grégaires ou quasi-grégaires d'œufs de papillons (Strand, 1988 ; van Welzen & Waage, 1987 ; Waage & Lane, 1984). Pour montrer que la réduction de la séquence de ponte et donc du ratio (nombre d'hôtes/nombre de femelles) provoque une augmentation de la sex-ratio, les auteurs ont manipulé ce ratio. La première façon de diminuer ce ratio consiste à augmenter le nombre de femelles par patch, tout en gardant le nombre d'hôtes constant. Tandis que le nombre de descendants moyen par femelle diminue, la sex-ratio moyenne augmente significativement (Figure 22). Le ratio (nombre d'hôtes/nombre de femelles) peut aussi être diminué en utilisant un nombre constant de femelles (n=1 par exemple, ce qui empêche toute interaction agonistique entre les femelles) et en diminuant le nombre d'hôtes disponibles (Figure 21). Les femelles qui sont utilisées dans ces expériences sont accouplées une fois, et n'ont jamais eu de contact avec des conspécifiques femelles. Parallèlement, la séquence d'allocation des sexes

est examinée pour vérifier que la probabilité de pondre un mâle est plus élevée au début de la séquence de ponte et que cette probabilité ne dépend pas de la présence d'autres femelles.

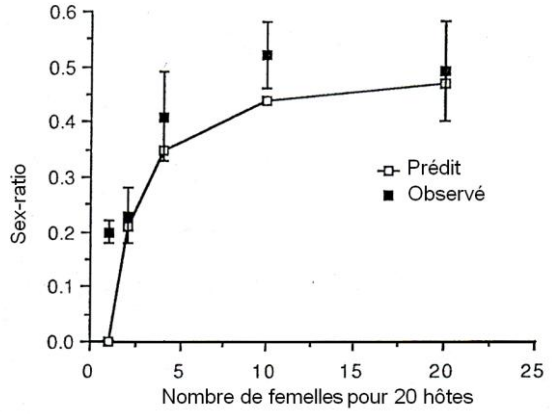


Figure 22. Sex-ratio moyenne (carré noir avec IC à 95%) produit à partir de patches de 20 hôtes attaqués par 1, 2, 4, 10 et 20 femelles de *Telenomus heliothidis,* les carrés ouverts représentent les prédictions du modèle d'Hamilton (1979) (d'après Strand 1988).

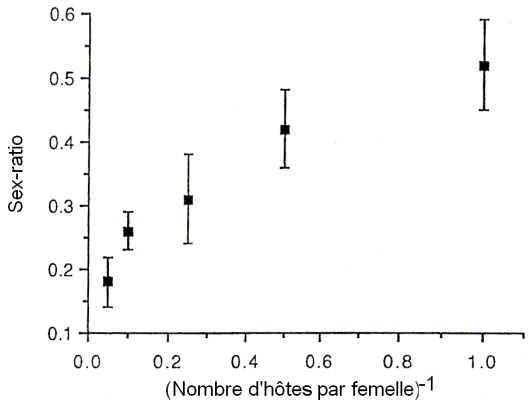


Figure 21. Sex-ratio moyenne (avec IC à 95%) produit par des femelles seules de *T. heliothidis,* exposées à 20, 10, 4, 2 et 1 hôte. Les données sont représentées selon l'inverse du ratio « nombre d'hôtes par parasitoïde » (d'après Strand 1988).

La sex-ratio observée dans les expériences décrites précédemment est la proportion de mâles à l'émergence ou sex-ratio secondaire. L'augmentation observée pourrait donc aussi bien s'expliquer par une augmentation de la mortalité des femelles suite à des évènements de superparasitisme. En effet, dans les expériences de Waage et Lane (1984), la compétition entre femelles pour les hôtes est très forte (1 seul hôte pour plusieurs femelles) et elles n'ont pas la possibilité de quitter le patch. Pour s'affranchir de ce biais, la ponte peut être surveillée par l'expérimentateur et les femelles retirées du patch dès que tous les hôtes ont été parasités une fois (van Welzen et Waage 1987, Strand 1988).

Pour ces espèces ayant une séquence de ponte fixée, le mécanisme proximal permettant d'augmenter la proportion d'œufs mâles pondus sur le patch lorsque le niveau de LMC diminue semble donc lié au nombre d'hôtes disponibles par femelle et d'œufs pondus. Cependant, ce mécanisme ne peut être général : comment pourrait-il, par exemple, conduire à une augmentation de sex-ratio avec *n*, si le nombre d'hôtes par patch n'est pas limitant. De plus, même dans les études où le raccourcissement de la séquence de ponte existe, ce mécanisme n'explique pas toujours l'intégralité de l'augmentation de la sex-ratio primaire avec le nombre de fondatrices. Ainsi, van Welzen et Waage (1987) ont montré chez *Telenomus remus,* par un modèle statistique prenant en compte d'autres facteurs pour expliquer la variabilité de la sex-ratio, qu'une partie du changement de la sex-ratio est

indépendante de la séquence de ponte et ne s'explique que par une manipulation directe de la proportion de mâles en réponse à la présence de conspécifiques.

Perception des autres femelles de la même espèce et réponse directe à leur présence

En environnement variable, où, d'un patch à l'autre, la quantité d'hôtes et le nombre de femelles varient, il doit être avantageux pour une femelle de pouvoir estimer le nombre (*n*-1) de fondatrices présentes sur le patch et d'ajuster sa sex-ratio. La fréquence des interactions physiques, visuelles et/ou chimiques avec les autres femelles utilisant un patch pourrait être utilisée pour évaluer ce nombre de femelles (Godfray, 1994 ; van Welzen & Waage, 1987; Waage & Lane, 1984).

Les interactions physiques avec d'autres femelles et avec des hôtes parasités ont été quantifiées mais ne permettent pas d'expliquer l'augmentation de la sex-ratio chez le parasitoïde *T. remus*. Van Welzen et Waage (1987) font alors l'hypothèse que la sex-ratio observée est une réponse à des marques chimiques laissées par les autres femelles, sans préciser leur localisation. La même hypothèse a été formulée pour expliquer le comportement d'allocation des sexes de *Telenomus farai* (Rabinovitch et al., 2000). En effet, lorsque le nombre de femelles sur un patch augmente, le nombre de contacts entre ces femelles augmente également. En gardant constant le ratio hôtes/parasitoïdes, la sex-ratio reste inchangée. Par conséquent, les femelles ne se servent pas de la variation de la fréquence des contacts physiques pour estimer *n*. A ma connaissance, l'hypothèse que le signal provoquant la réponse (dépendante de la densité de femelles) est effectivement de nature chimique n'a toujours pas été testée.

Persistance de l'effet des contacts avec des conspécifiques femelles sur le comportement d'allocation des sexes

Une femelle qui a passé un certain temps en présence d'autres femelles peut produire une fois seule une sex-ratio moins biaisée en faveur des filles que les femelles n'ayant jamais eu de contact avec des conspécifiques, ce qui implique que l'effet des interactions persiste après leur arrêt. *Telenomus heliothidis* (Scelionidae) est un parasitoïde solitaire d'œufs de lépidoptères. Les femelles accouplées qui sont élevées en isolement depuis l'émergence produisent une sex-ratio moyenne à l'émergence de 0,24 sur 10 hôtes (Strand, 1988). Pour tester si les contacts prolongés avec des conspécifiques avant la rencontre avec des hôtes influencent le comportement d'allocation des sexes des femelles, l'auteur réalise l'expérience suivante. Des femelles accouplées sont maintenues à très forte densité (200 femelles par tube)

sans possibilité de pondre. Après isolement et ponte (dans 10 hôtes) la proportion de mâles à l'émergence augmente avec le temps passé en condition de surpopulation, jusqu'à atteindre 50%. Cet effet est réversible : la sex-ratio produite diminue ensuite avec le temps passé en isolement jusqu'à atteindre 0,24, dix jours après l'isolement (isolement qui a eu lieu à l'âge de 7 jours). Cette expérience met en évidence la grande plasticité du comportement d'allocation des sexes chez les hyménoptères parasitoïdes. D'après Strand (1988), la réponse observée est probablement due à l'utilisation des contacts avec d'autres femelles comme un indice du nombre de fondatrices pouvant potentiellement coloniser un patch.

La persistance de l'effet des contacts avec des conspécifiques femelles après un isolement, sur le comportement d'allocation des sexes a été testée et démontrée pour d'autres espèces dont les caractéristiques écologiques sont différentes des Scelionidae, puisqu'il s'agit d'ectoparasitoïdes de pupes de diptères, par exemple chez *Spalangia endius* (King, 2002).

4.3.1.2. Acquisition d'informations sur les caractéristiques des conspécifiques et manipulation de la sex-ratio

Les contacts avec d'autres femelles avant et/ou pendant la ponte peuvent être l'occasion d'acquérir d'autres types d'informations que ceux liés à la densité de femelles ou à la probabilité de coloniser des patchs, comme par exemple leur contribution au groupe d'accouplement (nombre d'œufs qu'elles vont pondre), leur lien de parenté ou leur statut d'accouplement.

Sex-ratio en fonction de la fécondité estimée des conspécifiques (LMC et clutch size)

Deux modèles, qui traitent de l'exploitation simultanée du patch par plusieurs fondatrices, prédisent que la forme exacte de la relation ente la taille relative de la ponte (sensu, Werren 1980) et la sex-ratio optimale dépend de la connaissance que les femelles ont de leur propre taille de ponte et la taille de ponte des autres femelles sur le patch (Stubblefield & Seger., 1990). Les femelles pourraient soit connaître seulement leur propre taille de ponte (« modèle de connaissance de soi ») soit estimer aussi la taille de la ponte de l'autre femelle (« modèle de connaissance complète »). Flanagan et al. (1998) testent les prédictions de ces deux modèles avec *N. vitripennis*. Deux femelles, dont les descendants diffèrent par la couleur des yeux, pondent simultanément sur un patch d'hôte, et peuvent quitter le patch librement, ce qui évite des tailles de ponte trop importantes. Dans ces conditions, la sex-ratio de la descendance produite par une femelle est négativement corrélée avec le nombre de

descendants qu'elle pond, et positivement corrélée avec la taille du corps de l'autre femelle sur le patch. Or, les femelles de grande taille disposent de d'avantage d'œufs et pondent plus de descendants. Ces résultats suggèrent que, comme prédit par le modèle « de connaissance complète », la sex-ratio de la descendance d'une femelle devient plus biaisée en faveur des filles quand le nombre de ses descendants augmente par rapport au nombre total de descendants du patch. Ces résultats ne peuvent pas s'expliquer par un raccourcissement de la séquence de la ponte qui n'est pas fixe chez cette espèce (Werren, 1984). L'estimation directe du nombre d'œufs dans les hôtes est également impossible car il a été montré qu'un délai de 48h entre deux épisodes de parasitisme sur un même hôte est nécessaire pour observer une réduction de la taille de ponte pour la deuxième femelle (voir par la suite partie 4.3.2.1, King & Skinner, 1991 ; Werren, 1984). Les femelles utilisent donc la taille du corps des autres femelles pour estimer la taille de la ponte. Pour Flanagan et al. (1998), ce résultat peut aider à comprendre l'existence d'une certaine variabilité de sex-ratio individuelle quand les femelles pondent en petit groupe.

Sex-ratio en fonction du lien de parenté avec les autres femelles fondatrices

Certaines des extensions du modèle de LMC ont considéré la situation où des femelles apparentées exploitent un même patch, c'est-à-dire des structures de population où une partie des femelles ne dispersent pas et restent pour exploiter un même agrégat d'hôte (Frank, 1985 ; Bulmer, 1986 ; Courteau et Lessard, 2000). Le modèle de Frank (1985) prédit, que pour un nombre donné de femelles sur un patch, elles maximiseraient leur fitness inclusive en biaisant davantage leur sex-ratio en faveur des filles lorsqu'elles partagent un patch avec leurs sœurs (Frank, 1985). Shuker et al (2004a) ont testé cette hypothèse en utilisant *N. vitripennis.* Ils ont montré que les femelles ne sont pas capables d'estimer leur lien de parenté avec une autre femelle exploitant un hôte. En effet, la sex-ratio produite ne varie pas significativement ni selon l'apparentement entre les femelles ni selon un signal qui pourrait indiquer l'apparentement qui est l'appartenance au même hôte d'origine.

Sex-ratio en fonction de la virginité des conspécifiques

Chez les espèces s'accouplant majoritairement hors du patch de naissance, les femelles vierges peuvent parasiter une partie des hôtes. La sélection naturelle pourrait alors avoir favorisé les femelles capables d'estimer cette proportion dans la population, ce qui implique une reconnaissance des femelles vierges par les femelles accouplées. Le modèle de Godfray (1990) prédit en cas de reconnaissance des femelles vierges, que la sex-ratio produite en

réponse à des femelles vierges est davantage biaisée en faveur des filles, par rapport à une femelle qui pond seul. Dans ce même modèle, la rencontre d'une autre femelle accouplée ne modifie pas la réponse attendue.

Une étude menée sur le parasitoïde grégaire *Bracon hebetor*, pour lequel le biais observé en faveur des femelles ne s'expliquerait pas par la théorie de la LMC, conclut que les femelles accouplées sont incapables de reconnaître les femelles vierges (Ode et al., 1997). Cette capacité de reconnaissance n'existerait pas non plus chez *N. vitripennis* car, chez cette espèce, la même augmentation de la sex-ratio est observée en réponse aux deux catégories de femelles (Werren, 1984). King (2002) teste les réponses de femelles de *Spalangia endius* face à une femelle vierge ou à une femelle accouplée. Une augmentation de la sex-ratio en présence d'une femelle accouplée est observée mais il n'y a pas de réponse en présence d'une femelle vierge. Ce résultat est qualitativement conforme à ce qui est attendu par la théorie de la LMC dans le cas où les femelles vierges ne seraient pas reconnues comme appartenant à la même espèce mais comme des confamiliales.

La reconnaissance des femelles vierges par les femelles accouplées et son influence sur la sex-ratio produite qui est attendu selon le modèle de Godfray (1990) n'a été étudiée que chez ces trois espèces, et reste donc encore à explorer.

4.3.2. Superparasitisme et manipulation de la sex-ratio en réponse aux conspécifiques

La rencontre avec des hôtes parasités peut fournir à une femelle de l'information sur ses conspécifiques. Ces hôtes peuvent être perçus comme le signe que le patch, constitué de un ou plusieurs hôtes, a déjà été exploité par au moins une autre femelle. Selon la théorie de la LMC, la deuxième femelle devrait utiliser cette information pour pondre une plus grande proportion de mâles que la première. Si le patch disponible pour une femelle n'est composé que d'un seul hôte déjà parasité, alors elle doit produire une sex-ratio primaire égale à la valeur prédite par Werren (1980), qui tient compte de la taille relative des pontes de la première et de la deuxième femelle. Cependant, cette prédiction d'une augmentation de la sex-ratio en cas de superparasitisme est commune au modèle de qualité de l'hôte (Charnov, 1982)(voir partie 4.2.2). Pour pouvoir faire une distinction entre ces deux modèles expliquant l'augmentation de la sex-ratio en cas de superparasitisme, il est nécessaire de trouver des situations dans lesquelles ils fournissent des prédictions différentes.

4.3.2.1. Rejet de l'hypothèse alternative « qualité de l'hôte »

Selon les modèles de LMC, une femelle de parasitoïde grégaire qui rencontre un patch d'hôtes contenant des hôtes parasités et des hôtes sains doit produire sur l'ensemble de ce patch une sex-ratio primaire supérieure à celle produite par une femelle sur un patch ne contenant que des hôtes sains. Elle doit modifier sa sex-ratio non seulement dans les hôtes parasités, mais aussi dans les hôtes sains du patch. Au contraire, le modèle de qualité de l'hôte prédit que cette femelle ne pondra une plus grande proportion de mâles que dans les hôtes déjà parasités.

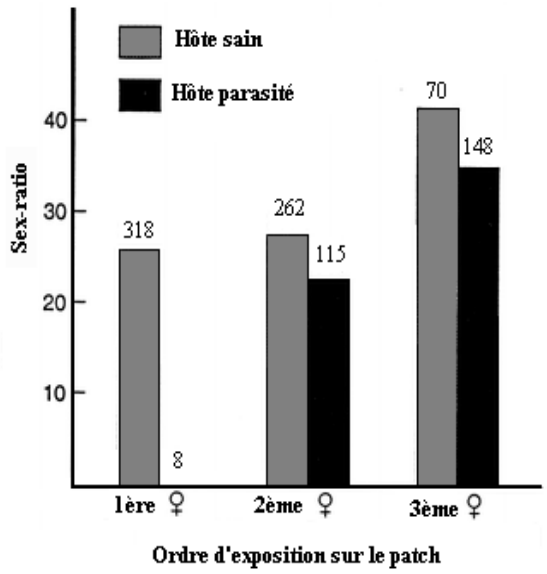


Figure 23. Sex-ratio des descendants de *T. pretiosum* se développant dans des hôtes sains et parasités en fonction du rang de la femelle, par la première, la deuxième et la troisième femelle exposée sur un patch de 12 hôtes (le nombre au dessus des barres indique le nombre d'hôtes observés dans chaque catégorie, par exemple 8 œufs, sur l'ensemble des expériences, qui ont été parasité 2 fois par la première femelle (self-superparasitisme) (d'après Luck et al., 2001)).

Luck et al. (2001) ont testé ces prédictions chez *Trichogramma pretiosum*, un parasitoïde grégaire d'œufs de lépidoptères. Un patch de 12 hôtes est proposé successivement à 3 femelles : la première femelle est autorisée à parasiter 6 hôtes avant d'être remplacée sur le patch par une deuxième puis une troisième femelle dès que la deuxième quitte le patch. Pendant l'expérience, la sex-ratio primaire produite par chacune des femelles dans chacun des œufs-hôtes est accessible. En effet, les mouvements de l'abdomen de la femelle permettent de savoir si l'œuf pondu est fertilisé ou non.

Les résultats indiquent que la sex-ratio produite par la troisième femelle est moins biaisée en faveur des filles que la sex-ratio produite par la première et la deuxième femelle. Ce résultat pourrait s'expliquer par l'hypothèse que la troisième femelle répond à la qualité de l'hôte ou à la présence préalable d'autres femelles (Figure 23). Cependant, la sex-ratio de cette troisième femelle est statistiquement identique dans les œufs sains et parasités, ce qui autorise le rejet de l'hypothèse de « qualité de l'hôte ». Cette modification de sex-ratio s'accompagne d'une modification de la composition des pontes et de la séquence de ponte. L'absence de réponse de la deuxième femelle est attribuée à un défaut de reconnaissance des hôtes parasités, lié à la nature du signal impliqué. Les femelles seraient capables de détecter la modification de l'état interne de l'hôte parasité qui est digéré par un venin injecté au moment de la ponte. Les

auteurs supposent que cette digestion de l'hôte n'est pas instantanée et que la deuxième femelle ne peut détecter les hôtes attaqués par la première. Cette expérience conduit à conclure que les hôtes parasités sont reconnus comme un signal indiquant qu'au moins une autre femelle a pondu sur le patch.

Mais est-ce que pour autant, une femelle qui rencontre à la fois des hôtes sains et des hôtes parasités utilise la fréquence de rencontre avec de tels hôtes comme un indicateur du nombre moyen de fondatrices par patch afin d'ajuster sa sex-ratio au niveau moyen de compétition locale pour l'accouplement ? Pour l'instant, cette hypothèse n'a été que peu testée, et pas encore vérifiée (Godfray, 1994) : Van Welzen et Waage (1987) ont observé chez *T. remus* que seule une fréquence de rencontre élevée avec des hôtes parasités (15 hôtes parasités pour 5 hôtes sains) provoquerait une augmentation de la sex-ratio (secondaire) produite par les femelles dans les hôtes sains, mais les femelles ne modifient pas leur sex-ratio quand la proportion d'hôte parasité sur le patch est de 0,5.

Afin de distinguer entre LMC et le modèle de surpopulation larvaire, chez *N. vitripennis*, King (1992) étudie la réponse de la sex-ratio en fonction de l'état parasitaire de l'hôte. Selon la théorie de la LMC, la sex-ratio attendue en cas de self-superparasitisme (1 fondatrice), si la femelle est capable de distinguer entre les hôtes parasités par elle-même et ceux parasités par des conspécifiques, sera inférieure à celle attendue en cas de superparasitisme (2 fondatrices). Au contraire, selon le modèle de surpopulation larvaire, la sex-ratio attendue dans les deux types d'hôte est identique si le même nombre d'œufs est pondu, puisque les hôtes sont parasités deux fois. Les résultats montrent que la taille de la ponte n'est pas modifiée et dans certaines conditions d'exposition aux hôtes (deux expositions consécutives de 24h ou 2 expositions de 3h séparées par 3h de non exposition), les femelles font la distinction entre les deux catégories d'hôtes parasités. Le changement de la sex-ratio étant conforme qualitativement à ce qui est attendu sous le modèle de LMC, l'hypothèse alternative de surpopulation larvaire est rejetée.

La mortalité différentielle pourrait être une hypothèse alternative au patron observé chez *N. vitripennis* par Werren (1980) et King (1992). Ces auteurs ont estimé que la sex-ratio à l'émergence était représentative de la sex-ratio primaire. Or, si les filles souffrent d'une plus grande mortalité que les fils mais seulement en condition de superparasitisme, alors la sex-ratio observée à l'émergence ne reflète plus la sex-ratio primaire sur laquelle la mère exerce son contrôle. Ainsi, chez *Trichogramma chilonis*, un parasitoïde grégaire d'œufs de papillons, Suzuki et al. (1984) montrent que la mortalité différentielle en condition de superparasitisme

suffit à modifier de façon significative la sex-ratio à l'émergence, sans que la sex-ratio primaire ne diffère entre la première et la deuxième femelle. Chez cette espèce, les femelles ne reconnaissent pas les hôtes parasités des hôtes sains et ne modifient pas la taille de leur ponte (Suzuki et al., 1984). Cependant Werren (1980) vérifie que le nombre d'œufs pondus ne diffère pas significativement du nombre de parasitoïdes émergents en condition de superparasitisme chez *N. vitripennis*. Par conséquent la mortalité larvaire apparaît trop faible pour expliquer l'augmentation de la proportion de mâles dans la ponte de la deuxième femelle.

4.3.2.2. Les signaux impliqués dans l'ajustement de la sex-ratio et de la taille de la ponte

Les femelles de *N. vitripennis* répondent conformément aux prédictions du modèle de Werren (1980). Elles semblent donc capables d'estimer la taille de la ponte de la première femelle et de percevoir un signal émanant de l'hôte parasité qui provoque un changement de sex-ratio. Les femelles de nombreuses espèces de parasitoïdes sont capables de reconnaître les hôtes parasités et de les rejeter. En effet, d'une manière générale, le superparasitisme génère des effets négatifs sur la croissance et la survie larvaire (Godfray, 1994). Cette capacité nommée capacité discriminatoire repose sur la reconnaissance de marques chimiques déposées dans ou sur l'hôte parasité lors du premier épisode de parasitisme (pour une revue voir van Alphen & Visser, 1990, Godfray, 1994 #105). Les signaux utilisés dans la détection du superparasitisme sont peut-être aussi utilisés pour produire une sex-ratio moins biaisée en faveur des femelles. Cependant, Werren (1984) puis King et Skinner (1991) ont montré que des signaux différents sont utilisés par *N. vitripennis* dans les décisions concernant les tailles de ponte et la sex-ratio. Les femelles qui réduisent toujours la taille de leur ponte sur les hôtes déjà parasités ne modifient pas la sex-ratio de leur descendance si leur site de ponte est éloigné du site de ponte de la première femelle (King & Skinner, 1991). De plus, un délai de 48h en moyenne entre le premier et le deuxième épisode de parasitisme est nécessaire pour observer une diminution significative de la taille de la ponte, alors qu'une augmentation significative de la sex-ratio commence après 3h de délai (Werren, 1984). L'indépendance entre les deux décisions reproductives suggère que l'augmentation de la sex-ratio n'est pas simplement due à une réduction de la séquence de ponte (Godfray, 1994 ; King & Skinner, 1991), d'autant plus qu'elle n'est pas fixée chez *N. vitripennis* (Werren, 1984).

4.3.3. Effet des interactions avec les mâles sur la sex-ratio (Constrained Model)

La prédiction du modèle de Godfray (1990) repose sur la capacité des femelles à estimer la proportion *p* de femelles contraintes à ne produire que des fils dans une population. Cette proportion peut varier au cours du temps dans une même population (Godfray, 1990) comme cela a été mesuré chez *Bracon hebetor* (Ode et al., 1997). Si les femelles n'ont aucun moyen d'estimer cette proportion, Godfray (1990) suggère qu'elles seront sélectionnées à produire une sex-ratio reflétant la proportion moyenne de pontes contraintes dans la population au cours du temps évolutif. Cependant, il reste imaginable que les femelles puissent utiliser certains indices pour évaluer cette proportion et ajuster leur sex-ratio aux variations de *p*. Si la virginité est la principale cause de contrainte, il n'existe pour l'instant pas de preuve expérimentale que les femelles accouplées diminuent leur sex-ratio en réponse à la présence de femelles vierges (voir 4.3.1.2). En revanche, les interactions avec des mâles pourraient renseigner les femelles accouplées sur la proportion de femelles vierges dans la population. Ainsi, le nombre de rencontres avec des mâles courtisants et le temps resté vierge (c'est-à-dire le temps avant l'accouplement) permettraient d'estimer *p* (Godfray, 1990). Dans ce dernier cas, *p* peut être redéfinie comme la proportion de temps passé contrainte pour chaque femelle (Fauvergue et al., 1998b).

4.3.3.1. Effet de la présence de mâles avant et ou pendant la ponte sur la sex-ratio

Pour tester l'effet de la présence de mâles pendant la ponte sur la sex-ratio, King (1996) étudie la sex-ratio produite par une femelle accouplée de *Spalangia cameroni* en présence de 4 mâles. Ces femelles pondent d'avantage de fils qu'une femelle laissée seule, ce qui est interprété comme un argument allant dans le sens du modèle « femelles contraintes » : une forte densité de mâles indique que la proportion de femelles contraintes sera faible. Cependant, les femelles répondent également à la présence de femelles accouplées, dans le sens prédit par le modèle de LMC (tableau 1). King (1996) suggère qu'une combinaison de plusieurs modèles évolutifs explique les réponses observées à la fois aux femelles et aux mâles. Le mécanisme proximal permettant d'obtenir les changements de sex-ratio observée pourrait être une interruption de la séquence de ponte des femelles due aux interactions avec les conspécifiques mâles et femelles (King, 1996). En effet, la taille de la ponte est réduite par rapport à l'isolement, à la fois en présence des mâles et des femelles. De plus, si les femelles sont placées la veille avec un mâle, elles produisent une plus grande proportion de fils que les

femelles isolées la veille (0,26 ± 0,02 vs 0,21 ± 0,02) sans que la taille de la ponte soit modifiée entre les deux traitements. Le mécanisme proximal proposé par King (1996) pour expliquer les biais de sex-ratio ne me parait donc pas convenir, l'existence d'une séquence de ponte fixe n'ayant pas été testée chez cette espèce.

L'effet de la présence de mâles avant ou pendant la ponte sur la sex-ratio a aussi été examinée chez deux autres espèces, *Bracon hebetor* et *Spalangia endius*, mais sans qu'aucun effet n'ait été mis en évidence (Ode et al., 1997 ; King 2002).

4.3.3.2. Effet de la durée entre l'émergence et l'accouplement

En contrôlant l'âge à l'accouplement, Fauvergue et al. (1998a) testent si les femelles *Aphelinus asychis*, une espèce de parasitoïde de pucerons, utilisent leur expérience pour estimer la proportion *p* de temps passé contraintes.

Cette étude montre que la fécondité n'est affectée ni par l'âge, ni par l'âge à l'accouplement (en moyenne 30 descendants par semaine). Les femelles qui s'accouplent tard dans leur vie (8 et 15 jours) produisent une sex-ratio biaisée en faveur des femelles (environ 60% de femelles) alors que les femelles du même âge mais accouplées 1 jour après l'émergence produisent une sex-ratio davantage biaisée en faveur des mâles (40 à 50 % de femelles)(Figure 24). Ce résultat ne s'explique pas par un changement de la sex-ratio des femelles accouplées à un jour. En effet, la proportion de fils produite par semaine par ces femelles ne varie pas significativement sur les trois semaines de l'expérience. L'autre facteur qui pourrait être impliqué est la diminution de la qualité du sperme avec le temps passé dans la spermathèque, mais, pour un même âge, elle ne varie pas. Les femelles manipulent donc la proportion d'œufs fécondés et ajustent leur sex-ratio en fonction du temps écoulé entre l'émergence et l'accouplement.

Cependant, la réponse observée, c'est-à-dire la diminution de la sex-ratio avec le laps de temps pré-accouplement, n'est pas de type continue mais discrète. En effet, les femelles qui s'accouplent 8 ou 15 jours après l'émergence produisent la même sex-ratio dans la semaine qui suit l'accouplement. Ce résultat suggère que les femelles perçoivent le temps entre l'émergence et l'accouplement plus comme une variable discrète que comme une variable continue. Ainsi, ce temps serait pour les femelles soit court soit long. Une autre hypothèse serait que les femelles perçoivent non pas le temps en lui-même mais estiment leur classe d'âge au moment de l'accouplement, c'est-à-dire si elles sont jeunes ou vieilles (Fauvergue et al., 1998a).

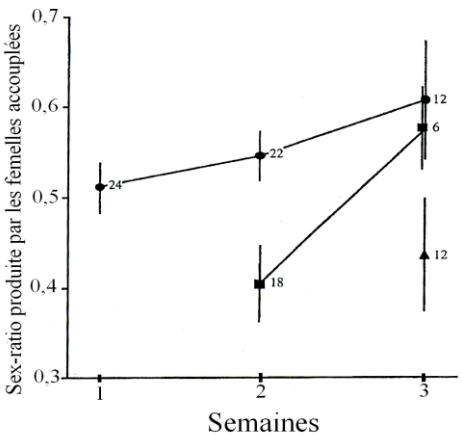


Figure 24. Sex-ratio produite par une femelle en fonction du temps pour les femelles accouplées à 1 jour (cercle), 8 jours (carré), ou 15 jours (triangle) (d'après Fauvergue *et al.* 1998)

4.3.3.3. Sex-ratio en fonction du lien de parenté avec le mâle

En condition de compétition locale pour les accouplements, les femelles s'accouplent soit avec un mâle non apparenté soit avec un mâle frère. Or d'après Greef (Greeff, 1996) la sex-ratio optimale dépend du lien de parenté existant entre une femelle et son partenaire, les femelles accouplées avec un frère devant produire une sex-ratio davantage biaisée en faveur des filles (prédiction valable lorsque le coût de la consanguinité reste modéré et pas pour les espèces ayant un système de type Sl-CSD). Reece et al. (2004) ont amélioré le modèle de Greeff afin de pouvoir l'appliquer à des guêpes des figues ou des parasitoïdes en autorisant certains paramètres comme le niveau de LMC (définit par *N*, le nombre de femelles conspécifiques exploitant un patch) et la probabilité de s'accoupler avec un frère à varier indépendamment. Deux valeurs de sex-ratio sont attendues : d'un coté les femelles accouplées avec un non apparenté qui produisent une sex-ratio se rapprochant de 0,5 quand *N* augmente et de l'autre coté les femelles accouplées avec un frère qui produisent une sex-ratio fortement biaisée en faveur des filles et d'autant plus biaisée que *N* augmente (voir Figure 25).

Reece et al (2004) ont aussi testé les prédictions théoriques de ce modèle avec *N. vitripennis*. Ils ont mesuré la sex-ratio produite par des femelles accouplées avec des frères et avec des mâles non apparentés lorsqu'elles sont en situation de compétition avec une autre femelle pour des hôtes. Le dispositif expérimental est conçu afin de limiter les risques de superparasitisme car les femelles dispersent librement hors du patch quand elles ont finit de pondre. Reece et al (2004) ont également manipulé les informations environnementales que les femelles pourraient utiliser pour estimer le risque de s'accoupler avec un frère en testant différent facteurs i) l'hôte d'origine des mâles (mâles et femelles issus du même hôte que la mère ou d'hôtes différents), ii) le délai entre l'émergence et l'accouplement (un délai

important correspond à une probabilité réduite de s'accoupler avec un frère), iii) le sex-ratio à l'émergence (une sex-ratio élevée correspond à une forte probabilité de s'accoupler avec un frère).

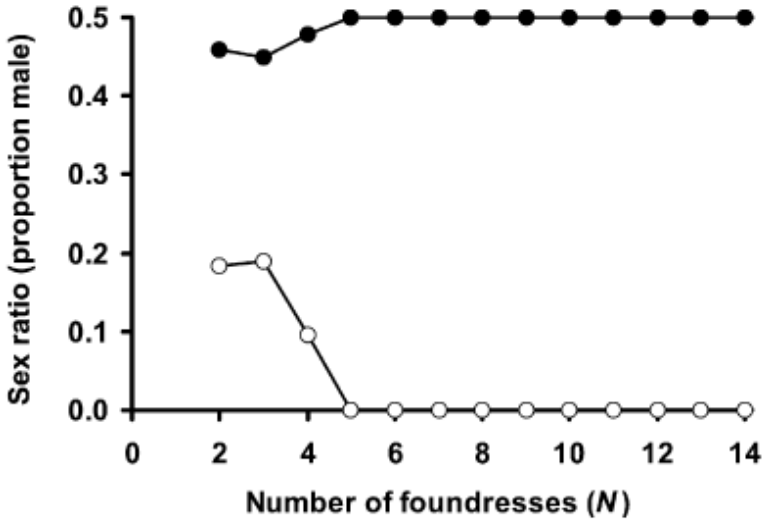


Figure 25. Sex-ratio optimale en fonction du lien de parenté avec le mâle (frère : rond blanc, non apparenté (rond noir), en fonction du nombre de fondatrices *N* (Reece et al 2004).

Contrairement aux prédictions théoriques, les femelles *N. vitripennis* n'ajustent pas leur sex-ratio en fonction de leur lien de parenté avec leur partenaire sexuel. Elles ne discriminent pas leur frère de leur non-frère et elles n'utilisent aucune information environnementale pour évaluer la probabilité d'accouplement avec un frère et ajuster leur sex-ratio. L'absence de différence significative entre les traitements ne peut pas s'expliquer par un manque de puissance Reece et al (2004). Les mêmes auteurs ont répété leur même expérience en augmentant le nombre de femelles compétitrices au moment de la ponte (5 au lieu de 2) et conforté les conclusions de l'étude précédante (Shuker et al., 2004b).

La LMC est une théorie souvent citée comme un exemple de réussite du point de vue de sa validation expérimentale (Godfray, 1994 ; mais voir Orzack, 2002). Cette étude rappelle que les prédictions des modèles d'optimisation de la sex-ratio restent toutefois limitées par la capacité des femelles à estimer l'information utilisée pour la réponse comportementale.

Section 2. Résultats

La deuxième section de ce manuscrit est consacrée aux résultats obtenus lors de ma thèse. Elle est organisée en trois chapitres, chacun basé sur un article publié ou à soumettre. Chaque article est précédé d'un résumé en français qui présente rapidement l'objectif de l'étude, les principaux résultats et points discutés. Les résultats n'ayant pas trouvé leur place dans ces articles (observations personnelles, expériences non concluantes, données insuffisantes) sont rapportés à la suite de chacun d'entre eux, de même que les perspectives sur mes projets en cours.

J'ai choisi de présenter les résultats suivant un ordre respectant la chronologie de la séquence d'appariement. Ainsi, je me suis d'abord intéressée aux rôles des sexes dans le rapprochement et aux informations utilisées pour localiser les partenaires sexuels chez *Venturia canescens*. Un deuxième chapitre est consacré aux critères de choix du partenaire sexuel chez cette espèce, principalement à travers la reconnaissance et l'évitement des accouplements entre frères et sœurs. Enfin, le troisième chapitre porte sur la question de l'ajustement de la sex-ratio en réponse aux conspécifiques et sur les contraintes concernant cet ajustement.

1. INFORMATIONS OLFACTIVES ET LOCALISATION DES PARTENAIRES SEXUELS

1.1. Article I – Mate finding in a parasitic wasp is mediated by several cues

Chez de nombreux hyménoptères parasitoïdes comme chez d'autres insectes, les accouplements ont souvent lieu après la dispersion hors du lieu de naissance. Par conséquent, les partenaires des deux sexes doivent être capables de se localiser à distance en utilisant successivement ou simultanément différentes sources d'informations. Afin de déterminer les indices olfactifs utilisés par *V. canescens* pour trouver un partenaire, nous avons mené une expérience en tunnel de vol. Nous avons testé si les mâles et les femelles étaient attractifs à distance l'un pour l'autre et si la présence d'hôtes influençait le taux de rencontre entre les sexes. Les résultats montrent que les femelles vierges ne sont pas attirées par les mâles tandis que les mâles sont attirés par les femelles vierges. Ceci suggère que les femelles émettent un signal ou un indice phéromonal volatile. Mais le résultat principal est que les mâles trouvent trois fois plus souvent les femelles quand elles sont associées avec des hôtes, alors que les hôtes seuls n'attirent pas les mâles. La plupart des études sur les parasitoïdes se sont focalisées sur les phéromones sexuelles et ce résultat constitue la première démonstration expérimentale que les mâles utilisent simultanément deux indices olfactifs, une information directement reliée à la présence des femelles et un indice environnemental fourni par les hôtes. Le système d'appariement de *V. canescens* serait une tactique d'acquisition des partenaires du type « course au partenaire » dans laquelle les mâles se déplacent continuellement à la recherche de femelles réceptives (Thornhill & Alcock, 1983), celles-ci se déplaçant à la recherche d'hôtes. Un tel système d'appariement dans lequel la rencontre des partenaires sexuels a lieu sur les lieux de ponte a été proposé chez les parasitoïdes, mais les preuves expérimentales restaient limitées.

Notre étude a aussi montré que i) les femelles accouplées restaient attractives pour les mâles alors que *V. canescens* est une espèce monoandre, ii) les femelles sont capables de se percevoir entre elles à distance. Ces deux derniers résultats conduisent à s'interroger sur la nature de l'information olfactive, signal ou indice, utilisée par les mâles pour localiser les femelles. En Annexe A est présentée la démarche expérimentale qui permettrait de vérifier si ce sont bien les mêmes composés organiques volatiles émis par les femelles qui sont utilisés pour la communication inter et intra-sexuelle, c'est-à-dire qui sont perçus par les mâles et les femelles.

Mate finding in a parasitic wasp is mediated by several cues

Marie Metzger, Deborah Fischbein[2], Xavier Fauvergue[3],
Carlos Bernstein[1], Emmanuel Desouhant[1]

In prep

Abstract

In many parasitoid wasps as in other insects, mating often takes place after dispersal from the natal patch. Consequently sexes have to locate each other from a distance, using successively several relevant information sources. To determine the olfactory cues used by the solitary parasitoid wasp *Venturia canescens* to find a mate, we carried out wind tunnel experiments with factorial design: we tested which sex is attractive to the other and whether the presence of hosts influences the finding rate. The results showed that virgin *V. canescens* females are not attracted to males whereas males are attracted to virgin females. This suggests that the females emit a volatile pheromonal signal or cue. But the main result is that males find three times more often females when the females are associated with hosts whereas they are not attracted to host patches as the females do. Whilst most studies on parasitoids focus on sexual pheromones, this result is one of the first experimental demonstrations that the males used simultaneously two types of olfactory cues in mate location: information directly related to female presence and an environmental cue provided by hosts. At least we shown that mated females remain attractive to males whereas *V. canescens* is, likely, a monoandrous species, and that females are also able to perceive each other from a distance. These last two results lead us to discuss about essential distinction between pheromonal signal and cue. We replaced our works in the context of the study of mating systems in parasitoids.

[1] Université de Lyon ; université Lyon 1 ; CNRS ; UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, 43 boulevard du 11 Novembre 1918, Villeurbanne F-69622, France.
[2] Laboratorio de Ecología de Insectos Forestales INTA EEA Bariloche, CC 277, Bariloche 8400, Rio Negro, Argentina.
[3] Institut National de la Recherche Agronomique, UMR 1112 'Réponse des Organismes aux Stress Environnementaux', 400, Routes des Chappes, BP 167, 06903 Sophia Antipolis Cedex, France.

Introduction

Animals have to cope with environmental uncertainty when they make decisions related to dispersal, habitat selection, foraging and mate choice. Therefore evolutionary and behavioural biologists have, in recent years, made an effort to unravel the role of acquisition and use of information in adaptive behaviours (Dall et al., 2005; Johnstone & Dall, 2002). In the context of communication and sexual selection, animals gather and use both environmental cues and social information, e.g., signals emitted by conspecifics, to decide whether to mate, where to search, whom to mate with or how much to invest in breeding (Danchin et al., 2004; Valone & Templeton, 2002).

In parasitoid Hymenoptera (insects that develop inside or on another arthropod host, killing it as a consequence of their development), semiochemicals, i.e., chemical cues or signals that inform or alter the behaviour of the recipient, are frequently involved in adaptive decisions (Godfray, 1994). They are also prevalent without exception in the context of mate location and choice (Quicke, 1997). On a local spatial scale, females may release close-range or contact pheromones useful for species recognition (Danci et al., 2006b) that lead to arrestment responses in neighbouring males and/or elicit male courtship behaviour (for a review see Kainoh, 1999, see also Ruther et al., 2000a, Danci et al., 2006a). When mating takes place before dispersal from the emergence site, these few volatile cues can be enough to promote the encounter, even if certain tactile and visual cues may also be necessary to elicit the male courtship behaviour (Steiner et al., 2006). Yet, locating a mate requires more sophisticated mechanisms when males and females emerge in different places or mate after dispersal, as occurs in numerous parasitoid species (Hardy, 1994). Virgin females can deposit trace or trail pheromones on the substrate upon which they walk; these are able to indicate the females'presence and guide males towards them (Fauvergue et al., 1995; Pompanon et al., 1997). On a larger spatial scale, females can also help direct males towards them by emitting volatile sex pheromones that are detectable from a distance (for a review see Fauvergue et al., 1999). Male sex or aggregation pheromones may also be involved in male mating swarms that have been described for some Braconidae and Ichneumonidae species (reviewed by Godfray & Cook; Quicke, 1997).

As yet, attempts at identifying the environmental cues involved in mate location, especially with respect to the question of whether or not these cues may be used in association with sex pheromones, have been limited. The reason for this lack of data may be that female volatile sex pheromones involved in mate location from a distance are usually considered to

be sufficiently effective (Fauvergue et al., 2007). Yet, as in the other insect groups, male parasitoids should theoretically have an advantage when they concentrate their research activities in areas frequented by females, like emergence or feeding sites (Thornhill & Alcock, 1983). Moreover, in hymenopteran parasitoids, host patches foraged by females should also be favourable places for encounters because the haplodiploid reproduction system allows virgin females to produce offspring, although these are always males. In fact, male parasitoids have been observed to court females in emergence or host foraging patches (reviewed in Godfray & Cook, 1997; Hardy et al., 2005b). Male attraction for host-associated volatiles (Myint & Walter, 1990; Nadel & Luck, 1992; Ruther & Steidle, 2000; van Dijken et al., 1989) or plant-volatiles (Mc Auslane et al., 1990; Stelinski & Liburd, 2005) has been reported. However, whether males combine information provided by host-related cues with female sex pheromones has rarely been investigated (but see Mc Auslane et al., 1990). This is astonishing since this phenomenon is widespread in herbivorous species: several host-plant volatiles are known to influence communication between the sexes in herbivores (reviewed by Landolt & Phillips, 1997) by enhancing sex-pheromone production or release (Mc Neil & Delisle, 1989), acting in synergy with female sexual pheromones to increase the male response (e.g., the tobacco budworm *Heliothis virescens*, Dickens et al., 1993 ; the codling moth *Cydia pomonella*,Yang et al., 2004) or by being directly used by males to locate females (the forest cockchafer, *Melolontha hippocastani*, Ruther et al., 2000b; Ruther et al., 2001).

The parasitoid species studied here is *Venturia canescens* Gravenhorst (Hymenoptera: Ichneumonidae), a solitary (that is, only one larva can achieve development from a single host) endoparasitoid of pyralid larvae (Salt, 1976). Sexual reproduction was described quite recently in this species (Beukeboom et al., 1999), which beforehand was considered to reproduce exclusively asexually (by parthenogetic thelytoky). Therefore, its mating system remains to be investigated. Under natural conditions, *V. canescens* finds its hosts in dried fruits such as figs, carobs, medlars and dates (Salt, 1976). In the field, a single host larva usually develops in infested fruits (Driessen & Bernstein, 1999) and the proportion of parasitized hosts is low (i.e., less than 3% in carobs, Schneider, 2003). Consequently, males and females may emerge in different places and finding a mate may pose a challenge, particularly at low population densities. Because virgin females have been observed to search for hosts in natural conditions and have similar offspring production as mated females (Metzger et al., 2008), we suppose that host patches may be places for mate encounters in this species. The odour of a host mandibular gland secretion deposited in host food medium

contains kairomones that are highly attractive for *V. canescens* females (Corbet, 1971) and allows them to estimate host density and be guided from a distance (Castelo et al., 2003). Females are also able to discriminate between a patch exploited by themselves or by conspecifics on the basis of chemical marks deposited on the surface of the host patch (Bernstein & Driessen, 1996). Consequently, both host kairomones and chemical marks deposited by females on patches may aid males in locating females on host patches.

In this paper, we studied what kind of olfactory information is used for mate location in *V. canescens*. Mate location was considered on two spatial scales in three different experiments. In the first experiment, we tested in a wind tunnel whether males and females are attracted by volatile chemicals related to virgin male and female conspecifics or whether they are able to combine cues related to conspecifics and a host patch to increase their searching efficiency during mate location. In monoandrous species, females usually cease production of male attractant after mating, whereas in polyandrous species they should continue to emit to attract other males (Fauvergue et al., 1999; Quicke, 1997). Consequently, after establishing whether *V. canescens* is a monoandrous or polyandrous species, we next tested male attraction to virgin and mated females in a second experiment using the wind tunnel. A final experiment was conducted to investigate whether host patches that have been marked by females are more attractive to males than patches that were never visited.

Materials and Methods

Insect cultures

Individuals from laboratory cultures of *V. canescens* established with sexual wasps collected in the southeast of France (Valence and Nice) during the summers of 2002 and 2005 were used for the mating system experiment and for all other experiments, respectively. The hosts used for parasitoid rearing and field sampling, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), originated from a mass culture (Biotop, Valbonne) and were settled in semolina. *V. canescens* females attack second- to fifth-instar *E. kuehniella* larvae (Harvey et al., 1995). Insect cultures were maintained under constant laboratory conditions (24±1°C; 60-80% RH, Light: Dark regime 12:12 h) and parasitoids were fed 50% water-diluted honey.

Olfactory cues used for mate-location from a distance

A factorial experiment was performed in a wind tunnel: virgin males and females were individually released downwind of the odor plume emanating from a single target. The target contained conspecifics (factor *Conspecifics* with three levels: 3 virgin females, 3 virgin males or no conspecifics), in the presence or absence of a host patch (factor *Hosts* with two levels). Behavioural responses of released wasps were recorded, i.e., times before taking off and whether they reached or did not reach the target. The factorial design allowed us to simultaneously consider several issues. First, because both female and host-related cues represent information involved in the sex rendezvous mating system (i.e., male searching for females at emergence or reproduction site), male attraction for virgin females and hosts was tested both separately and in association. Second, male and female attraction to males was also considered because males may release sex or aggregation pheromones if matings take place in leks or male mating swarms. Finally, intra-sexual communication and spacing behaviour was examined by measuring the response of females to other females when they are alone or associated with host. We made no assumptions about the treatments completing the factorial design, excepted for the control (no response expected).

The wind tunnel used was previously described by Lo Pinto et al. (2004). The flight chamber was 150 cm long, 50 cm high and 70 cm wide. The air speed measured at the release point was 22 cm.s-1, and the light intensity was 4600 lux. Coloured pieces of paper (around 5 cm in diameter) were fixed at random on the transparent sides and the top and bottom of the chamber since visual cues favour oriented flight in some insects (Vickers, 2000). Hosts and wasps used as odour sources were placed in square-shaped boxes (5 × 5 cm high and wide and 2 cm deep). The target boxes were made of cardboard and closed with tulle fabric and a rubber band, allowing air circulation through the two wider sides of the box. Host patches in the target boxes, which were the source of host kairomones, contained 30 third instar host larvae. They had been set up (in a plastic dish (Ø 5 cm) with 8g of semolina) ten days before the experiment to allow for a sufficiently high kairomone concentration. The target boxes were placed crosswind on a 10 × 10 cm transparent horizontal platform, 25 cm above the floor and 30 cm downwind of the air source.

All wasps used, either in the target boxes or released in the wind tunnel, were one day old and virgin. After their emergence, males and females were caged separately in groups of 50 to 100 individuals (cage 50 × 30 × 30 cm) and provided with food (50% water-diluted honey). Four hours before the beginning of an experimental session, the cages were placed inside the

flight chamber in order to accustom the insects to the experimental conditions (24 ± 1°C; RH 70 ± 5%; wind chamber structure). During experiments conducted between 12:00 and 16:00h, the cages were kept in another room with the same temperature conditions. The wasps used to test attractiveness of a given target were randomly chosen and individually transferred from the insect cage to plastic tubes (3 × 8 cm) at least 5 min before they were used (maximum 30 min). They were individually released from these tubes in the flight chamber 60 cm downwind from the target. The top of the release tube was positioned at the same height as the middle of the target box.

For each released wasp, the time spent outside the release-tube before taking off and whether the target was reached, were recorded using an event recorder (The Observer 5.0, Noldus). The target was considered to be reached successfully if the wasp landed on it or flew to the proximity of the target platform (less than 5 cm distance from the target) but landed elsewhere in the wind tunnel. Each tested wasp was removed just after landing. The behaviours of the tested wasps were observed until they took off and landed or 5 min had elapsed. After a first flight, the same wasp was immediately released a second time (Bleeker et al., 2006 ; Lewis & Tumlinson, 1988) and the same variables were measured in an identical manner. The proportion of individuals reaching the targets at least once during two assays was regarded as an attractiveness measure of the odour sources in the target box.

For each of the 6 factorial combinations of the target (3 *Conspecifics* levels × 2 *Hosts* levels), including the empty target control, the flight responses of 42 males and 42 females were recorded. Experiments were conducted from September 27th to October 5th, 2006. Each day of the experiment, 4 to 5 replicates per type of target and sex were examined. To reduce the risk of pseudo-replication, targets were changed every day (9 different targets were used for each treatment). Moreover, for a given target, the sequence of males and females released was randomly drawn and the order of the presentation of the 6 different types of targets was also randomized for each day.

Female mating system and effect of female mating status on male attraction

First, the aim was to determine whether females generally accept several matings. The day of their emergence (d0), virgin females were placed in groups of 4 females with 24 males (Operational Sex Ratio (OSR) 6:1) for 45 min in an insect cage (14 females tested); high OSR favours matings (van Santen & Schneider, 2002). Then, in order to measure the remating rate the day after (d1) and two days later (d2), mated females were presented with males in the

same conditions. The proportion of females accepting mating at each male presentation (d0, d1, d2) was measured. The experiment was replicated once with increased intervals and an increased number of males (OSR 8: 1, *n* = 14): remating rates were measured two days (d2) and five days (d5) after emergence. To increase the probability of observing remating due to lack of sperm stored by the females, in the two replicates, the females were allowed to oviposit on host patches between each presentation to males.

To test the influence of mating status on male attraction, males were individually released in the flight chamber, the target containing either 3 virgin females (35 released males), 3 mated females (*n* = 34) or no conspecifics (*n* = 33, control). The experimental design used to release the wasps, to prepare the insects and the target boxes, and to measure the proportion of males that reached the targets, was similar to that used in the previous wind tunnel experiment. Mated females had been mated 22 ± 1 h before placing them in the target boxes.

Male responses to host patches previously visited by females

We aimed at testing whether males stayed longer on host patches when females had previously foraged on them. The male residence times on three types of patch were measured and the male behaviours were recorded. The three patch types were: (a) a patch of clean semolina without hosts (the food medium of host larvae, “control patch”, *n* = 18), (b) a host patch never visited by a female wasp (therefore called a “non visited host patch”, *n* = 36) and (c) a host patch previously visited by 5 virgin females (therefore called a “visited host patch”, n = 18). In the last case, the patch was marked (females deposit chemicals on the surface while foraging (Bernstein & Driessen, 1996) and some hosts were parasitized.

Host patches contained 8 third-instar larvae of *E. kuehniella,* which had been placed in a Petri dish (Ø 5 cm) full of semolina seven days before the trials. They were covered with a fine cloth that prevented escape of the host larvae, but allowed the females to probe the substrate through the cloth and lay their eggs. “Visited host patches” were obtained by exposing them for 24 h to 5 virgin females that were one day old when incubated with the patch. These females were removed 15 min before the test male was introduced to the patch. For the control patch (treatment a), we used clean semolina inside a Petri dish that was also covered with cloth. During the experiment, patches were placed in the centre of a clean semolina arena of 20 cm in diameter. To introduce a male on a patch, we placed him in a plastic tube (7.5 × 1 cm) positioned just above the patch until he walked out of the tube and onto the patch. The behaviors recorded were walking, antennating the patch, resting, preening

and courtship (described previously by van Santen & Schneider, 2002). We concluded that a male had terminated his patch visit and left the patch if he walked on the arena surrounding the patch or if he flew away. The males tested were one day old, naive, and maintained individually in tubes (7 × 3 cm) supplied with a drop of 50% water-diluted honey since their emergence. The food was removed three hours before the experiment. Patches and the arena surrounding the patch were renewed after each male was tested, and each male was tested only once.

Statistical analyses

Male and female responses in the wind tunnel were analyzed separately. The *Conspecifics* factor specifies for both the presence/absence and the sex of the wasps maintained in the target box (3 levels: male, female or no conspecific) and the *Hosts* factor specifies the presence/absence of hosts in the target box (2 levels). To quantify how chemical information provided by conspecifics and hosts influences the latency of the parasitoid's take-off, we performed survival analyses. Data from only the first flight were analyzed and 23 females and 11 males were excluded from the dataset because they did not exit the release tube within 5 minutes. The effect of the two factors (*Conspecifcs* and *Hosts*) were tested by fitting a parametric proportional hazard model with a Weibull frequency distribution (for the baseline hazard) and allowing right censored data (28 females and 17 males that exited but did not fly away). The leaving tendency, or hazard rate, is defined as the probability per unit time that a wasp takes off given that it is still at the point of release. The regression model assumes that the logarithm of the hazard rate is a linear function of the co-variables. The hazard ratio is defined as the ratio between the hazard rates in the two groups. If it is larger than 1, the tendency to leave the tube is higher in the first group than in the second (the take-off latency decreases). Model selection was carried out by iterative standard likelihood-ratio tests, and the corresponding significance values of the factors are given. Regression coefficients were estimated by maximization of the partial likelihood and are presented for the best model.

The responses of males and females tested for attraction to target boxes were classified separately in two contingency tables according to three factors: *Conspecifics*, *Hosts*, and *Success* (i.e., whether or not the released wasps reached the target box once during the two trials). Individuals with no or only one flight if they missed the target were excluded from the dataset. These three-way tables were analyzed using log-linear models (a generalized linear model with a log link function and a Poisson distribution of errors). The influence of the

factors (*Conspecifics* and *Hosts*) on the proportion of wasps reaching the target, *i.e.*, the dependence between these factors and *Success*, was revealed by significance of the interaction (chi-squared test on the decrease in deviance due to dropping one interaction from the model but including all other significant interactions). When the tested interaction term was significant, we used additive properties of G-tests as explained by Sokal and Rohlf (1995, p756). Indeed, to determine for which *Conspecific* modalities *Hosts* has a significant effect on the proportion of wasps reaching the target, we decomposed the deviance of the models by excluding the *Success* × *Hosts* interaction and the three way interaction (Agresti 2002, p337) according to the three Conspecific modalities (in practice, a G-test is performed for each of the three two-way contingency tables). We applied inverse reasoning to test the *Hosts* modalities for which the *Conspecifics* factor significantly influences the proportion of wasps reaching the target. The *Conspecifics* factor has three modalities and, consequently, a second decomposition that allows making orthogonal comparisons, was required: we determined for the two *Hosts* modalities the effect of "males" vs. "no conspecifics" and the effect of "males + no conspecifics" vs. "females" on the number of wasps that reached the target.

Numbers of males reaching the target (with virgin or mated females) were compared using a classical test for the comparison of proportions (chi-squared test).

For the last experiment, the effects of the experimental treatments on the time spent by males expressing different behaviours were estimated using generalized linear modelling with an inverse link function and a gamma distribution of errors. Contrasts were chosen so that the times could be compared between treatments (a) and (b) and between treatments (b) and (c). Because estimated regression coefficients follow a Student distribution, the effects of treatments were tested using Student t-test.

All data analyses were performed with the R freeware statistical package (R Development Core Team 2005).

Results

Olfactory cues used for mate-location from a distance

Table 6 shows the results of the survival analyses for the latency of male and female take-off. The likelihood ratio tests revealed that the presence of hosts in the target boxes did not affect the time until males left the point of release. On the other hand, odours related to conspecifics significantly influenced male take-off latency: when virgin females were in a

target box, males left the point of release faster (contrast *F*: hazard ratio = 2.63 [1.89, 3.64] > 1). The odour of males did not influence the latency to take-off compared with the control treatment (contrast *M*: hazard ratio = 1.23 [0.88, 1.71] not different from 1).

Table 6. Likelihood ratio test of the parametric survival models relating the time spent outside the release tube by males or females before they fly away (i.e. latency to take off) to the presence of *Conspecifics* and *Hosts* in the target boxes (Experiment 1). *Conspecifics* × *Hosts* represents the interaction between the two factors. Estimated regression coefficient, standard error (S.E.), and p-value corresponding to the significant covariates in the fitted model are also given for the chosen contrasts (F: presence of females, M: presence of males). The scale parameters are equal to 1.58 for males and 1.75 for females.

Factors	χ^2 (*df*)	*p*-value	contrasts	Estimate	S.E.	*p*-value
For males:						
Intercept				3.393	0.194	< 0.001
Conspecifics	32.7 (2)	< 0.001	*F*	-1.516	0.262	< 0.001
			M	-0.325	0.264	*ns*
Hosts	1.28 (1)	0.257				
Conspecifics × *Hosts*	2.81 (2)	0.245				
For females:						
Intercept				3.879	0.332	<0.001
Conspecifics	1.48 (2)	0.477	*F*	-0.571	0.453	*ns*
			M	-0.034	0.457	*ns*
Hosts	14.88 (1)	< 0.001	*Presence*	-1.926	0.439	< 0.001
Conspecifics × *Hosts*	8.14 (2)	0.017	*F* × *Presence*	1.777	0.618	0.004
			M × *Presence*	1.009	0.616	*ns*

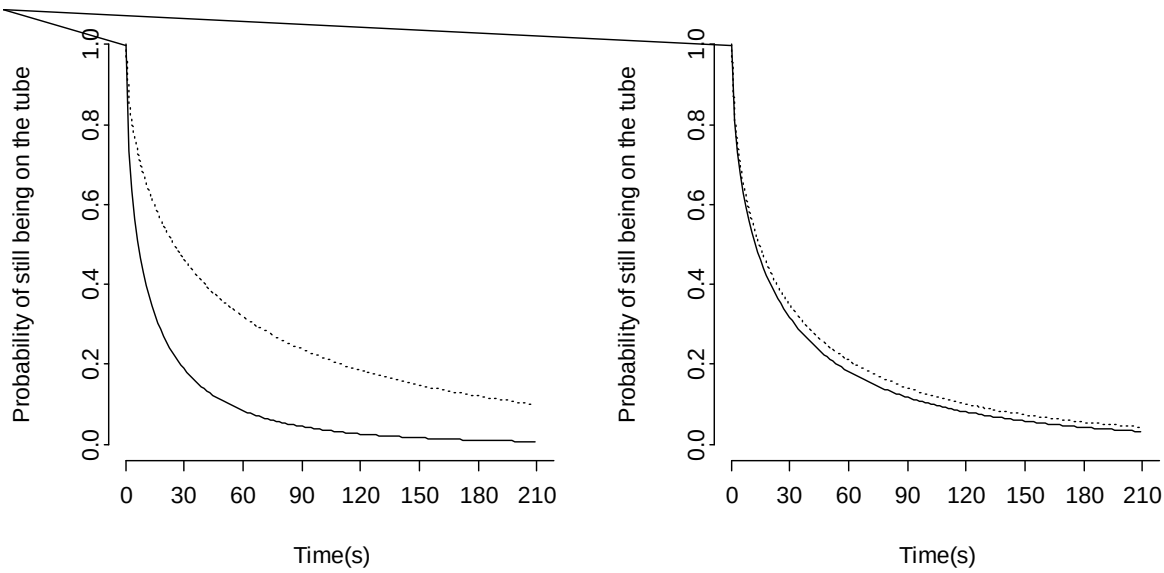


Figure 26. Probability of still being on the point of release for tested females, before taking off, in the wind tunnel experiment according to the absence (dashed line) or presence (solid line) of hosts in the target boxes. Left panel: there is no females in the target boxes ; right panel: presence of females. Curves are computed using results from fitted parametric survival models with Weibull distribution.

In contrast to males, females were influenced by the odour of hosts in the target boxes and the interaction between *Conspecific* and *Host* factors was significant (Table 6). In the absence of female odours, host presence in the target significantly decreased the probability of staying on the release tube (hazard ratio = 3.01 [1.84, 4.92] > 1, Figure 26 right panel), that is, females left the point of release faster under these conditions. On the other hand, when females were present in the target boxes, the presence of hosts did not affect the take-off latency (hazard ratio = 1.089 [0.33, 3.56] not different from 1, Figure 26 left panel). This experiment demonstrates that females are able to perceive other female conspecifics from a distance. Females did not respond to the presence of males in the target (Table 6).

Figure 27 shows the proportions of released male and female wasps reaching the targets. The number of males reaching the target box successfully was significantly influenced by the sex of the conspecifics present in the target (*Success* × *Conspecifics*, χ^2 = 40.12, *df* = 2, p < 0.001), both in the presence and absence of hosts (in the two cases, *Conspecifics* was significantly linked to *Success*, Table 2a, first decomposition). When these conspecifics were other males, the males' *Success* was not modified compared with the control (Table 7a, second decomposition, "males" versus "no conspecific"). As expected, the males were attracted by virgin females ("males + no conspecifics" versus "females", Table 7a). Host odours also significantly increased the proportion of males reaching the target (*Success* × *Hosts*, χ^2 = 17.88, *df* = 1, p < 0.001), but this effect was significant only when the target boxes contained females (it was marginally significant when males were placed in the target boxes, Table 7b). While males were not attracted to host patches without conspecifics, they had a 2.82 times higher chance of reaching the target when females were associated with host odours than when the target contained solely females.

As expected, females were strongly attracted to host odours (*Success* × *Host*, χ^2 = 64.45, df = 1, p < 0.001), but they were not influenced by the sex of conspecifics in the target boxes (*Success* × *Conspecifics*, χ^2 = 1.66, *df* = 2, p = 0.19). The three-way interaction between *Success*, *Conspecifics* and *Hosts* was not significant (G = 0.29 *df* = 2, p = 0.81, same results for males: G = 1.014, *df* = 2, p = 0.60).

Table 7. Decomposition of the log linear model deviances (G-test) testing for conditional independence in the three-way table classifying males tested according to Success, Hosts and Conspecifics a) decomposition of the G-test (Gtotal= G1 + G2), given Hosts, when Success × Conspecifics and the three way interaction were omitted (first decomposition), and subsequent decomposition for two orthogonal comparisons of Conspecifics effect : M versus N and M+N versus F (second decomposition) (b) decomposition of the G-test (Gtotal), given Conspecifics, when Success × Hosts and the three way interaction were omitted. (M: males, F: females, N: no conspecific).

(a) *Success* × *Conspecifics*

1st decomposition	**2nd decomposition**	**d.f.**	**G**	***p*-value**
Host=Yes	M *vs* N	1	1.96	0.16
	M+N *vs* F	1	23.61	< 0.001
	G_1 =	2	25.57	< 0.001
Host=No	M *vs* N	1	1.34	0.247
	M+N *vs* F	1	14.21	< 0.001
	G_2 =	2	15.55	< 0.001
	G_{total}=	4	41.13	< 0.001

(b) *Success* × *Hosts*

	d.f.	**G**	***p*-value**
Conspecifics = F	1	10.66	< 0.002
Conspecifics = M	1	5.06	< 0.05
Conspecifics = N	1	3.18	0.07
G_{total} =	3	18.90	< 0.001

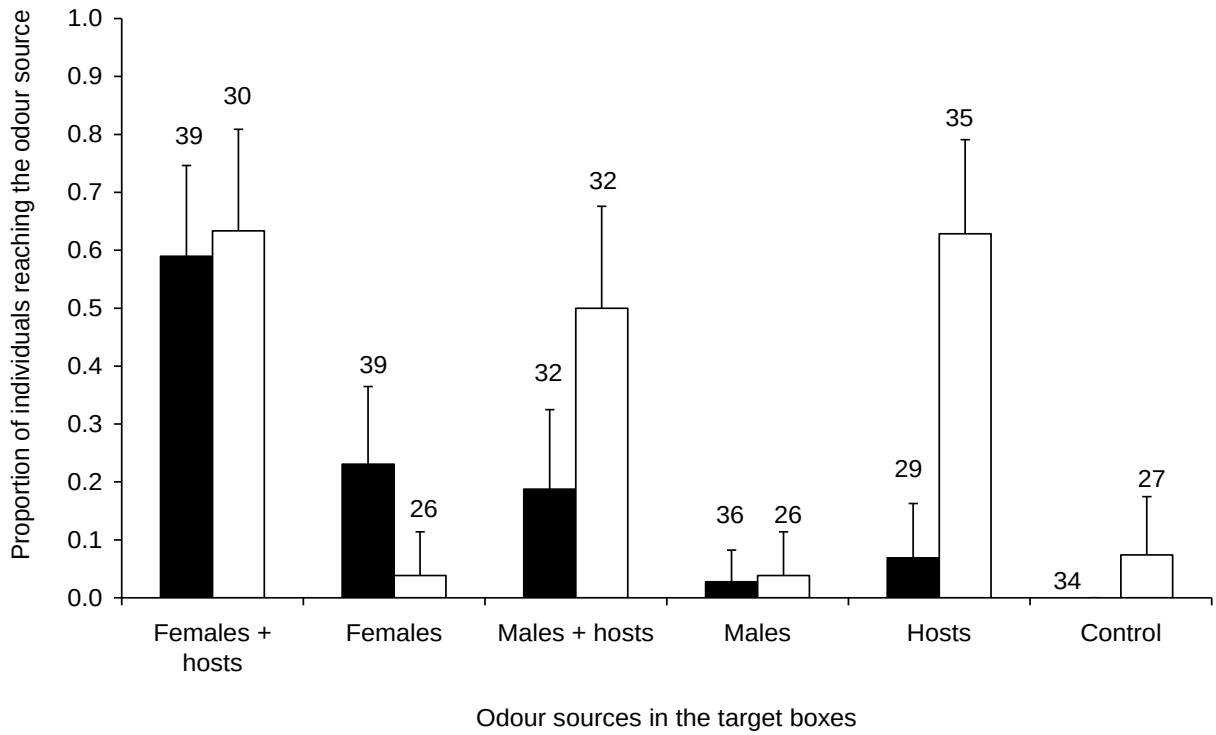


Figure 27. Proportion of *V. canescens* males (black histogram) and females (white histogram) reaching the odour source (target, see Materiel and Methods). Error bars represent 95% confidence interval and numbers are sample sizes. Control: no host and no conspecific inside the target box.

Female mating system and effect of female mating status on male attraction

Of the 28 females tested, 27 accepted mating during the first observation period (d0, x% during the first 10 min). After this first copulation was observed, no female was observed to accept another mating, whatever the delay (d1, d2, d5). Consequently, it seems that remating should be the exception rather than the rule, and we conclude that *V. canescens* is mainly a monoandrous species. In contrast to our expectations, the mating status of females did not affect their attractiveness. The proportion of males that reached the targets in trials with mated females was not significantly different from trials in which the target contained virgin females (32 %, n = 34 males versus 28%, n=35 males, χ^2 = 0.0135, df = 1, p = 0.90). No males reached empty control targets (n = 33).

Male behaviour on host patches previously visited by females

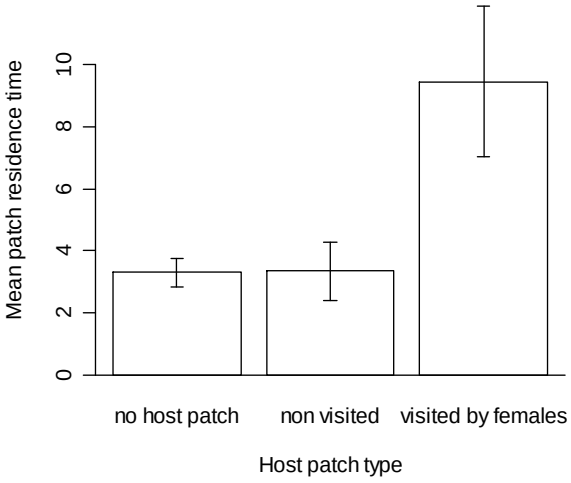


Figure 28. Mean patch residence times (±SD) of *V. canescens* male according to the experimental treatment.

In accordance with our hypotheses, males spent the same time on both types of non-marked host patches: there was no significant difference between male residence time on “non-visited host patches” and “control patches” (clean semolina) (Figure 28, t = 0.03, p = 0.97). Males responded to patches marked by virgin females by spending more time on previously “visited host patches” compared with ”non-visited host patches” (t = -0.197, p < 0.001). Time spent walking in “visited host patches” was higher than in ”non-visited host patches” (6.11 ± 1.5 s *versus* 2.39 ± 0.6 s, t = -3.188, p < 0.01). We did not compare the time spent expressing other behaviours because there were few or none observed: no male displayed courtship behaviour, a single male was observed to preen on the patch (“visited host patch”) or to rest on the patch (“visited host patch”); Seven were observed to explore the substrate with their antennae on the “visited host patch” compared to 2 on the “non-visited host patch” (one-tailed Fisher exact test, p = 0.06).

Discussion

This study demonstrates that the integration of two types of olfactory information is required for mate location in the solitary parasitoid *V. canescens*. In this species, females seem to produce one or several volatile chemical cues that elicit take-off and search behaviour in males. However, in their attempt to locate females, males combine female-related information with the environmental information provided by host-related odours. Indeed, the males were three times more efficient in reaching the females in the wind tunnel when the latter were associated with hosts. Although unreceptive, mated females remain attractive to males. At the host-patch spatial scale, chemical marks left by females when foraging for hosts may be used by males to increase encounter probability. The experiments also support the conclusion that females are able to perceive each other from a distance.

What can explain the observation that male efficiency in locating females is enhanced by the association of females with hosts, whereas, host patches are not attractive to males on their own? We propose that host kairomones may facilitate the male response to chemicals emitted by females, acting in synergy with them. Synergism of sex pheromone by host-plant volatiles is well documented in phytophagous insects (Landolt & Phillips, 1997), including species in which males are not attracted to plant volatiles on their own (e.g. Yang et al., 2004). The latency of male take-off was not influenced by host presence in the target. Consequently host-related cues seem to act synergistically with female chemicals only during flight and do not elicit take-off. In parasitoids, only two other studies have shown that host or host-habitat cues could act synergistically with female-related cues. Van Dijken et al. (1989) showed that males of the mealybug parasitoid *Epidinocarsis lopezi* were more intensely attracted to cages containing females when the cages were placed on plants infested with their hosts than when they were suspended from uninfested plants. In the parasitoid *Campoletis sonerensis*, which belongs to the same Campopleginae subfamily as *V. canescens*, volatiles from the host plant and visual cues increased the efficiency of female location by males from 13% (female on her own) to 60 % (female on a plant)(Mc Auslane et al., 1990).

Two alternatives hypotheses for synergism could explain the enhancement of mate location in the presence of host-related cues by *V. canescens* males. First, they may prefer to search for females associated with host odours using a female's ability to locate hosts as a proxy of female reproductive quality. However, this hypothesis seems unlikely. Pre-copulatory mating choice by males has never been demonstrated in parasitoids, except for a preference for virgin females (King et al., 2005). Indeed, since male reproductive success

depends mainly on the number of mates acquired (Trivers, 1972), the cost in terms of the fitness that a male loses by ignoring a potential mate should be deterrent, especially when females mate only once, as in *V. canescens.* The second alternative hypothesis is that the males do not detect the host presence, but are more attracted to foraging females (target boxes with females + host patches) because they release a larger quantity of volatile chemicals than non-foraging females (females alone). Actually, this second hypothesis cannot be rejected with certainty. The attractiveness of source odours should be tested in the absence of an interaction between the female parasitoids and hosts inside the target boxes. However, *V. canescens* mated females, although unreceptive, remain as attractive from a distance as virgins, suggesting that emission of the chemical compounds is not a controlled process in this species as it is in *Macrocentrus grandii* (Swedenborg & Jones, 1992b). This result was unexpected because, in monoandrous hymenopteran species, female sex pheromones are usually produced only by virgin females and their release is interrupted after mating (Quicke, 1997; but see Micha et al., 1993; Ruther et al., 2000a; Swedenborg & Jones, 1992b).

Usually, substances allowing sex rapprochement are called sex pheromones (see introduction), pheromones being chemical signals that organisms use for transmitting intra-specific information (Law & Regnier, 1971). A signal can be defined as 'any structure or act that alters the behaviour of other organisms, which evolved for that effect, and which is effective because the receiver's response has also evolved' (Maynard Smith & Harper, 2003). The second condition of this definition is fully satisfied in our case: even if all signalling females are not sexually receptive, any advantage that allows more efficient access (on average) to mating partners can be potentially selected for. Consequently, detection and response to conspecific females should be considered as adaptive for males. However, the first condition, i.e., a signal evolved in the emitter because of its effect, is more controversial in our case, in particular because females continue to emit chemicals attracting males after mating. Obviously, *V. canescens* virgin females benefit from attracting males, but, as underlined by Williams (1992), benefit does not imply adaptation. Except for a few cases, volatiles emitted by females and attracting males would be a pheromonal cue instead of a pheromonal signal according to Williams (1992). In the literature, a consensus exists to reject Williams' idea (Alexander et al., 1997; Andersson, 1994; Phelan, 1997; Wyatt, 2003; Zuk & Kolluru, 1998) when it has not been simply ignored. We cannot conclude with certainty the nature of *V. canescens* chemical emission, which is at least a pheromonal cue and may be a pheromonal signal. Determining the organ that produces the volatile chemicals, its chemical

composition, the rate and cost of emission, and its eventual quantitative variation are required to address this question.

Female take-off latency is higher when female odours are associated with hosts, suggesting that females are able to detect each other from a distance and try to avoid competition for hosts. This result is in agreement with Castelo et al. (2003), who reported that *V. canescens* females are able to use volatile chemicals emitted by other females to avoid host patches with conspecifics. We propose that the female chemicals involved in mate location from a distance in *V. canescens* could also be involved in intra-sexual communication. Pheromone parsimony occurs when the same chemical serves several functions depending on the behavioural or ecological contexts. This phenomenon is well documented in the social hymenoptera, in which the same pheromone can have both social and sexual functions (Blum, 1996; Nation, 2002). However, other evolutionary scenarios can be imagined. For instance, females may eavesdrop on other conspecifics using a female sex pheromonal signal or cue (Wyatt, 2003). A case of sex pheromone that is also used by members of the same sex has been reported in the aphid hyperparasitoid, *Alloxysta victrix*: a pheromone is responsible for female attractiveness to males and repellence between females (Micha et al., 1993).

The results of this study and our knowledge of *V. canescens* biology suggest the following sex encounter scenario for this species. As a consequence of the solitary larval development and host distribution in natural conditions, males and females probably most often emerge in different locations (Metzger et al., 2008). As females emerge with numerous mature eggs (Jervis et al., 2001), they can search for hosts just after emergence, flying from one patch to another. Virgin females reproduce at the same rate as mated females and have been observed to search for host patches in field conditions (Metzger et al., 2008). In all likelihood, males actively search for these foraging females, and both pheromonal cues emitted by females and host-associated cues provide information to males. Indeed, the presence of host patches may shape the spatial distribution of females in the environment. Once in the vicinity or on a host patch, males might also use chemical marks deposited by females to locate them on the patch when, for examples, they are not visible. Indeed, host-patch residence time of male *V. canescens* is longer on patches previously visited by virgin females compared to unvisited patches. The patch residence times increases only a few seconds on marked patches, but the weak intensity of this response may be due to the need for males to combine this cue with others (short distance chemical or visual cue), confirming female presence (Danci et al., 2006a). The chemical cue used by males may be the same used

by females to mark the patch surface in order to limit superparasitism (Bernstein & Driessen, 1996).

The last unexplained point is why males were slightly attracted to other males associated with hosts. Generally, male aggregation pheromones could allow males to aggregate in leks and attract females over a distance (reviewed by Quicke, 1997; Quimio & Walter, 2000). Nevertheless, because males are not attractive to other males on their own and because females are not attracted by males, this result remains unclear in V. canescens and requires further investigation.

In parasitoids, when males and females disperse from the natal patch before mating, mating systems are identified as a "sex rendezvous mating system" (based on encounters at the site of emergence, oviposition or feeding) or as mating occurring at arbitrary sites with females emitting pheromones that are attractive to males (Godfray & Cook, 1997; Hardy et al., 2005b). Mixed mating systems have also been envisaged (Godfray & Cook, 1997), but examples remained limited (Mc Auslane et al., 1990 and our study; van Dijken et al., 1989). While the existence of a volatile sex pheromone is now well-established in parasitoids (see the introduction), the influence of other cues in mate-finding strategies, and particularly the interaction between cues that should lead to a such mixed system, have rarely been considered. Another contribution of this work concerns the potential for parsimonious use of chemical cues in *V. canescens*. Chemical analyses of female extracts with the goal of detecting the components eliciting behavioural responses in males and females will be necessary to address this question.

Acknowledgments

Thanks to A. Auguste, A. Heizmann and F. Debias for technical assistance and rearing facility. We thank also T.S. Hoffmeister for useful comments on the manuscript. This work was funded by a Ph.D. grant from the French Ministry for Research to M.M. and by the Ecos Sud programme A04B02.

1.2. Influence de l'association entre les femelles et les hôtes sur l'émission des indices olfactifs utilisés par les mâles lors de la localisation

Objectif

Bien que les mâles *V. canescens* ne soient pas attirés par les hôtes, ils sont trois fois plus efficaces pour localiser les femelles lorsque celles-ci se trouvent sur un patch d'hôtes par rapport à des femelles qui ne sont pas associées à des hôtes. Pour expliquer ce résultat, nous avons proposé l'hypothèse que, lors de leur recherche, ils combinent les indices olfactifs émis par les femelles à ceux provenant des hôtes. Ce résultat pourrait aussi s'expliquer si les femelles sont plus attractives lorsqu'elles sont en train de pondre, c'est-à-dire si elles émettent d'avantage de composés volatiles pendant la ponte. L'objectif du protocole expérimental présenté ici est de confronter ces deux hypothèses en vérifiant si le nombre de mâles qui atteignent une cible dépend ou non de l'association physique entre hôtes et femelles. Nous testerons aussi si l'attractivité pour les mâles d'une source d'odeur change en fonction de la possibilité pour les femelles de pondre, ou de seulement percevoir les hôtes.

Protocole expérimental

L'attractivité pour des mâles de quatre sources d'odeurs combinant différemment femelles et hôtes a été mesurée. Ces sources d'odeurs sont constituées de trois femelles vierges : (i) placées sur un patch d'hôte et qui peuvent pondre (identique à l'expérience initiale), (ii) séparées des hôtes mais dont les odeurs sont mélangées avec celles des hôtes au niveau de la cible, (iii) séparées des hôtes mais pouvant les percevoir (situées en aval des hôtes), (iv) situées en amont des hôtes (Tableau 8). Les mâles et les femelles utilisés dans les expériences sont préparés selon le même protocole que décrit dans l'article précédent. Le tunnel utilisé, la vitesse du vent produit par la soufflerie, le dispositif de lâché, la distance à la cible et les mesures effectuées sont également les mêmes. Seul le dispositif contenant les sources d'odeurs est différent : il est formé de deux tubes en plexiglas scindés chacun en deux compartiments séparés par un espace. Dans ces compartiments, les hôtes et les femelles peuvent être placés ensemble ou séparément, les femelles situées avant ou après les hôtes. Chacun des tubes est traversé par un flux d'air provenant d'une pompe située sous le tunnel (Figure 29, débit d'air réglable séparément pour chaque tube entre 0 et 1,2 L/min). Après avoir traversé chacun des deux tubes, les flux d'air chargés des odeurs se rejoignent en une sortie unique. Le tuyau débouche au centre d'une cible en carton de couleur verte (Figure 30).

Environ 40% des mâles se posent sur la cible verte lorsque un des compartiments contient des hôtes et des femelles ensembles (*n* = 63, âges et expériences non contrôlés). Ces essais préliminaires indiquent que le dispositif fonctionne et qu'il pourra être utilisé prochainement pour mesurer l'importance de l'association entre femelles et hôtes dans l'émission des indices olfactifs. Les sources d'odeur ont été placées dans le tunnel car, lorsqu'elles étaient placées en dessous, et donc que la distance réelle entre les sources d'odeurs et le point de lâché était supérieure à 1,5 m (même position pour la cible en carton), aucun mâle n'a atteint la cible (*n* = 27). Ce résultat semble indiquer que les indices olfactifs émis par les femelles ne sont pas très volatiles et ne sont utilisables par les mâles qu'à une distance limitée.

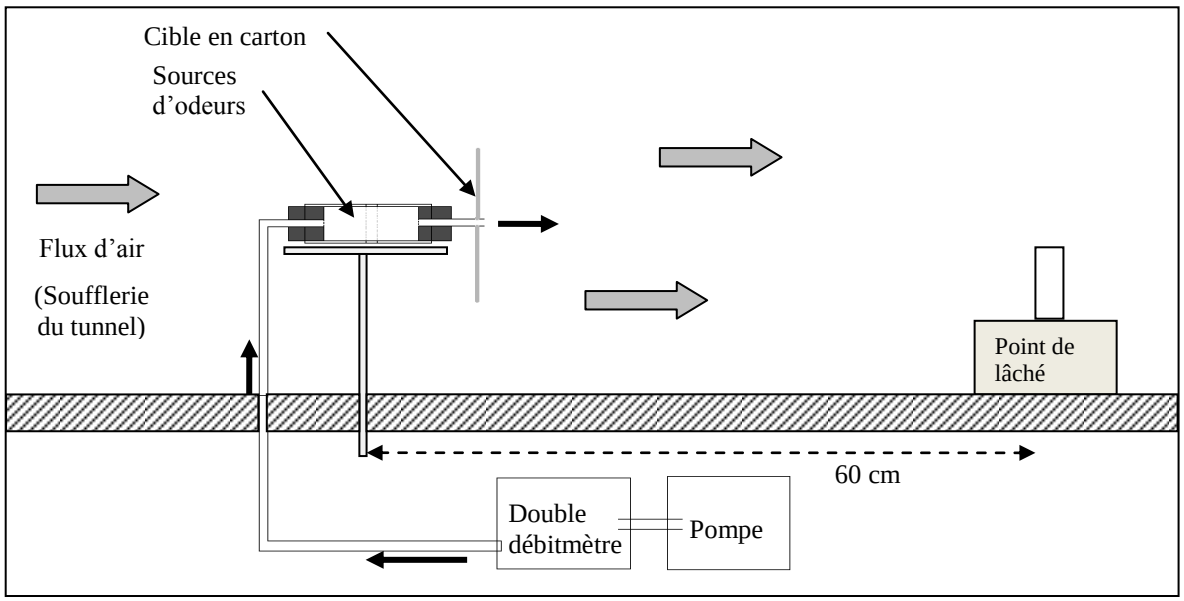


Figure 29. Schéma d'une vue latérale du tunnel de vol et du dispositif expérimental montrant la position des sources d'odeurs, celle de la cible à atteindre par rapport au point de lâché et la circulation de l'air dans le tunnel (flèches).

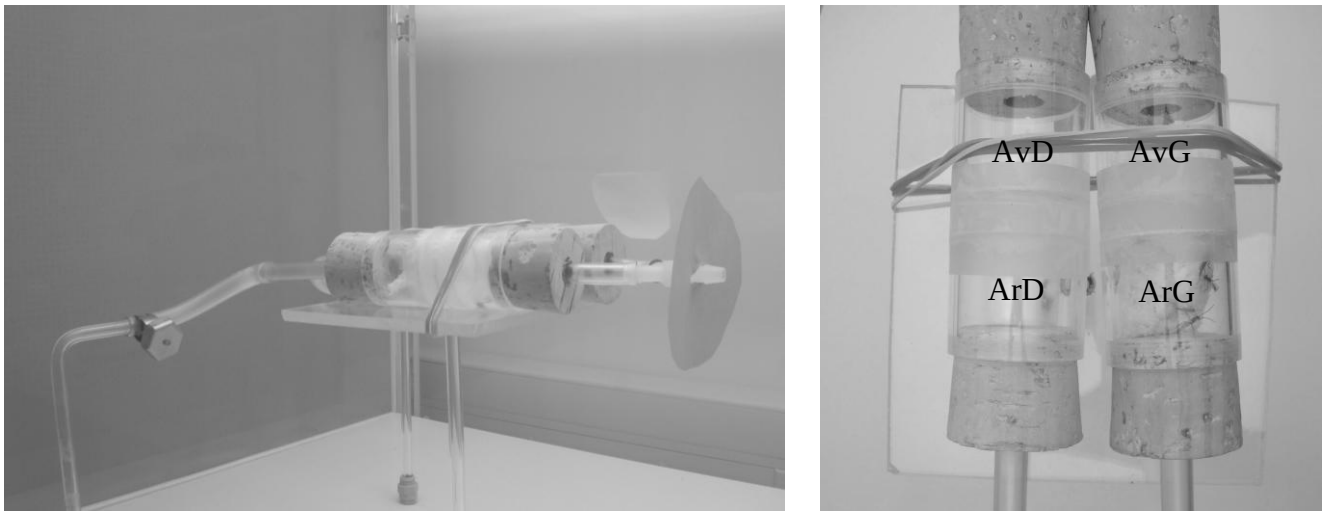
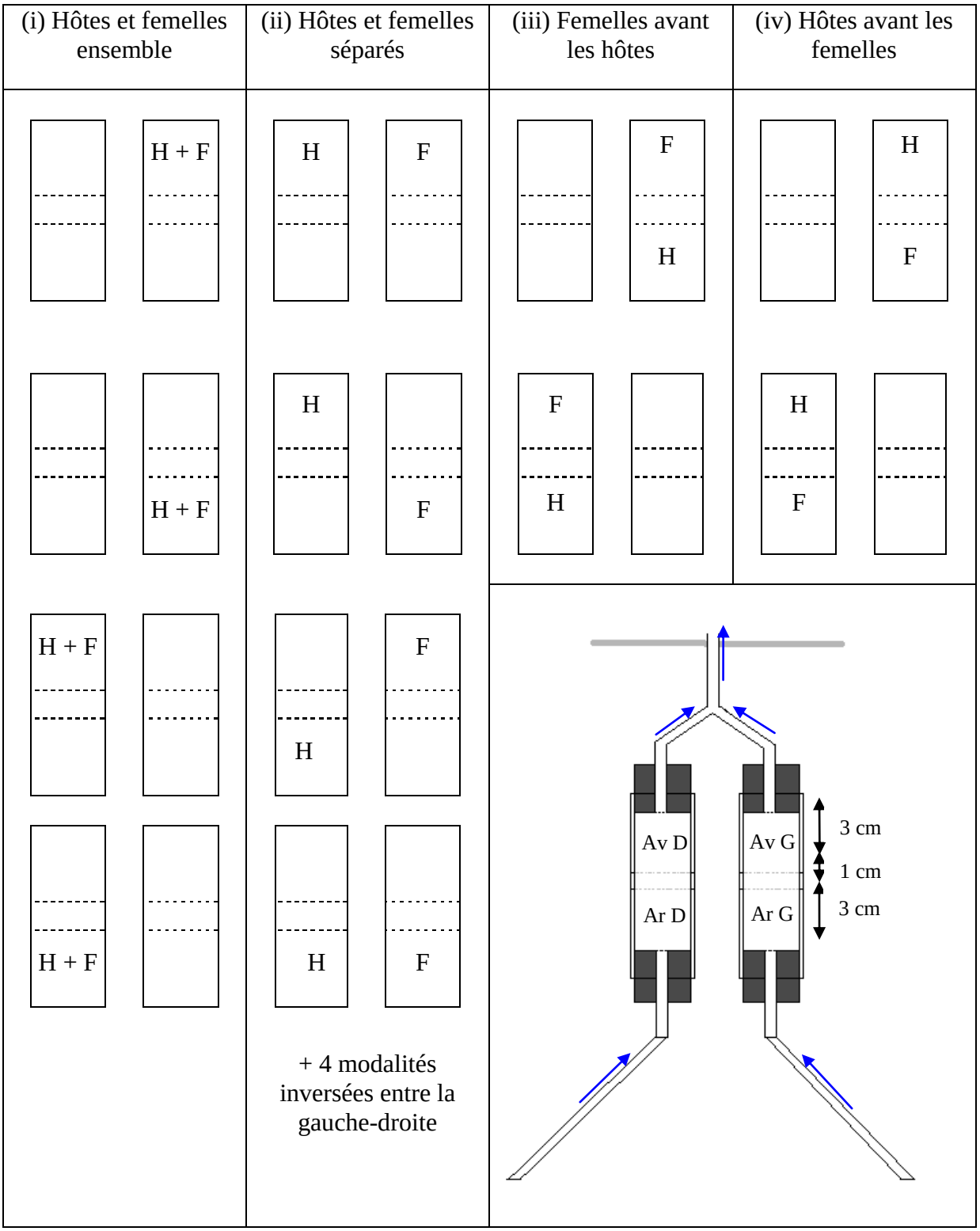


Figure 30. Photographies montrant les deux tubes recevant chacun un flux d'air et qui contiennent les sources d'odeurs (deux compartiments qui se suivent). La cible est matérialisée par le disque en papier. Av : compartiment avant, Ar : compartiment arrière, D : droite, G : gauche.

Tableau 8. Positions des hôtes (H) et des femelles (F) dans les compartiments du dispositif en fonction des quatre traitements expérimentaux (i à iv). En bas à droite, détail du dispositif expérimental (schéma de la cible vue de dessus). L'air, représenté par des flèches, circule à travers les compartiments qui sont séparés par un espace vide et fermés par un voile en mousseline représenté en trait pointillé. Av : compartiment avant, Ar : compartiment arrière, D : droite, G : gauche.



1.3. Informations utilisées par les mâles pour détecter les femelles à courte distance et déclenchant la parade sexuelle.

Nous avons identifié certaines des informations utilisées par les mâles pour localiser les femelles à des distances d'au moins 60 cm. Restaient à découvrir les mécanismes proximaux permettant la reconnaissance à très courte distance, c'est-à-dire à quelques centimètres, et les informations déclenchant les comportements stéréotypés exprimés lors de la parade sexuelle (Tableau 9). Divers scénarii existent chez les parasitoïdes. Chez certaines espèces, l'exposition de mâle aux phéromones sexuelles faiblement volatiles (environ < 3 cm) émises par les femelles est suffisante pour provoquer cette parade. Chez d'autres espèces, les phéromones sexuelles peu volatiles attirent et retiennent les mâles mais ne déclenchent pas la parade (voir Introduction, Tableau 3, p38). Pour y parvenir, les phéromones doivent être appliquées sur un leurre (par exemple chez *Nasonia vitripennis* Steiner et al., 2006). Nous avons donc choisi d'explorer ces différents scénarios chez *V. canescens*.

Tableau 9. Séquence des comportements constituants la parade sexuelle type chez les mâles *V. canescens* (durée moyenne de la parade sexuelle 6±3s (n=35), première description par van Santen & Schneider, 2002).

1- Localisation : approche de la femelle en marchant.

2- Orientation : placement de face ou légèrement de coté par rapport au corps de la femelle.

3- Positionnement : passage progressivement derrière la femelle en gardant la tête orienté en direction de celle de la femelle.

4- Pendant les étapes 2 et 3 d'orientation et de positionnement ont lieu :
   - *une sorte de danse où les articulations des pattes sont pliés ;*
   - *les ailes sont agitées vigoureusement en alternance (pas obligatoire) ;*
   - *cette danse peut aussi s'accompagner d'un recourbement de l'abdomen dans une position rappelant celle prise lors de l'accouplement.*

5- Monte : sur l'abdomen de la femelle.

6- Accouplement proprement dit : insertion des pièces génitales dans celle de la femelle.

Les observations concernant le comportement de la femelle pendant la parade sexuelle, notamment le signalement de la réceptivité, la durée de l'accouplement, les critères de reconnaissance et de choix du partenaire ainsi que les comportements qui suivent l'accouplement sont décrites dans la partie 2.3.

1.3.1. Expérience 1 : phéromone sexuelle femelle faiblement volatile chez V. canescens

Objectif et méthode

L'objectif de cette expérience est de tester si les femelles émettent des phéromones sexuelles perceptibles à faible distance. Le test consiste à enregistrer le temps passé et le comportement d'un mâle dans chacune des moitiés d'une boîte circulaire (de 1cm d'épaisseur sur 5cm de diamètre) contenant deux demi-disques de papier filtre, l'un imbibé de 70µl d'extrait de femelles, l'autre de la même quantité de solvant. Sous l'hypothèse que la phéromone sexuelle retiendrait les mâles, les mâles devraient passer plus de temps dans la moitié de boîte contenant l'extrait de femelles. Sous l'hypothèse que cette phéromone déclencherait aussi le comportement de parade sexuelle, les mâles devraient exhiber un ou plusieurs des comportements de la séquence de parade (vibration, mouvement des pattes ou recourbement de l'abdomen). Les extraits de femelles sont préparés en broyant 3 femelles vierges dans 120µl d'hexane. Un nouvel extrait est préparé pour chaque mâle juste avant qu'il ne soit testé. Les demi-disques de papier filtre sont imbibés 5 min avant le début du test afin de permettre l'évaporation des solvants. Le test est réalisé en aveugle pour l'observateur et dure 10 min pour chaque mâle (n = 18). Les mâles et les femelles utilisés dans cette expérience ont émergé le matin même et sont donc réceptifs et sexuellement matures. Les mâles ont été isolés à l'émergence et n'ont jamais eu de contact avec des conspécifiques. Les tests ont lieu entre 13h et 16h.

Résultats

Contrairement à nos prédictions, l'extrait de femelle n'a pas d'effet sur le comportement des mâles : le temps passé sur le demi-disque de papier filtre imbibé d'extrait de femelles n'est pas significativement différent du temps passé sur celui imbibé seulement de solvant (Figure 31). Aucune des composantes de la parade sexuelle n'a été observée.

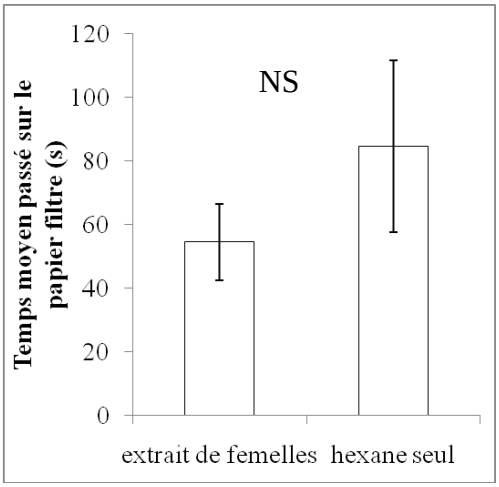


Figure 31. Temps moyen ± ES passé par des mâles sur chaque demi-disque de papier filtre (en seconde) l'un étant imbibé d'un extrait réalisé à partir de 3 femelles vierges et l'autre de solvant pur. Test de la différence des rangs signés de Wilcoxon, $V = 19$, $p = 0{,}07$.

Néanmoins, le test statistique est peu puissant (test non paramétrique) et le nombre d'observations est limité. Il est donc difficile de conclure à l'absence d'effet biologique, même si dans notre cas la tendance observée serait plutôt que l'extrait de femelles « repousserait » les mâles. Nous avons considéré ce résultat comme négatif ce qui nous a conduit à envisager que les mâles utiliseraient aussi des indices de types visuels et tactiles en association avec l'information olfactive.

1.3.2. Expérience 2 : combinaison d'informations visuelle, tactile et olfactive et déclenchement de la parade

Objectif et méthode

Nous avons testé si les mâles combinaient les informations visuelles et olfactives pour détecter les femelles à courte distance. Pour cela nous avons utilisé un dispositif expérimental cylindrique à deux compartiments séparés par un voile en mousseline (Figure 32). Un mâle a été introduit seul ou en présence du cadavre intact mais sans odeur d'une femelle dans le premier compartiment afin qu'il dispose d'un stimulus visuel et tactile. L'autre compartiment était soit vide soit contenait cinq femelles vierges afin que les mâles aient à disposition une source d'odeur. Ces femelles étaient vivantes car dans l'expérience précédente nous avons échoué à provoquer l'attraction à partir d'extraits de femelles. Le cadavre de femelle est obtenu en tuant une femelle au froid et en la rinçant dans l'acétone. Pour chaque mâle testé l'observation a duré 10 min et les comportements ont été enregistrés.

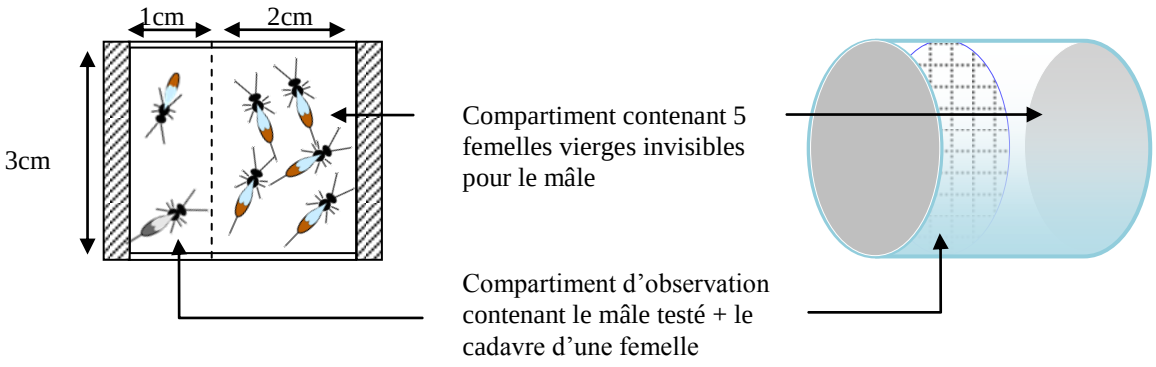


Figure 32. Schéma du dispositif expérimental (à gauche vue de dessus) utilisé pour tester l'hypothèse que les combinaisons d'informations visuelles, tactiles et olfactives sont nécessaires pour provoquer la parade sexuelle chez les mâles *V. canescens*.

Résultats

Sur les 56 (4 ×14) mâles testés, aucun n'a montré de comportement liés à la parade sexuelle. La possibilité pour les mâles d'exprimer ces comportements dans les conditions de l'expérience a pourtant été vérifiée au préalable : 68% des mâles placés en présence d'une femelle vierge en vie dans leur compartiment réalisent une parade sexuelle normale (n = 25).

1.3.3. Discussion et perspectives

Nous n'avons pas mis en évidence l'existence d'une phéromone sexuelle femelle faiblement volatile capable de provoquer la parade sexuelle ou d'attirer et de retenir les mâles chez *V. canescens*. Le résultat de la deuxième expérience est également surprenant parce qu'il indiquerait que ni les informations olfactives fournies par des femelles en vie, ni les informations visuelles et tactiles fournies par la forme d'une femelle, ni même l'association de ces deux types d'informations ne sont suffisantes pour provoquer la parade sexuelle chez le mâle. Dans cette expérience, les conditions infligées aux mâles afin de les mettre à proximité immédiate de la source d'odeur (les femelles) sont probablement trop stressantes. De plus, l'exigüité du dispositif ne permet pas de visualiser clairement si les mâles sont attirés et retenus par une des sources d'information en particulier.

Les mâles pourraient être sensibles aux formes des femelles mais aussi aux mouvements. Ainsi, lorsqu'ils sont à proximité d'une femelle, les mâles prennent souvent les autres mâles pour des femelles et expriment entre eux parades et tentative de montes. Cependant, il semble qu'une information olfactive soit suffisante pour provoquer la parade sexuelle puisque dans le tunnel de vol, les mâles atteignant la cible exprimaient parfois (observation personnelle) des comportements stéréotypés juste après s'être posés sur la plateforme portant la cible ou sur la cible elle-même.

Il apparaît donc que le protocole utilisé pour mettre en évidence une phéromone sexuelle pourrait être amélioré, par exemple en concentrant davantage l'extrait de femelles, en rinçant les femelles au lieu de les broyer ou en faisant varier la durée d'évaporation. Des papiers filtres de plus petites tailles pourraient être proposés aux mâles dans une arène plus grande, ce qui leur laisserait la possibilité de circuler autour. L'extrait pourrait aussi être appliqué sur le cadavre d'un mâle ou d'une femelle obtenu comme dans l'expérience 2. En plus de fournir un leurre visuel parfait, l'effet des phéromones est probablement renforcé par la structure même de la cuticule des insectes (e.g. synergisme Steiner et al., 2006)

Nous avons utilisé de l'hexane pour extraire les phéromones de femelles. L'hexane est un solvant non polaire peu spécifique qui permet de solubiliser, en plus des hydrocarbones cuticulaires, de nombreux composés ayant une chaine alcane (Howard & Blomquist, 2005). Cette non spécificité en fait l'un des solvants les plus couramment employé pour l'extraction des phéromones chez les insectes en général et donc chez les parasitoïdes (voir par exemple Finidori-Logli et al., 1996 ; DeLury, 1999 #302 ; Syvertsen et al., 1995). Si les premières améliorations du protocole proposées ne suffisent pas à attirer et à retenir les mâles, il faudrait réaliser des extractions avec d'autres solvants, purs ou en mélange avec l'hexane, comme l'éther, le dichlorométhane, ou l'acétone.

2. CHOIX DU PARTENAIRE SEXUEL ET EVITEMENT DES ACCOUPLEMENTS CONSANGUINS

Ce chapitre débute par un article dont l'objectif était de tester l'hypothèse que le choix du partenaire sexuel dépend de l'apparentement et que les femelles évitent de s'accoupler avec leur frère. Un protocole expérimental recherchant l'indice olfactif permettant la reconnaissance de parentèle est présenté juste après cet article. Le chapitre se termine sur des observations et expériences complémentaires concernant le comportement des femelles lors de la parade sexuelle et de l'accouplement.

2.1. Article II - Sib-mating avoidance limits risk of genetic incompatibility in a parasitic wasp.

Dans le contexte de la sélection sexuelle, lorsque certaines combinaisons alléliques ont un effet négatif sur la valeur sélective de leurs descendants, les femelles devraient être capables de choisir les mâles sur la base de leur compatibilité génétique (Brown, 1997; Trivers, 1972 ; Zeh & Zeh, 1996). Or, chez de nombreuses espèces d'hyménoptères, le sexe dépend de la composition allélique d'un seul locus, l'homozygotie à ce locus conduisant à la production de mâles diploïdes ayant une fitness nulle (Cook & Crozier, 1995). Dans ce cadre, nous avons testé l'hypothèse d'un choix des partenaires prenant en compte cette incompatibilité génétique. Nous avons vérifié si les femelles *V. canescens* qui ont ce système de déterminisme du sexe, évitent de s'accoupler avec leurs frères, hypothèse rarement évaluée dans la littérature.

Nos résultats confirment la reconnaissance et l'évitement des accouplements frère-sœur pour la première fois chez un hyménoptère parasitoïde. En effet, une femelle placée en présence de deux mâles non-apparentés a deux fois plus de chance d'accepter de s'accoupler qu'une femelle placée en présence de deux de ses frères. Nous proposons l'hypothèse que la reconnaissance des apparentés se fait sur la base d'une signature chimique portée par les mâles et reconnue par les femelles en prenant leurs propres phénotypes comme référence.

En situation de choix entre un frère et un non frère, les femelles n'expriment plus de préférence et le taux d'accouplement observé est réduit. Cette absence de reconnaissance pourrait s'expliquer si la reconnaissance d'un frère inhibe la réceptivité des femelles et/ou si les femelles sont incapables d'exprimer leur préférence pour un mâle dans une situation de compétition directe entre mâles.

Nous avons aussi montré que la sélectivité des femelles disparait lorsque le temps passé

avant la première opportunité d'accouplement augmente. Cependant, le taux d'accouplement diminue aussi, ce qui est contraire à l'hypothèse que les femelles devraient accepter plus facilement de s'accoupler quand le temps qu'elles ont passé contraintes augmente.

Sib-mating avoidance limits risk of genetic incompatibility in a parasitic wasp

Marie Metzger, Carlos Bernstein, Emmanuel Desouhant.

In prep

Abstract

In the context of mate choice, when some combinations of maternal and paternal alleles have a detrimental effect on offspring fitness, females should be able to avoid mating with males on the basis of their genetic incompatibility. In numerous hymenopteran species, sex depends of the allelic combination at a specific locus (single-locus Complementary Sex Determination) and homozygotes at this sexual locus develop into diploid males with null fitness. In this paper, we tested the hypothesis of genetic incompatibility avoidance by investigating possibility for sib-mating avoidance in the solitary parasitoid, *Venturia canescens*. For the first time in a hymenopteran parasitoid species, our results showed that females recognize and avoid mate with their brothers. In presence of two males unrelated with her, the mating frequency is twice higher than in presence of two of her brothers. The females might recognize sib on the basis of a chemical signature carried or emitted by males using self-reference phenotype matching. When a female was placed in a choice situation with a brother and an unrelated male, no preference was observed but mating frequency was reduced. This absence of recognition could be explain if recognition of a sib inhibits receptivity of the females and/or if females are unable to express their preference for a male in a situation of direct competition between males.

Introduction

Evolution of mate choice is studied in the fast-growing framework of sexual selection (Andersson, 1994; Kokko et al., 2003). Because females generally invest more in offspring than males, they are generally expected being the more selective sex, both before (Bateman, 1948; Trivers, 1972) and after mating via cryptic choice of sperm (Parker, 1979). Chosen males are expected to provide the better material benefits to females like nuptial gifts or parental care (reviewed byMøller & Jennions, 2001). But females have also interest to seek males with the better genetic quality (reviewed byAndersson, 1994; Hunt et al., 2004; Neff & Pitcher), i.e. males harbouring alleles increasing by themselves the fitness of offspring (reviewed byKokko et al., 2003; Kokko et al., 2002; Kokko et al., 2006). An alternative hypothesis explaining mating biases consists to consider that the genetic quality of a potential sexual partner can be seen not only as an absolute criterion but also as a relative notion (Mays & Hill, 2004; Neff & Pitcher, 2005; Trivers, 1972). Indeed, because some allelic combinations have detrimental effect on offspring viability or fertility, females should avoid fertilizing their eggs with sperm of the males carrying nuclear or cytoplasmic genes incompatible with their own genotypes (genetic incompatibility hypothesis Brown, 1997; Zeh & Zeh, 1996). A special case of genetic incompatibility avoidance is mate choice based on avoidance of sibs (Neff & Pitcher, 2005; Tregenza & Wedell, 2000). Indeed, because incest avoidance limits the risk of homozygosity (recessive alleles can be seen as incompatible alleles), sib-mating avoidance reduces inbreeding depression which partly results from an increase in the phenotypic expression of deleterious recessive alleles (Charlesworth & Charlesworth, 1987; Keller & Waller, 2002). Kin recognition and discrimination in mate choice have been frequently reported in group living mammals (Pusey & Wolf, 1996) and a growing number of evidence shows that it also occurs in a large variety of non vertebral taxa from mites or snails to cockroaches (Facon et al., 2006; Lihoreau et al., 2007; Schausberger, 2007 ; Simmons, 1989). Theoretically mating with relatives can be maintained and even promoted when the cost of inbreeding depression is lesser than the predicted gain in inclusive fitness obtained from the successful reproduction of kin (Kokko & Ots, 2006; Parker, 1979; Schjørring & Jäger, 2007).

In hymenopteran haplo-diploids, many social and asocial species have a single locus complementary sex determination (sl-CSD, reviewed by van Wilgenburg et al., 2006). Sex depends then on the allelic combination at a specific locus (Cook, 1993; Cook & Crozier, 1995; Whiting, 1943). Females develop from heterozygous eggs (2n chromosomes) at the

CSD locus whereas males develop from hemizygous eggs (n chromosomes). Diploid eggs homozygous at the CSD locus, produce diploid males, which are sterile when they are viable in most species studied (but see Cowan & Stahlhut, 2004). Hence, matings resulting in an improved risk of homozygosity at the CSD locus, as mating between relatives, have potentially a high cost and should be avoided by both sexual partners. A female that mates with a male carrying the same sex allele will waste half of her fertilized eggs because these eggs will develop into diploid males (matched mating Cook & Crozier, 1995). When mating takes place between sibs, the risk of matched mating reaches 50%.

Consequently, species with sl-CSD offer a good opportunity to investigate the evolution of mate choice for complementary genotypes (Herzner et al., 2006). Several mechanisms would have been selected for to limit the occurrence of matched mating: dispersal before mating, polyandrous mating system or inbreeding avoidance by kin recognition (van Wilgenburg et al., 2006). This last mechanism remains largely unconsidered in hymenoptera (but see Ode et al., 1995; Smith & Ayasse, 1987)). We seek whether sib discrimination occurs during mate choice in a solitary parasitoid wasp, *Venturia canescens* (Gravenhorst) with sl-CSD (Beukeboom, 2001). In natural conditions, the females parasitize pyralid larvae developing in dried fruits as figs, carobs, almonds or loquats (Salt, 1976). As 80% of parasitoid wasp species (Ridley, 1993), *V. canescens* females are monoandrous (Metzger et al, in prep). Therefore mate choice in general and avoidance of sib in particular, should be on great adaptive importance.

We aimed at testing the three following hypotheses. Firstly, according to the genetical cost of sib-mating, females should accept to mate more often and faster when the courting males are non-relative than when they are sib (Hypothesis 1). Secondly and for the same reason, if a female has a choice to mate with a sib or a non-sib male, she should choose the non-sib as mating partner (Hypothesis 2). Thirdly, the selectivity against sib should decrease and the proportion of females that mate, whatever the mating partners, should increase with the time spent until the first mating opportunity (Hypothesis 3). Indeed, in panmictic population at equilibrium, unmated females will theoretically not be penalized if they produce only sons (Godfray, 1990), but producing only sons can be costly in non panmictic population (Godfray & Hardy, 1993).

Materiel and method

Rearing facilities

The risk of matched mating increasing with inbreeding, precautions have been taken in order to ensure the genetic diversity in the wasp culture, both in its start and in its running. The strain used has been established from a recent and wide field sampling: eight sites were sampled belong a 20km transect near Valence (France) in three dates in summer 2005. Wasps were reared using larvae of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), originated from a mass culture and maintained in semolina medium. Cultures were under constant laboratory conditions (24 ± 1°C, 70 ± 10 % Hr, DL 12:12). The genetic diversity is maintained culture by mixing parasitoids emerging from different culture boxes to create new culture boxes. Experiments were conducted between January and March 2006.

General set-up to obtain family

Females coming from the laboratory culture were individually isolated in tube (70 × 30 mm) immediately after emergence. They mated once with a male that they chose among three non-sib males coming from another culture box in order to reduce the risk of matched mating. The day after emergence each of these females were allowed to oviposit on a host patch of 30 third instars larvae during 2h. Host patches were set up 7 days before their presentation to females in plastic boxes (80 × 50 mm) containing 15g of semolina. Five days after this first oviposition the females were provided with a new patch in the same conditions. Fifteen days after ovipositions and four days before the beginning of emergence within a brood, parasitized pupae were placed individually in gelatin capsule (Ø 7.95 × 23 mm). Each capsule was daily checked and each newly emerged wasp was transferred in plastic tubes (70 × 30 mm). Thus brothers and sisters were separated before emergence and maintained without contact with any conspecifics until the experiment. Only one female from each brood was used in experiments to avoid pseudo-replication via a brood effect (270 broods were prepared and 15 000 gelatin capsules were used). All wasps were fed ad libitum with 50% water-diluted honey.

No-choice experiment

Our aim was to test whether the frequency and the latency of mating acceptance were influenced by relatedness between potential mating partners (Hypothesis 1) and/or female age

(Hypothesis 3). Each female of one or four days old was given the opportunity to choose a mate either among two of her brothers or among two unrelated males with her (the two unrelated males are brothers). The occurrence of mating and the time spent before matings were recorded during a period of 30 min (courtship and mating behaviours have been previously described by van Santen van Santen & Schneider). Two males were used instead of one in order to offer a choice to the females. This allowed to compare the results of the "no-choice" experiment with the results of the "choice experiment" (see below). The males were introduced together in the experimental arena (plastic tube: 70 × 30 mm) already containing the female. The males used were one or two days old (mean 1.5) and each experimental day the same number of males of each age were assigned to the 4 experimental treatments (two *Ages* for females × two *Relatedness* with males). Thirty-four replicates were realized in 11 days, one replicate corresponding to the simultaneous observation of the 4 treatments of the factorial design.

Choice experiment

This experiment aimed at testing whether females recognized and avoided sib-mating when they had the choice between a brother and an unrelated male (Hypothesis 2). This experiment was conducted at the same time that the "no-choice experiment", with wasps coming from the same brood, in the same experimental conditions and the same variables were measured. All males and females used were one day old and 88 females were tested. To distinguish the two males, we randomly chose a male and its wing base had been pierced with a fine insect pin (hole diameter < to 0.5 mm on a wing measuring 15 mm) at least 20h before the beginning of the observation. After a mating, the victorious male was identified by examining its wings using a binocular microscope.

Data analysis

Contingency tables of the "no choice experiment" results were analyzed using log-linear model (generalized linear model using the log link function with a Poisson response). Response variable was the number of observations and the three explanatory variables were *Matedness* (whether a mating was or was not observed), *Relatedness* with males (sib or non sib) and female *Age* (1 or 4 days). In order to assess the influence of *Relatedness* and *Age* on the probability of mating, i.e. the dependence between these factors and *Matedness*, we tested the two interaction terms implying *Matedness* (chi-squared test on the decrease in fit due to

dropping one of the interaction from the model including all other significant interactions). When a tested interaction term was significant we used additive properties of G-test to decompose the deviance of models and determine the significant modalities (Sokal & Rohlf, 1995, p756).

The effects of *Relatedness* and *Age* on latency to mate were assessed using a method of survival analysis: data were fitted to a parametric model with a Weibull frequency distribution and allowing right censored data (when no mating was observed during the observation period). Likelihood ratio tests were used to determine effects of each factor. All data analyses were performed with the R statistical package (Team, 2007).

Results

No Choice experiment

In accordance with our predictions, females mated more often when the courting males were non-sibs (Figure 33, Table 9). The relatedness between the males and the female influenced significantly the proportion of matings observed according to the female age, and reciprocally the female age influenced significantly the proportion of matings observed according to the relatedness (significant three-way interaction *Matedness* × *Relatedness* × *Age*, $\chi^2 = 4.9294$; $df = 1$, $p = 0.0264$). One-day old virgin females accepted mating significantly more often with non-sib males than females of the same age in presence of sibs. The 4-days-old females lost this selectivity toward sibs and mated equally with brothers or non brothers (Table 9, decomposition of G_1^2 given *Age*). However, contrary to our expectations, the 4-days-old females were also observed to mate significantly less frequently than the younger females (Table 9, decomposition of G_2^2 given *Relatedness*). There was no effect of male age on proportion of mating $\chi^2 = 1.49$, df = 2, p = 0.48).

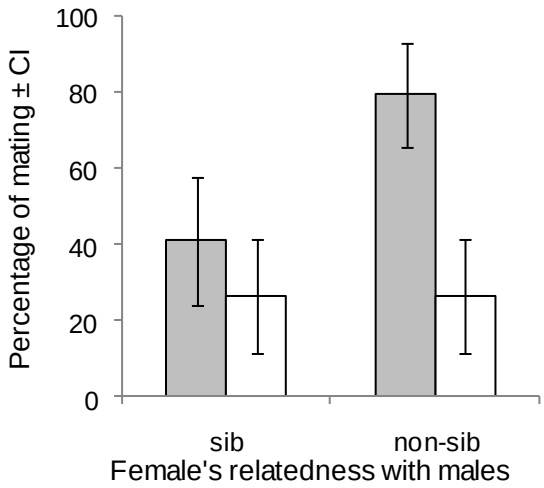


Figure 33. Observed frequencies of mating in the "no choice experiment" (34 replicates for each treatment) according to female's relatedness with the males and female's age (grey bars : 1-day-old females ; white bars : 4-days-old). Error bars represent 95% confidence intervals.

Table 10. Decomposition of the log linear model deviances (G-test) testing for conditional independence in the three-way table classifying number of mating according to *Matedness*, *Relatedness* and *Age*, given *Age* when *Matedness* × *Relatedness* is deleted from the log linear model and given *Matedness* when it is *Matedness* × *Age*.

	d.f.	G^2	***p*-value**
Matedness × *Relatedness*			
Age = 1	1	10.72	0.0011
Age = 4	1	0	1
G_1^2 =	2	10.72	0.0011
Matedness × *Age*			
Relatedness = Sib		1.65	0,198
Relatedness= Non-sib		20.15	$< 10^{-5}$
G_2^2 =	2	21.80	$< 10^{-5}$

Most of the observed matings occurred during the first 10 minutes of observation (median 354s, CI 95% [263; 680]). Contrary to our hypotheses 1 and 3, latency to mate was not significantly influenced by *Relatedness* (χ^2 = 1.37, *df* = 1, *p* = 0.24), female *Age* (χ^2 = 0.26, *df* = 1, *p* = 0.60), or by interaction between *Relatedness* and *Age* (χ^2 = 0.001, df = 1, *p* = 0.97)

Choice experiment

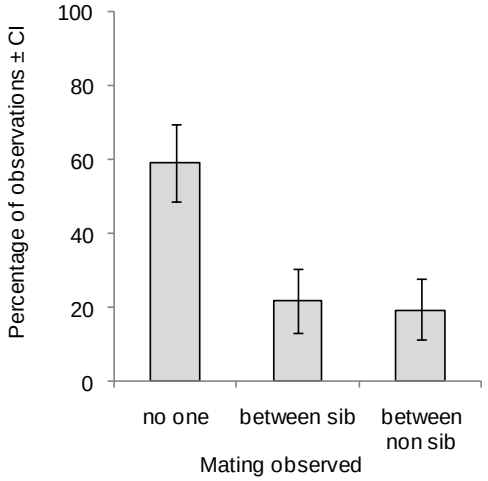


Figure 34. Percentage of observation trials ± CI in which there were either, no mating, mating between sibs, or mating between non sibs. Each female had the choice between a brother and an unrelated male.

Among the 88 females that had the choice between a brother and a non relative, 36 accepted mating during the observation period (40.9 ± 0.05%). The proportion of females mating with a sib (19/36) differed not significantly from that of females mating with a non-sib (17/36, χ^2 = 0.11, *df* = 1, *p* = 0.74, Figure 34). The female choice was not influenced by the hole in the wing used to distinguish males (Fisher exact test, *p* = 0.736). The observed proportion of matings was not significantly different from the proportion observed in treatment implying one-day-old females with brothers in the "choice experiment" (χ^2= 0.0318, *df* = 1, *p* = 0.85).

Discussion

Our study demonstrates for the first time in a solitary parasitoid wasp that the females distinguish between sib and non-sib males and prefer to mate with non-sib ones. In agreement with our first hypothesis, the mating frequency of females is twice greater in presence of two males unrelated with her than in presence of two of her brothers. We have also showed that four days-old females loose their preference for unrelated males. Because they also accept less mating than younger females, our third hypothesis that females become less selective with time spend without mating opportunity, can be rejected. Contrary to our second hypothesis, when a female has a choice between a brother and an unrelated male, no preference is observed and the mating frequency is reduced.

The benefits of sib-mating avoidance in *V. canescens* could be explained by the mating system and the sex determination. Females have a strong interest to discriminate sib from non-sib males because i) they mate only once, ii) in sib-mating, the risk of genetic incompatibility at the sl-CSD, which leads to diploid male production, is equal to 0.5. Avoidance of sib-mating is a mating bias acting against genetic incompatibility (Mays & Hill, 2004). Indeed this mate choice reduces the probability to share sex alleles, and thus, their negative effect on offspring fitness (Trivers, 1972; Zeh & Zeh, 1996).

This mate choice should have several consequences on sex-ratio and population dynamics. Sib-mating avoidance might imply bias in sex ratio because the avoidance of partner could increase thedelay before mating. This increases mechanistically the time that females spend constrained (without sperm) to produce only sons, thus could select for females which, that once mated, produce a biased sex ratio toward daughters (Fauvergue et al., 1998b; Godfray, 1990). We previously showed that *V. canescens* females produce a female biased sex ratio (Metzger et al., 2008). However, the observed proportion of constrained females which reproduce in natural condition remained too low to explain the bias in *V. canescens*.

Using a modelling approach, Zayed and Packer (2005) showed that the genetic load of sl-CSD is high enough to drive a panmictic population in vortex extinction when its suffers from a size reduction (see also, Hedrick et al., 2006). Indeed, sib-mating avoidance could have consequences on population dynamics. So by reducing the probability of matched mating occurrence, it contributes to maintain genetic diversity at the sex determination locus, that is a parameter of crucial importance for population stability (Zayed & Packer, 2005).

Even if our experiments were not addressed to elucidate mechanisms of kin recognition, the characteristics of our biological system and our experimental design allow us to propose hypothesis on this mechanism. Firstly, recognition requires that the individuals carry a specific and reliable cue or "label" (Holmes, 2004; Waldman, 1988). Chemical signatures are widespread labels (Sherman et al., 1997). In particularly, hydrocarbons serve frequently as recognition signals in arthropods (Howard & Blomquist, 2005), and also in sib-mating avoidance context (e.g. *Gryllus bimaculatus* Simmons, 1991). In the solitary wasp with sl-CSD *Philanthus triangulum*, the male sex pheromone shows variations in hydrocarbon chemical profiles which make brother odours more closed than non relative odours (Herzner et al., 2006). In the gregarious parasitoid *Bracon hebetor* with sl-CSD, the cue used in brood-mate avoidance is the odour of the host (Ode et al., 1995). However, in *V. canescens*, because only one adult emerges from a host and because hosts are distributed is separated fruits (Driessen & Bernstein, 1999), females cannot use cues related to a common host patch origin to discriminate between sib and non sib males. Consequently, a genetic origin of the chemical signature could be conceivable in *V. canescens*.

Until perceived by females, the label carried by males or emitted during courtship should be compared to a mental "template" representing kin (Holmes, 2004; Sherman et al., 1997; Waldman, 1988). The kin recognition occurs through mainly three distinct mechanisms (i) use of recognition alleles (ii) prior association (iii) phenotype matching. In the first potential mechanism, the template would be innate instead of learned, and genetically linked to the genes coding for the label production (Blaustein, 1983; Dawkins, 1976). However the use of recognition alleles is generally considered as the less parsimonious and the more theoretically doubtful mechanism for kin recognition (Holmes & Sherman, 1983; Tang-Martinez, 2001, but see Jansen, 2006 #469). The prior association mechanism is based on social learning and thus assumes prior familiarity between the individuals to observe later the recognition (Alexander, 1990). In our study, the wasps did not encounter any conspecifics before the test; hence we can totally exclude this mechanism. Finally, when kin recognition occurs via phenotype matching, the label of an unfamiliar conspecific is compared with a template formed from previous encounters with relatives (Holmes & Sherman, 1982). This mechanism assumes a correlation between phenotypic and genotypic similarities. When any relevant reference to kin can be taken, its own phenotype can be used as referent (Enigl & Schausberger, 2004; Hauber & Sherman, 2000; Ivy et al., 2005; Mateo & Johnston, 2000; Petrie et al., 1999). In our experiment, the parasitoid larvae grow separately and until the time of mating, the own

phenotype of an individual should be the only one reference that it can have. Consequently self-referent phenotype matching mechanism could be employed by *V. canescens* to recognize and avoid sib-mating.

The hypothesis of a self-phenotype matching mechanism in *V. canescens* is all the more plausible that females possess kin discrimination abilities. They avoid more often superparasitism of host previously exploited by relative (Marris et al., 1996). The chemical mark allowing the discriminative oviposition behaviour is produced by the Dufour's gland and the hydrocarbon profiles of the secretion from this gland are shown to be more variable between non relatives than between sisters (Marris et al., 1996). Consequently, females might be able to learn their own hydrocarbon profile (constitutive of their odour) and used this template both in mate choice and foraging context.

In contrast with the results of the "no choice experiment", the "choice experiment" failed to show a female preference for non sib males when females were given a choice between a sib and a non-sib male. We suggest that females may (1) get confused between the two males displaying courtship, (2) be prevented to accept mating of the chosen male. First, recognition of the brother chemical signature probably acts in inhibiting female's receptivity. Consequently, the courtship of the non brother male may remain without success when it occurs simultaneously or in fast sequence with sib's courtship. This hypothesis may explain why only 40% of females accept mating in the choice experiment which is the same proportion than in presence of sib in the non choice experiment. Secondly, even if females are able to distinguish between the two males, a real choice is sometimes impossible. To our knowledge, forced copulations do not occur in *V. canescens*, because a female can always remove the male with her legs. However the male performing the courtship display is not necessarily the male which will finally gain the mating: whereas a first male induces the receptivity to the female by displaying courtship (face to the female in V. canescens, van Santen & Schneider, 2002), a second one can "short-circuit" the courtship of his rival and copulate with the female (Godfray, 1994; Hardy et al., 2005a). Such behaviours have been shown for example in the braconid parasitic wasp *Cotesia rubecula* (Field & Keller, 1993a) and were also observed in *V. canescens* in crowding laboratory conditions (Metzger, personal observations). Absence of apparent preference between sib and non sib mates in a choice situation has been observed in a species in which self-reference phenotype matching is also suspected, the predacious mites *Phytoseiulus persimilis* (Enigl & Schausberger, 2004) and could result from competition between males.

In accordance with our expectation, four-day old females accept to mate indifferently with sib and non sib in *V. canescens* in the "no-choice experiment". However, they also become less receptive to courtship whereas we expected that they accept mating "easier" with increasing time spent virgin. Refusing mating with age may be advantageous if mating late in life is energetically costly. However this hypothesis seems unrealistic since lifetime offspring production does not differ between virgin and mated females in *V. canescens* (Metzger et al., 2008). Alternatively, the decline of mating occurence with age may be explained by a decrease in solicitation of females by males, either old females turn off or decrease their pheromone production either males reduce their courtship investment for old females.

To conclude recognition and avoidance of sib-mating in *V. canescens* represent an original result in a solitary species. Results of previous studies lead us to propose that matings takes places preferentially on oviposition sites with males searching for females after dispersal from their natal patch (Metzger et al, submitted). With this mating system, risk of sib encounters should remain theoretically weak. However, considering the results of the present study, we admit that the risk of sib encounter is not negligible in this species.

Acknowledgments

We thank A. Heizmann and F. Debias for their technical assistance. This work was funded by a Ph.D. grant from the French Ministry for Research to M.M.

2.2. Perspective : Similitude de la composition des phéromones cuticulaires et volatiles émises par les frères

Quels sont les mécanismes à la base de la reconnaissance et de l'évitement des accouplements consanguins chez *V. canescens ?* J'ai supposé que les femelles pourraient reconnaître les mâles sur la base d'une signature endogène caractéristique de la famille et portée ou émise pendant la parade sexuelle (voir article précédent). Je fais donc l'hypothèse que l'odeur des mâles est plus proche entre frères qu'entre non-frères. Pour tester cette hypothèse, la composition en hydrocarbones cuticulaires et celle des composés organiques volatiles émis par les mâles devra être déterminée qualitativement et quantitativement. Ainsi, d'un individu à l'autre, les mêmes composés doivent être présents, mais à des concentrations variables. Dans un premier temps, la méthode de collecte des composés volatiles et non volatiles devra être mise au point et les composés chimiques émis ou portés par les mâles identifiés par chromatographie en phase gazeuse couplée à de la spectrométrie de masse. Ensuite, la collecte pourra être réalisée sur des individus appartenant à plusieurs familles et les échantillons récoltés analysés par chromatographie. Les données seront analysées en Analyses en Composantes Principales.

Ce projet sera conduit cet été à Brême en Allemagne en collaboration avec le Professeur Thomas Hoffmeister de l'Institut d'Ecologie et Biologie Evolutive de l'université de Brême en Allemagne. La mise en place des expériences se fera en collaboration avec le Professeur Wittko Francke de l'institut de chimie organique et de biochimie de Hambourg.

Détails sur la méthode expérimentale

Mise en place de la méthode de collecte des échantillons

Hydrocarbones cuticulaires

Un individu est trempé dans une petite quantité de solvant pendant quelques minutes, puis l'extrait est totalement évaporé, et une quantité connue de solvant est ajoutée.

Composés Organiques Volatiles (COV) émis

En espace de tête dynamique : Des pièges à adsorbant sont présentés à des insectes vivants pendant une heure à deux jours (voir annexe 1, figure a pour un schéma représentant cette méthode de collecte ainsi que la suivante). Il faudra trouver un compromis entre le manque de sensibilité et la limitation du nombre d'échantillon récoltable par jour.

En SPME (Solid Phase Micro Extraction) : La durée de l'exposition des fibres d'adsorbant est de moins d'une heure. Cette méthode est plus sensible et permet de vérifier si certains composés n'ont

pas été détectés avec la méthode précédente. Cependant, cette méthode est peu maniable quand il s'agit de quantifier les émissions de COV.

Contenu des glandes mandibulaires (qui pourraient contenir une phéromone sexuelle mâle)

Après dissection de la tête et ouverture des pièces buccales sur un papier absorbant, l'extraction des composés chimiques peut être réalisée dans un solvant. La tête des mâles pourra aussi être écrasée en entier dans le solvant. Cette méthode, comme celle utilisée pour détecter les hydrocarbones cuticulaires, permet de travailler sur des échantillons congelés.

Une fois récoltés, les échantillons sont analysés en GC-MS pour l'identification des composés chimiques.

NB : Dans l'idéal, nous devrions collecter les COV émis par les mâles lors de la parade sexuelle mais d'un point de vue expérimental, cela parait difficile à réaliser car les COV émis par les femelles seraient aussi présents.

Expérience

Composition des familles

Un nombre non limitant de familles et de mâles par famille devra être prévu et l'échantillonage randomisé à travers les familles. Une souche récente présentant le maximum de variabilité génétique entre mères devra être utilisée. La même méthode que celle décrite dans l'article sera utilisée pour préparer les familles.

Collecte des échantillons

Si, lors de la mise en place de l'expérience, aucune différence qualitative n'est révélée entre la composition des COV collectés à partir de la technique en « espace de tête dynamique » et entre les extraits de tête de mâles, nous choisirons la méthode la plus simple et la plus efficace. La collecte et les analyses chimiques se feront de manière aléatoire entre les familles.

Analyse chimique en GC des échantillons récoltés

Analyses statistiques : Analyse en Composante Principale.

Les variations quantitatives de la composition chimique des volatiles et des hydrocarbones cuticulaires des mâles seront analysées selon l'appartenance à la famille.

2.3. Autres critères de choix des partenaires sexuels chez *V. canescens* et comportement des femelles pendant la parade sexuelle.

2.3.1. La taille des mâles influence-t-elle les chances de remporter un accouplement ?

La théorie de la sélection sexuelle prédit i) que les mâles de bonne qualité d'un point de vue génétique ou apportant le plus de bénéfices matériels doivent être préférés par les femelles (voir synthèse bibliographique 3.2.2), ii) que les mâles les plus endurants et les plus forts doivent aussi avoir l'avantage dans une situation de compétition directe pour l'accouplement (2.4.2). Même si les contre-exemples sont nombreux, l'importance de la taille corporelle fait partie des critères renseignant sur la qualité d'un partenaire. Elle constitue aussi une des caractéristiques pouvant être avantageuse pour remporter la compétition pour l'accès aux femelles (pour une revue voir Andersson, 1994).

Chez les femelles *V. canescens*, la taille influence positivement le niveau des réserves énergétiques, la fécondité et la longévité (Pelosse et al., 2007). Si la même relation existe entre la taille des mâles et leur niveau de réserves énergétiques, leur longévité (par exemple Ode et al., 1996) ou encore leur stock de spermatozoïdes (Lacoume et al., 2006), alors les mâles de grande taille pourraient être de meilleure qualité. Cependant, chez *V. canescens* la taille adulte dépend essentiellement du niveau de ressource fourni par l'hôte pendant la phase larvaire, des femelles de plus petites tailles émergeant des hôtes de mauvaise qualité (Pelosse et al., 2007). On peut supposer que la même relation entre la qualité de l'hôte et la taille à l'âge adulte est valable chez les mâles (pour une revue des espèces voir Ode & Hardy, 2007). La qualité des mâles dépendrait principalement des conditions de développement larvaire et devrait être peu héritable (voir synthèse bibliographique 3.2.2).

Comme il ne devrait pas y avoir de bénéfice direct à s'accoupler avec un mâle de grande taille (voir synthèse bibliographique 3.2.1), nous pouvons faire l'hypothèse que la taille des mâles ne devrait pas influencer le choix des femelles. En revanche en situation de compétition, les mâles de grande taille seraient avantagés en cas d'interactions agonistiques. Le protocole expérimental qui suit permet de tester l'importance de la taille des mâles en situation de compétition sur leurs chances d'accéder à l'accouplement.

Protocole expérimental

Afin de tester si la taille des mâles en situation de compétition influence la probabilité de remporter des accouplements, nous avons observé les accouplements de femelles vierges en

présence de 3 mâles également vierges. Les observations ont été conduites dans un tube en plastique (3 × 7 cm) pendant 30 minutes maximum. Les femelles et les mâles utilisés étaient non nourris et âgés de moins de 8h. Lorsqu'un accouplement était observé, le temps passé avant cet accouplement (latence à l'accouplement) ainsi que la durée de l'accouplement (n = 44) ont été mesurés. La longueur du tibia arrière gauche de la femelle et du mâle gagnant et des deux perdants a été mesurée à l'aide d'une loupe binoculaire (n = 46). La longueur du tibia est un bon indicateur de la taille chez cette espèce (référence dans Pelosse et al., 2007 et l'article lui-même).

Résultats

D'un point de vue qualitatif, les mâles s'ignorent ou bien se courtisent mutuellement mais ne montrent jamais d'agressivité les uns envers les autres. La compétition s'exprime aussi de manière opportuniste en profitant de la parade sexuelle d'un autre mâle pour accoupler la femelle. Les résultats indiquent que la taille des mâles n'influence pas le succès des accouplements : la taille moyenne du mâle remportant l'accouplement n'est pas significativement différente de ce qui est attendu sous l'hypothèse d'un tirage aléatoire d'un mâle parmi 3. En effet, la taille moyenne des mâles remportant l'accouplement (longueur moyenne du tibia arrière gauche : 1,54 ± 0,09 mm), appartient aux 95% de la distribution théorique attendue de la taille moyenne des mâles (intervalle de confiance à 95% pour la longueur moyenne du tibia : [1.49, 1.56], Figure 35).

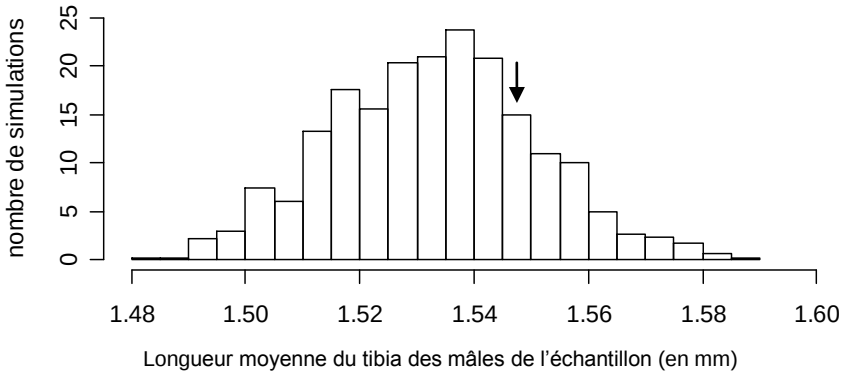


Figure 35. Histogramme représentant la distribution de la moyenne des tailles échantillonnées au hasard parmi les trios de mâles présentés aux femelles. La flèche représente la position de la taille moyenne des mâles choisis par les femelles dans l'expérience. L'histogramme est construit à partir de 1000 simulations consistant à tirer au sort, pour les 46 trios, un mâle parmi les 3 présentés et à calculer la taille moyenne des mâles pour chaque échantillon.

La latence moyenne avant d'observer un accouplement était de 762,7 ± 76,9 s et la durée moyenne des accouplements de 76,91 ± 1.8 s. Il n'y a pas de corrélation significative entre la taille du mâle vainqueur et la durée de l'accouplement (r = - 0,058, n = 44, p = 0,709), ni

entre la taille du mâle vainqueur et la latence à s'accoupler (r = - 0,26, n = 44, p = 0,09), ni entre la durée d'accouplement et la latence à l'accouplement (r = - 0,17, p = 0,28), ni entre la taille du mâle vainqueur et celle de la femelle (r = 0,07, n = 44 , p = 0,65).

Conclusion

La taille des mâles n'a d'effet ni sur la probabilité de remporter la compétition, ni sur la durée de l'accouplement. L'absence d'effet de la taille des mâles pourrait s'expliquer par le protocole expérimental : nous n'avons pas contrôlé à priori la taille des mâles mis en compétition et les écarts de taille entre les différents mâles mis en présence varient beaucoup d'une répétition à l'autre. Cependant, les mâles ne montrent pas de comportements agressifs les uns envers les autres et dans ces conditions une taille importante n'est pas particulièrement avantageuse.

Cette expérience a eu lieu en situation de compétition entre les mâles et ne permet donc pas d'exclure totalement l'hypothèse que la taille des mâles soit un critère de choix pour les femelles. Je n'ai pas pu prendre de mesure plus précise des comportements d'accouplement en raison de l'exigüité du dispositif expérimental qui provoque une grande agitation des guêpes. Cette exigüité présente l'avantage de favoriser les rencontres. En effet, le taux d'accouplements augmente avec la densité chez *V. canescens* (Schneider et al., 2002).

Déterminer l'influence précise de la taille sur le taux de succès des accouplements demanderait de pouvoir : i) contrôler la taille des mâles et des femelles en manipulant la qualité de l'hôte, ii) d'observer de manière plus précise les interactions mâles-femelles et les réponses comportementales des femelles à la parade sexuelle. Concernant ce deuxième point, j'ai réalisé des essais d'accouplements entre deux partenaires dans des conditions plus favorables aux observations, c'est-à-dire dans des dispositifs expérimentaux de plus grandes dimensions. Ces essais ont échoué la plupart du temps, les mâles ne semblant pas percevoir la femelle dès qu'elle est située à quelques centimètres. Ces observations contrastent avec celles réalisées en tunnel de vol ou les mâles sont capables d'atteindre des femelles situées à 60 cm. Il est possible que l'arrivée par le vol près d'une femelle, simulant un comportement de dispersion, soit nécessaire pour provoquer la réceptivité des mâles.

En raison de cette difficulté d'observer la parade sexuelle des mâles, les mécanismes permettant la reconnaissance spécifique et le choix des mâles par les femelles n'ont pas été recherchés pendant cette thèse, mais il est probable que les mouvements stéréotypés effectués

par les mâles lors de la parade sexuelle joue un rôle dans cette reconnaissance (voir synthèse bibliographique.

2.3.2. Réceptivité et réticence à l'accouplement

Chez certaines espèces de parasitoïdes (Pteromalidae ou Eulophidae), il a été rapporté que les femelles signalaient parfois leur réceptivité aux mâles, visible par un changement de posture permettant l'ouverture de l'orifice génital, en modifiant la position de leur antennes (pour une revue voir Hardy et al., 2005a). Chez *V. canescens*, je n'ai pu identifier aucun comportement exprimé par les femelles préalablement à la monte qui indiquerait une acceptation de l'accouplement, excepté peut être leur immobilité (déjà notée par van Santen et Schneider 2002) lors des quelques secondes que dure la parade sexuelle (voir

Tableau 9, p113). Cette immobilité laisse le temps aux mâles de passer derrière les femelles et de monter sur leur abdomen. Les femelles restent également immobiles lors de la monte.

En ce qui concerne le refus, soit la femelle a le temps de partir avant la tentative de monte, soit elle n'a pas le temps. Dans ce cas, elle peut simplement avancer et faire tomber le mâle ou se débattre plus vigoureusement et décrocher littéralement le mâle avec ses pattes arrières. Une femelle accouplée même si elle est agrippée par un mâle le rejette toujours. Ces observations me font dire que les copulations forcées ne sont généralement pas possibles chez cette espèce et que l'accouplement est sous le contrôle de la femelle. De tels refus par « éjection » sont observés aussi bien de la part de femelles déjà accouplées que vierges. La résistance, c'est-à-dire les comportements de refus de l'accouplement, représente un moyen pour les femelles d'éviter des copulations excessives, mais a aussi été suggéré comme étant un moyen pour les femelles d'estimer la qualité des mâles (voir introduction partie 3.3, p63).

3. ROLE DE L'INFORMATION PORTANT SUR LES CONSPECIFIQUES ET DES CONTRAINTES LORS DU CHOIX DU SEXE DE LA DESCENDANCE

Ce dernier chapitre consacré aux résultats commence par un article consacré au test du modèle d'évolution de la sex-ratio dit « femelle contrainte ». Les résultats de l'article montrant que ce modèle a peu de chance d'expliquer le biais de sex-ratio observé, j'ai exploré d'autres causes possibles du biais. Ainsi, la deuxième partie présente les résultats d'une expérience préliminaire ayant pour but de vérifier si la fréquence de ponte influence l'allocation aux sexes, la fréquence de ponte élevée au cours des expériences ayant pu peut-être mettre en avant une contrainte fonctionnelle (fertilisation accidentelle des œufs). Enfin, le chapitre se clôt sur une comparaison de la longévité des femelles vierges et accouplées, prédisant que les femelles vierges devraient vivre plus longtemps que les femelles accouplées : cette hypothèse repose sur l'idée que le biais de sex-ratio et la diminution de la sex-ratio au cours de la vie pourrait s'expliquer par une utilisation préférentielle des spermatozoïdes au début de la vie afin de limiter les coûts du stockage.

3.1. Does constrained oviposition influence offspring sex ratio in the solitary parasitoid wasp *Venturia canescens* ? (ARTICLE III)

Chez les organismes haplodiploïdes, les femelles vierges ou ayant épuisé leur réserve de sperme peuvent se reproduire mais sont contraintes à ne produire que des mâles. Selon le modèle d'évolution de la sex-ratio proposé par Godfray (1990) lorsque, dans une population panmictique, la proportion *p* de femelles contraintes à ne produire que des fils n'est pas nulle, les femelles non contraintes doivent biaiser leur sex-ratio en faveur des femelles pour compenser l'excès de mâles. Ces femelles non contraintes devraient être capable d'ajuster leur sex-ratio aux variations locales de *p*.

Une démarche expérimentale en laboratoire et sur le terrain a été utilisée pour tester les prédictions de ce modèle. En particulier, j'ai cherché à vérifier si les femelles non contraintes pouvaient utiliser l'information acquise sur les conspécifiques, soit mâles soit femelles (vierges ou accouplées) pour estimer *p* et ensuite ajuster leur sex-ratio.

Comme le modèle le suppose, je montre que les femelles contraintes existent et se reproduisent sur le terrain, et qu'en condition de laboratoire elles produisent le même nombre de descendants au cours de leur vie que les femelles non contraintes. Les femelles issues du terrain ou bien du laboratoire produisent une sex-ratio moyenne entre 0,3 et 0,4, c'est à dire

significativement biaisée en faveur des femelles. Cependant, contrairement aux prédictions, les femelles ne modifient pas leur sex-ratio en réponse aux interactions avec des conspécifiques avant la ponte.

Le biais observé n'est pas non plus le résultat d'une mortalité différentielle entre les sexes pendant le développement larvaire. Finalement, la proportion de femelles contraintes mesurée en condition naturelle dans deux populations naturelles (7% dans l'une, 0% dans l'autre) explique seulement une petite partie du biais observé chez *V. canescens*. D'autres modèles théoriques que le modèle de Godfray (1990) pourraient l'expliquer, l'existence d'une structure dans la population ou des différences de capacité de dispersion entre les sexes pouvant favoriser une sex-ratio biaisée (Hamilton, 1967 ; Bulmer, 1986).

Does constrained oviposition influence offspring sex ratio in the solitary parasitoid wasp *Venturia canescens* ?

Marie Metzger, Carlos Bernstein, Emmanuel Desouhant

Ecological Entomology 33:167-174 (2008)

1) In haplodiploid organisms, virgin or sperm-depleted females can reproduce but are constrained to produce only male progeny. According to Godfray's Constrained Model (1990) when p, the proportion of females constrained to produce only male progeny, is not null in a panmictic population, unconstrained females should bias their sex allocation toward females to compensate for the excess of males. These unconstrained females should be able to adjust the sex ratio in response to local variation of *p*.
2) In this paper an experimental approach is used to test hypotheses of this model in the solitary endoparasitoid *Venturia canescens* under both field and laboratory conditions. Specifically, it is tested whether unconstrained females use their encounters with conspecifics (either male or female) to estimate *p* and then adjust their sex ratio accordingly.
3) As assumed by Godfray's model, constrained females actively search for host patches in the field and under laboratory conditions produce the same number of offspring during their lifetime as unconstrained females. As predicted by the model, unconstrained females produce biased sex-ratio toward females both in the laboratory and in the field.
4) The results show that this bias is not a response to encounters with conspecifics previous to oviposition. We also reject the hypothesis that the bias is due to differential mortality between sexes during ontogeny. The proportions of constrained ovipositions estimated in two natural populations explain only a small fraction of the sex ratio bias observed in *V. canescens*.

Introduction

According to Fisher's principle of equal parental investment (Fisher, 1930), the evolutionary stable population sex ratio, defined as the proportion of males, is equal to 0.5 in panmictic populations when sons and daughters are equally costly. Individuals of the rare sex have more mating opportunities, and a frequency-dependent selection maintains population sex ratio at this equilibrium: any departure from the equal numbers of males and females will be selected against. Since Fisher's principle was developed, numerous sex ratio models have examined what should happen when its assumptions are violated (Charnov et al., 1976; Hamilton, 1964; 1967; Trivers & Willard, 1973). Such derivative models attempt to explain sex ratio biases and adjustments to internal or environmental factors in a wide range of taxa from Protozoa to birds and mammals (reviewed by Hardy, 2002). Among these organisms, Hymenoptera have been used in experimental tests and have played a major role in stimulating new questions and models (Hamilton, 1964; 1967, Charnov, 1979). In the haplodiploid reproductive system of hymenopterans, females develop from fertilized eggs and males from unfertilized eggs. Mated females store sperm in their spermatheca and may have the ability to control the sex ratio of their offspring by modifying the proportion of fertilized eggs laid (Ratnieks & Keller, 1998). Indeed, in many hymenopteran parasitoids, females integrate relevant information on their environment to produce offspring sex ratios adapted to local conditions (see King, 1993; and Godfray, 1994 for reviews). Nevertheless, the means of obtaining this information remains unknown in most species (West & Herre, 2002).

The "Constrained Model" (CM Godfray, 1990) is a sex ratio model specific to haplodiploid organisms. Females that are virgin, sperm-depleted or those that mated with a sterile male, can reproduce but lay unfertilized eggs hence they only produce male progeny. Assuming a Fisherian panmictic population, Godfray (1990) showed that the occurrence of such onstrained females should lead to the selection of unconstrained females, that would produce female-biased sex-ratios and thus would compensate for the excess of males in the population. Assuming equal offspring production by unconstrained and constrained females, the evolutionarily stable sex ratio for unconstrained females is $(1-2p) / [2(1-p)]$, where p is the proportion of constrained females in the population. In hymenopteran parasitoids, deviation from the Fisher equilibrium and sex ratio adjustment is usually explained by other models which take non panmictic population structure (Local Mate Competition model, Hamilton, 1967) or host quality (Charnov, 1979) into account. The Constrained Model has received less

attention and its hypotheses and predictions have been tested only in a few species (Fauvergue et al., 1998b; King, 1996, 2002; Kranz et al., 2000; Ode et al., 1997).

In natural populations, the proportion of females that are constrained because of virginity may be due to mating efficiency, which is variable in space and time depending on climatic conditions and biotic factors such as population density (Godfray & Hardy; 1993, Fauvergue, 1995 #279). Because of such variation, females should estimate the level of constrained oviposition in the population and manipulate their offspring sex ratio accordingly (King, 1996). In this process, they may rely on environmental variables correlated with *p*, such as temperature (Godfray & Hardy, 1993) or the time necessary to find a mate (Fauvergue et al., 1998b; Godfray, 1990; Godfray & Hardy, 1993). Conspecifics may also be a source of information concerning p through the following mechanisms, according to the CM: i) if females are able to discriminate between mated and virgin females, encounters with virgin females provide information on the proportion of constrained females and should lead to female-biased sex ratios (King, 2002; Ode et al., 1997); or ii) encounters with courting males or mated females may indicate a low proportion of virgin females and should promote an increase in sex ratio (Godfray, 1990; Ode et al., 1997).

Our objectives were to determine the influence of constrained ovipositions on the sex ratio produced by unconstrained females in *Venturia canescens* Gravenhorst (Hymenoptera: Ichneumonidae) and to investigate whether encounters with conspecifics provide unconstrained females with cues needed to adjust their sex ratio. *Venturia canescens* is a solitary parasitoid wasp of pyralid larvae (Lepidoptera). Reproduction in this species has frequently been described as exclusively thelytokous (asexual) and it is only recently that arrhenotokous (sexual) reproduction was discovered (Amat, 2004; Beukeboom et al., 1999). Hosts breed in desiccated fruits like pods of carob trees, fruits of loquats, figs and almonds (Salt, 1976). They are generally not patchily distributed since 1) a single larva usually develops in each infected fruit (Driessen & Bernstein, 1999) 2) the proportion of fruits infested by V. canescens' potential hosts is weak in natural populations (i.e. around 9%) and level of parasitism by the *V. canescens* is also low (less than 3% of these 9%) (Schneider, 2003). Consequently, males and females might emerge far away one from another. If hosts should be more abundant or hosts patches made by fruits fallen on the floor, mating at the emergence site might occur. However, the high temporal synchronicity of parasitoid emergence necessary to local mating must be a rare event due to the variability in the development of the hosts and of the parasitoids themselves (van Wilgenburg et al., 2006). In

V. *canescens*, the sex of the zygote is determined by the allelic composition at a single sex locus (single locus complementary sex determination Beukeboom, 2001). Heterozygous zygotes develop into females, whereas hemizygotes or homozygotes develop into males (Whiting, 1943). Even if diploid males are viable in *V. canescens* (Beukeboom, 2001), they are thought to be sterile, as in most Hymenoptera (Cook & Crozier, 1995) but see (Cowan & Stahlhut, 2004). The probability of producing diploid males increases with inbreeding and reaches a proportion of 1/2 in sib-mating (Cook, 1993). With such deleterious effect on fitness, sl-CSD is usually not observed in parasitoid species with a mating system favouring inbreeding (Godfray & Cook, 1997; Wilgenburg et al., 2006). Indeed, *V. canescens* sexual females have an oviposition behaviour (spreading of offspring across the habitat) that may reduce sib-mating (Thiel et al., 2006). Therefore the solitary habits, host distribution and sex determination of *V. canescens* suggest that it should have a random mating system as assumed by CM instead of mating at the emergence site.

In this paper, we examined whether constrained females occur in field conditions, and whether the sex ratio produced by unconstrained wasps is in agreement with the observed proportion of constrained females. We then tested whether equal offspring production is observed between unmated and mated females as assumed by the CM. Finally, we tested whether the sex ratio response to contacts with conspecific males and females is consistent with CM predictions. We also studied the effect of sex on the mortality of immature stages that could result in a sex ratio bias.

Materials and methods

Experiments used a laboratory culture of *V. canescens* established with sexual wasps emerging from host-baited traps placed in field sites near Valence, France in 2003 and 2004. The host used for traps and parasitoid rearing, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), came from a mass culture (Biotop, Valbonne). Traps consisted of 2 × 5 × 5 cm honeycomb-structured pieces of cardboard containing fifth-instar *E. kuehniella* larvae settled in semolina, and were suspended from tree branches. *V. canescens* is a koinobiont endoparasitoid and females attack second- to fifth-instar larvae of *E. kuehniella* (Harvey et al., 1995). Foraging females are attracted to mandibular secretions of larvae which are deposited in host patches and act as kairomones (Corbet 1971, Desouhant et al., 2005). Egg laying is easily recognized because after a successful attack of a host, females display a specific abdominal movement called "cocking" (Rogers, 1972). Cultures were maintained under

constant laboratory conditions (24±1°C; 60-80% Hr; LD 12:12) and parasitoids were fed with 50% water-diluted honey. Wasps used in experiments were isolated in transparent plastic tubes (70 × 30 mm) upon emergence from culture boxes. Mated females were obtained by placing each virgin female in a plastic tube 2-4 hours after emergence with three virgin males and leaving them together until mating was observed (maximal observation length: 30 min). The presence of 3 males increases the probability of mating (van Santen & Schneider, 2002).

Estimation of constrained oviposition in the field.

To determine the proportion of constrained females in the field (*p*) and to compare the sex ratio produced by wild females with that predicted by the CM, fieldwork was carried out in summer 2005 in two natural populations. To fulfil these objectives, wild females were caught while they were ovipositing on host-baited traps in two locations: an orchard (INRA Saint Marcel les Valence, France), where females were obtained on three sampling days in July 2005 (using 40, 22 and 19 traps respectively) and on one sampling day in September 2005 (using 40 traps), and in a carob and olive tree forest (Mont Boron, Nice, France) in August 2005 (using 43 traps).

To determine the proportion of constrained females (*p*) and estimate the sex ratio produced by unconstrained females, wild captured wasps were transferred to the laboratory. Individuals were allowed to oviposit over a 48h period on a host patch of sixty 3-5 week-old larvae. During the oviposition period, females were provided with food (honey). We counted and sexed each emerging offspring. The reproductive mode was determined in order to ensure that only arrhenotokous females were considered in the analysis. The mode of reproduction of females producing only daughters was assessed by sexing their grandchildren; they were considered sexual if the grandchildren were all males. Offspring sex-ratio was also calculated in this way, and females producing only males (≥5) were considered to be constrained. The probability to wrongly classifying a mated female as constrained having produced 5 males, if sex ratio is 0.5 is equal to $0.5^5 = 0.0313$. Based on field estimates of *p*, we computed the predicted sex ratio with Godfray's expression (1990). Ninety-five percent confidence limits were calculated for the predicted sex ratios assuming a binomial distribution of *p* (sampling size was determined as the average number of offspring produced per female for each sampling date, Ode et al., 1997).

Sex ratio response to conspecifics

Our aim was to test whether mated females adjust the sex ratio of their progeny in response to the characteristics of conspecifics with which they have interacted before oviposition, and whether this adjustment fits the CM predictions.

After mating, females were enclosed for 48h in plastic containers (ø 80 mm × 50 mm) with either: (a) three virgin males; (b) three mated females; (c) three virgin females; or (d) no other individuals. During this training period, wasps were fed with honey ad libitum. Then, each female tested was exposed individually to a patch of 30 hosts for 2 h. After oviposition, hosts were kept until offspring emergence. We counted and sexed all emerging parasitoids. For treatment (b), a single female randomly chosen among the four was tested, to avoid pseudo-replication. For treatment (c), the four females were provided with hosts and the mated female was identified a posteriori from its offspring sex ratio that differed from 1. Each host patch consisted of 30 third-instar larvae which had been placed in a plastic dish with 10 g of semolina seven days before exposure to the tested females.

Offspring production by mated and virgin females and life-time sex-ratio

The aims of this experiment were: (i) to test whether *V. canescens* constrained and unconstrained females produced a similar number of offspring during their lifetime, as assumed in the CM; and (ii) to investigate the dynamics of sex allocation over a lifetime.

Twenty-four mated females and virgin females, respectively, were exposed individually to a patch of 15 hosts for 30 minutes each day from the time of their emergence until their death. Host patches were prepared as in the previous experiment, in plastic dishes (10 × 10 mm) with 15 g of semolina. Between egg laying sessions, females were kept individually under constant conditions, DL 14:10, 26±1°C, 70±10% RH, in transparent plastic tubes (70 × 30 mm), with 30 min access to food (honey) every day. We kept daily exposed host patches until all parasitoid offspring had emerged and recorded their number and sex. In *V. canescens*, lifetime reproductive success is positively correlated with female body size (Harvey et al 2001). To take this account, we estimated the animals' size by measuring the length of the right hind tibia in each female tested with a stereomicroscope. Since wasp size had been correctly randomised between treatments (t = 0.82, df = 45, P = 0.41) this factor was not included in the statistical analyses.

Effect of sex on the survival of immature stages

A difference between the mother's sex allocation and the sex ratio observed at offspring emergence may occur if one sex suffers higher mortality during its immature development. This experiment tested whether differential survival between males and females during pre-imaginal development inside hosts could explain biased sex ratios in *V. canescens*. Mated (n=85) and unmated (n=42) 36h-old females were allowed to oviposit a single egg each in a fourth-instar host larva (oviposition was insured by the observation of the cocking movement of laying females). We used twice as many mated females than unmated ones to estimate the survival of males and females with similar sample sizes. On each day of this experiment, 4 to 12 hosts parasitized by mated and unmated females were introduced in a plastic box (8 × 5cm) with 50g of semolina. Parasitized hosts were kept until parasitoid emergence (DL 12:12, 25±1°C, 70±10% RH). The number and sex of the progeny were recorded to estimate the effect of sex on larval survival following the method developed by Wellings et al (1986). The survival of immature males was estimated by measuring the egg-to-adult survivorship of unmated females' offspring. The number of unfertilized eggs laid by mated females was deduced from the number of males emerging from hosts parasitized by mated females. In this calculation, we assumed that male offspring survival rate did not depend on whether they came from eggs laid by unmated or mated females. The immature survival of females was then estimated from the ratio of female offspring per number of fertilized eggs (total oviposition number – estimated number of unfertilized eggs) produced by mated females.

Data analysis

The effect of conspecific characteristics on sex ratio was assessed by logistic regression (binomial error, logit link) corrected for over-dispersion (Wilson & Hardy, 2002). The explanatory variables considered were TREATMENT (4 levels), DAY (of experiment, n=12) and the interaction between these two factors. The effect of locality (Valence or Nice) on sex-ratio produced by field-collected unconstrained females was also analysed by logistic regression. In the Results section, the intercept's P-values are presented to test sex ratio deviation from 0.5. In these two analyses, the mean sex ratio was considered to be different from 0.5 if the intercept was statistically different from 0. To test for the effects of female mating status (MATING) and female age (AGE) on the number of offspring produced, we used the Generalized Estimating Equation (GEE) method, assuming a Poisson distribution of errors and an exchangeable working correlation structure (other working correlation structures

yielded similar results). The GEE method accounts in generalized linear models for the correlation between observations (Liang & Zeger, 1986). Likelihood-based methods are not available for estimating levels of significance. The Wald statistic, based on the asymptotic normality of estimators, was used instead. Variation in the sex-ratio of progeny during the mother's lifetime, corresponding to the effect of AGE on sex ratio, was analysed with the same type of statistical model, but assuming a binomial distribution of errors. All data analyses were performed with the R statistical package (R Development Core Team, 2005). Whenever results of an analysis are non significant it is important to estimate the differences in effect size the experimental design is able to detect with sufficient power. In this work power analyses were performed using an R appropriated procedure when it was available, or numerically following Wilson and Hardy (2002). For instance, in the case of differences in sex ratio, data sets with a known mean difference were generated assuming the appropriate distribution of errors and then submitted to the used statistical test. The size effect tested was chosen within a range of biologically plausible values.

Results

Frequency of constrained oviposition and sex-ratio of unconstrained females in field conditions

Table 11. Proportion of constrained females, observed sex-ratio produced by unconstrained females, and sex ratio (±95% confidence interval (CI)) predicted by the Constrained Model. The number of observed sex ratio values lower (<CI) and higher (>CI) than the 95% confidence intervals for the predicted sex ratio are also presented (Ode et al., 1997). Individuals were caught in 2005 in two different localities Valence and Nice.

Locality	Date	Proportion of constrained females	Observed sex-ratio	Predicted Sex-ratio	Number of sex ratio observed values	
					< CI	> CI
Valence	12/7	1/16 = 0.06	0.37 ± 0.1	0.47 ± 0.1	7	1
	22/7	1/9 = 0.20	0.41 ± 0.2	0.44 ± 0.2	0	1
	25/7	0/7 = 0.00	0.31 ± 0.2	0.5 ± 0.2	3	0
	15/9	2/24 = 0.08	0.32 ± 0.2	0.46 ± 0.2	4	0
Nice	23/8	0/40 = 0.00	0.30 ± 0.2	0.5 ± 0.2	22	0

Constrained females were present in both natural populations (Table 11). Their proportion did not differ between the two populations studied: 7.1% (n=56, 95% CI [1.9-17.3%]) were constrained in Valence and 0% (n=40, [0-8.8%]) were constrained in Nice (Two-tailed Fisher's Exact Test, P = 0.138). The overall sex ratio produced by unconstrained females was female-biased (0.34, n=2303, intercept = - 0.8771, P < 10-9), and the bias was

more pronounced in Nice ($F_{1, 90}$ =15.9, P = 0.018). The proportion of unconstrained females that produced a sex ratio in agreement with CM predictions (*i.e.* the percentage of observed sex ratio values within the 95% confidences limits of the predicted sex ratio) was 71% in Valence and 45% in Nice.

Offspring production and lifetime sex ratio produced by mated and virgin females

In accordance to one of the assumptions of the CM, mated and unmated females produced similar numbers of offspring during their lifetime (mated: 63.8 ± 1.4 (mean ± SE), unmated: 71.3 ± 1.3, Table 12). Progeny production decreased with age in a similar ways for both types of females (no significant interaction between AGE and MATING). Offspring sex ratio increased significantly with female age (Figure 36) but was significantly biased toward females on the first day (Table 12b). 23.8% (n=21) of mated females produced only male progeny (at least 5 offspring) during the 5 days preceding their last oviposition (i.e. before death). One mated female laid only male offspring during her lifetime (23 days), and was excluded from the analyses.

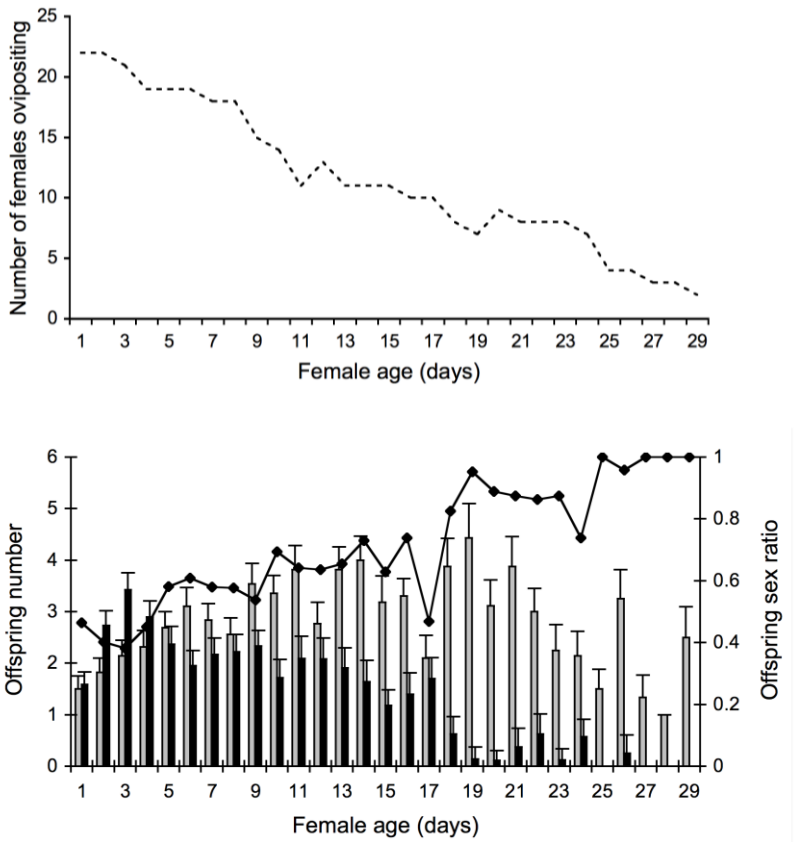


Figure 36. Top panel: mean sex ratio (lines) and mean offspring number +SE (grey bars for males and black bars for females) evolution with female age. Bottom panel: number of mothers producing the observed sex ratio.

Table 12. Generalized Estimating Equation parameter estimates for (a) the effect of female age, mating status (virgin or mated) and the interaction between both, on the daily progeny (assuming a Poisson distribution of residuals) and (b) the effect of female age on daily sex ratio (logistic regression, binomial distributed residuals). The working correlation matrix is exchangeable (correlation (a) 0,27 (b) 0.41) and estimated scale parameter (a) 1.86 (b) 1.88.

Coefficient	Estimation	S.E.	Z	*P-value*
(a) Offspring number				
(intercept)	1.69	0.073	23.21	$<10^{-4}$
Age	-0.04	0.009	-4.88	$<10^{-4}$
Virgin	-0.09	0.116	-0.80	0.42
Age: virgin	0.017	0.012	1.45	0.14
(b) Sex ratio				
(intercept)	-0.50	0.264	-1.92	0.05
Age	0.09	0.023	3.67	$<10^{-4}$

Sex ratio response to conspecifics

Mated females did not modify their sex ratio in response to the characteristics of conspecifics (Table 13, $F_{3, 72}$ = 0.17, P = 0.91). Neither the DAY effect ($F_{11, 80}$ = 1.0356 , P = 0.43), nor the interaction between DAY and TREATMENT ($F_{33, 69}$ = 1.06, P = 0.43) were significant. The overall sex ratio (0.40 ± 0.03) was significantly biased towards females (*intercept* = -0.38, *t* = -3.44, P < 10-3). The numerical power analysis (Wilson & Hardy, 2002), showed that the logistic regression analysis used had power of at least 80% of revealing a difference in sex ratio equal or higher than 0.15 between groups.

Table 13. Effect of the previous exposition to conspecifics on mated females' sex ratio (mean ± SE).

Treatments	Sex ratio
Isolated (n = 22)	0.40 ± 0.05
with 3 males (n = 22)	0.39 ± 0.06
with 3 mated females (n = 21)	0.37 ± 0.05
with 3 virgin females (n = 19)	0.43 ± 0.06
All treatment confounded	0.40 ± 0.03

Survival rate of male and female parasitoid larvae

The primary sex ratio can be assessed from the secondary sex ratio because no significant differential survival between the sexes was detected. The estimated survival rate of the immature stages was 71.4 % (n=42) for males and 86.1% (n=36) for females (χ^2=1.66, *d.f.* =1,

P=0.20). Given the estimated female survival, a male survival of 57% would be required to generate a secondary sex ratio of 0.40 from a primary sex ratio of 0.5. The corresponding binomial test appraising the discrepancy between male and female survival rates has a power of 82%.

Discussion

According to the Godfray (1990) model when *p*, the proportion of females constrained to produce only male progeny, is not null in a population, unconstrained females should bias their sex allocation toward females to compensate for the excess of males. Females are expected to adjust their sex ratio in response to local (i.e. temporal or geographical) variation in p. In agreement with the predictions of the model, unconstrained *V. canescens* females caught in the field and females bred in the laboratory produced a sex ratio biased toward females. Because male offspring do not suffer higher mortality during larval development, the observed bias in secondary sex ratio cannot be explained by differential mortality. In natural conditions, as assumed in the CM, both constrained and unconstrained females search for host patches and have similar oviposition rates under laboratory conditions. We showed that conspecifics are not a source of information used by *V. canescens* to assess the proportion of constrained females. Indeed, mated females did not modify their sex ratio after an experience with conspecific males or females, regardless of whether the females were mated or not.

The lack of statistical significance could result from an experimental design unable to detect existing differences. However, power analysis showed that the sample sizes used allow to detect at least a difference in sex ratio of 15%, with a power efficiency equal or greater than 80%. The absence of sex ratio manipulation in response to conspecifics could result from the inability of V. canescens females to recognize them. This seems, however, unlikely because *V. canescens* thelytokous individuals use volatile chemical cues to avoid conspecifics at a distance while searching for suitable host patches (Castelo et al., 2003). Moreover, other parasitoid species, conspecifics are known to provide relevant information when exposed to conspecifics previous to oviposition as in our experiments (Strand, 1988 ; King, 1996 ; Ode et al., 1997). It is plausible that *V. canescens* is able to perceive conspecifics but that the information they convey in the context of sex ratio decisions is not suitable, for instance if encounters with females are rare events. This is an issue that merits further consideration as the sex ratio response of parasitoids may be determined by indirect information related to

presence of other females, like encounters with parasitized hosts (Werren, 1980; van Welzen & Waage 1987; Luck et al., 2001).

Empirical support for sex ratio manipulation in accordance with Godfray's (1990) constrained model is scarce. To our knowledge, no study to date demonstrated that the number of encounters with conspecifics could be used by unconstrained females to assess the frequency of constrained females in a natural population. No response to male conspecifics has been observed under laboratory conditions with *Bracon hebetor* (Ode et al., 1997), *V. canescens* (this study) or *Spalangia endius* (King, 2002). *Spalangia cameroni* females exhibit increasing sex ratios when they oviposit in the presence of males, but according to King (1996) their response to conspecific mated females was more consistent with Local Mate Competition (Hamilton, 1967). Sex ratio shifts in response to the presence of virgin or mated females have been observed in some parasitoid species (Werren, 1984; Ode et al., 1997; King, 2002; King & D'Souza, 2004), but not in the direction predicted by the constrained model. Conspecifics are not the only source of cues that parasitoids can use to estimate the proportion of constrained oviposition. For instance, females of *Aphelinus asychis* use the time spent to find a mate to adjust their offspring sex ratio in agreement with theoretical predictions (Fauvergue et al, 1998). Environmental parameters such as temperature, which correlate with mating efficiency, could also be used as cues by females (Godfray & Hardy, 1993).

Even if unconstrained females are unable to adjust their sex ratio to the current proportion of constrained females, they could still produce a biased sex ratio by responding to the mean proportion over evolutionary time (Godfray, 1990). For instance, Ode et al. (1997) failed to demonstrate sex ratio adjustment to local field conditions in *Bracon hebetor* and a sex ratio response to conspecifics in the laboratory in accordance with CM predictions. However, the mean proportion of constrained females explains 60% of the observed deviation between the observed sex-ratio and the expected value at Fisherian equilibrium (0.5). The study of Kranz et al (2000) on a gall-inducing thrips (*Kladothrips rugosus*) is to our knowledge the only study based on field-sampling which is in complete quantitative agreement with the CM. The population sex ratio of this thrips species is not different from 0.5, and virginity levels (24%) are high enough to explain the mean sex ratio produced by mated females (0.36 ± 0.02).

The observed proportion of constrained females in *V. canescens* falls within the range of values reported for haplodiploid insects, i.e., from 0% to 29% (reviewed by Godfray & Hardy 1993; Hardy & Godfray, 1990; West et al. 1998, Ode et al., 1997). However, only 24% of the sex-ratio produced by unconstrained females in the Valence population would be explained

by the CM (with p = 0.07 the predicted deviation from 0.5 is equal to 0.038 whereas the observed deviation is 0.16) and would be not explained at all for the Nice population. Thus, unless the proportion of constrained females is strongly underestimated in our samples, constrained oviposition does not fully explain the observed sex ratio bias. In fact, the *p* parameter used in Godfray's formula is the rate of constrained oviposition in the population. This parameter can be assessed directly from the proportion of constrained females in the population only if constrained and unconstrained females have an equal number of offspring (Godfray, 1990) and if they are not engaged in activities other than oviposition, such as searching for mates, when they are trapped (Godfray & Hardy, 1993). Both conditions were fulfilled in our work but we cannot exclude sampling bias due to other factors such as the weather conditions in the dates of capture or too limited sample size.

The constraint to produce only male offspring might result from physiological mechanisms in *Venturia canescens*. As in many parasitoid species (King, 1987; Fauvergue et al., 1998; Perng and Liu, 2002; Cheng et al, 2004), the proportion of males among the progeny increases with the mother's age. This increase may be caused by gradual sperm depletion over time since mating (Chevrier & Bressac, 2002; Damiens et al., 2003). In our experiment, 24% of mated females produced full male progeny during the 5 days preceding their last oviposition. Consequently, sperm depletion, which can be the principal cause of constrained oviposition in some species (e.g. *Bracon hebetor*, Ode et al., 1997), could also lead to constrained oviposition in *V. canescens*. Nevertheless, the frequency at which females become sperm depleted or remain virgin in field conditions is still unknown.

Processes other than an adaptive response to the excess of males produced by constrained females could explain or contribute to the female-biased sex ratio observed in *V. canescens*. The Godfray (1990) constrained model is grounded on Fisher's principle (Fisher, 1930). Therefore, violations of any of its assumptions, such as random mating (Hamilton, 1967) or equal fitness variation for the two sexes when there is environmental heterogeneity (Trivers & Willard, 1973; Charnov, 1979), could also explain a sex ratio bias. Indeed, even if solitary habits, host distribution and sex determination mode of *V. canescens* suggest a random mating system instead of copulation between offspring of a limited number of females at their emergence site (see introduction), we cannot exclude completely that partial local mate competition or local resource competition also occur in this system. For instance, when females disperse more frequently than males after emergence, the optimal sex ratio can be female-biased (Bulmer, 1986), even in the absence of sib-mating (Bulmer & Taylor, 1980;

Ode et al., 1998). Consequently, other investigations including estimation of field sex ratio, population structure and dispersal behaviour would be useful in explaining the female-biased sex ratio in the solitary parasitoid *V. canescens*. Our study contributes to the understanding of the different cues that are used to adjust sex ratio and is a part of an effort to improve the understanding of constrained oviposition in sex ratio evolution.

We thank Xavier Fauvergue for his helpful comments upon the first draft of the manuscript. Thank also to Annie Heizmann and François Debias for technical help in rearing. Isabelle Amat, Marlène Goubault, Bethia King, Paul Ode and two anonymous reviewers provided useful remarks on this manuscript.

3.2. La fréquence de ponte influence-t-elle la sex-ratio ?

Nous avons montré précédemment que la sex-ratio produite par les femelles est généralement biaisée en faveur des filles chez *V. canescens.* La proportion de femelles contraintes dans les populations naturelles n'explique pas de façon satisfaisante le biais observé (Metzger et al., 2008). En plus des hypothèses adaptatives alternatives au CM qui seront discutées dans la dernière section de cette thèse, d'autres sources de biais restent à explorer.

Le mode de reproduction haplo-diploïde des hyménoptères permet potentiellement aux femelles de choisir le sexe de leur descendance en contrôlant l'ouverture de la spermathèque et donc la fertilisation des œufs. Cependant, afin de réduire les risques de non fertilisation des œufs, ce sont plusieurs spermatozoïdes qui doivent en réalité être relâchés pour chaque œuf fertilisé, par exemple chez l'abeille domestique (Ratnieks & Keller, 1998). N'allouer en moyenne qu'un spermatozoïde pour féconder un œuf revient à prendre un risque de élevé de pondre un œuf non fécondé : sous l'hypothèse que le nombre de spermatozoïde atteignant un œuf suit une loi de Poisson, la probabilité de ne pas fertiliser un œuf est alors de exp(-1) = 0,368 (Ratnieks & Keller, 1998). Or, comme le nombre de spermatozoïdes relâchés par œuf est plus grand que 1, la fécondation d'un œuf n'est pas nécessairement un évènement indépendant de la ponte précédente. Au contraire, la fécondation pourrait avoir lieu « par erreur », sans ouverture de la spermathèque, lorsque deux pontes sont très rapprochées et que les œufs se suivent dans les voies génitales femelles. Nous avons donc supposé que la surproduction de filles observées chez *Venturia canescens* pourrait être due à un mauvais contrôle de la sex-ratio par les femelles qui serait provoqué par une fréquence de ponte élevée. Une expérience préliminaire a été réalisée afin de tester cette hypothèse d'un effet de la fréquence de ponte sur la sex-ratio.

3.2.1. Matériels et méthodes

Des femelles accouplées, nourries et âgées de 3 jours ont été mises en contact avec 20 hôtes afin de simuler soit une fréquence élevée, de ponte soit une fréquence faible. Dans le scénario de fréquence élevée les femelles ont à disposition les 20 hôtes durant 90 min (1 hôte toutes les 4,5 min, n = 9). Dans le scénario de fréquence faible, chaque femelle rencontre un patch de deux hôtes pendant 5 min toutes les 20 minutes et cela à 10 reprises (soit un hôte toutes les 23 minutes, n = 5). Les patchs étaient préparés une semaine à l'avance à partir de larves hôtes au 3ème stade larvaire placés dans des boîtes de Pétrie (fréquence élevée, 8,7 cm

de diamètre et fréquence faible, 3,5 cm). Le nombre de descendants par femelle et la proportion de mâles dans la descendance ont été mesurés.

3.2.2. Résultats

Le Tableau 14 présente l'ensemble des résultats obtenus. Les femelles ayant produit plus de 5 fils et aucune fille sont supposées contraintes et sont donc exclues de l'analyse. Le nombre moyen de descendants par femelle ne dépend pas de la fréquence de ponte ($F_{1,12}$ = 0,22, p = 0,75). En revanche, la proportion de filles produites par l'ensemble des femelles ayant eu une fréquence de ponte élevée (groupe 1) est significativement plus importante que celle produite par les femelles ayant eu une fréquence de ponte faible ($F_{1,12}$ = 10,02, p = 0,006). Cette proportion est biaisée en faveur des filles tandis que l'autre est biaisée en faveur des mâles.

Tableau 14. Résultats de l'expérience portant sur la fréquence de ponte.

Résultats	Fréquence de ponte	
	Elevée	Faible
Nombre de mères testées	n = 9	n = 5
Nombre total de descendants :		
- Femelles	39	21
- Mâles	21	9
Nombre moyen de descendants par femelle	6,67	6
Nombre de descendants moyen.min^{-1}	0,074	0,026
Sex-ratio de l'ensemble des femelles	0,35	0,7

3.2.3. Conclusion et perspectives

Conformément à nos prédictions, il semble que la sex-ratio produite par les femelles dépende de la fréquence de ponte : la proportion de filles produites par les femelles est plus faible lorsque la fréquence des pontes est faible. Cependant, compte tenu du faible nombre de femelles testées, les résultats seraient à confirmer.

Pour tester le réalisme physiologique de l'hypothèse que des fécondations « accidentelles » sont responsables du biais de sex-ratio observé, nous pourrions commencer par évaluer le ratio du nombre de spermatozoïdes relâchés par œufs. Pour cela, il faudrait estimer le nombre moyen de spermatozoïdes stockés par des femelles et le nombre total de filles produites au cours de la vie. Ce nombre maximal de filles est atteint lorsque la spermathèque est vide. Dans l'article précédent, nous avons estimé qu'environ 25% des femelles étaient contraintes au moment de leur mort (sont considérées comme contraintes les

femelles n'ayant produit que des mâles les 5 jours précédents leur mort), soit 5 femelles seulement ayant épuisé leurs réserves de spermatozoïdes. Le nombre maximal de filles produites par l'une de ces femelles était de 56 ce qui est le nombre maximal de filles produites toutes femelles confondues. Dans une expérience préliminaire, nous avons montré que le nombre moyen de spermatozoïdes stocké par les femelles est de 300 environ (n = 9) pour des femelles accouplées avec des mâles dont l'âge et l'expérience n'ont pas été contrôlés (données acquises en collaboration avec Christophe Bressac de l'université de Tours). Le ratio minimal se situe donc autour de 5 spermatozoïdes disponibles pour un œuf fécondé, ce qui est assez peu comparé à l'abeille (75 à 100) mais reste dans l'ordre des valeurs connues pour les parasitoïdes. Ainsi, chez le parasitoide *Eupelmus orientalis*, ce ratio est estimé à 10 spermatozoïdes « utilisés » pour fertiliser un œuf (Bressac & Chevrier, 1998). A l'inverse, l'efficience d'utilisation des spermatozoïdes peut être très élevé comme chez *Dinarmus basalis* où le rapport entre le nombre de filles produites et le nombre de spermatozoïdes stockés est proche de 2 (Chevrier & Bressac, 2002).

Les variations de la sex-ratio avec la fréquence de ponte pourraient être expliquées par une hypothèse alternative car la fréquence de ponte n'est pas la seule variable qui diffère entre les deux lots de femelles. En effet, le nombre d'hôtes disponibles par minute, et donc la perception que l'animal a de la richesse de son environnement, varient également. Or, les femelles pourraient avoir intérêt à réduire la proportion de filles produites lorsque le milieu est pauvre en hôtes, afin de réduire la compétition pour l'accès aux ressources (Local ressource competition, (Clark, 1978)). Cette information perçue par les femelles parait indissociable de leur fréquence de ponte, c'est pourquoi seules des observations physiologiques recherchant des spermatozoïdes viables qui persisteraient dans les oviductes d'une femelle après une ponte permettront de rejeter ou d'accepter l'hypothèse d'une cause « accidentelle » au biais de sex-ratio mesuré en condition de laboratoire. Il serait aussi intéressant de mesurer la séquence de ponte afin de vérifier s'il existe effectivement une corrélation entre les pontes d'œufs fertilisés.

Pour mesurer la sex-ratio dans l'article III nous avions fourni aux femelles des quantités d'hôtes importantes afin de réduire les risques de superparasitisme (présentation simultanée de 30 ou 60 hôtes accessibles). Les femelles doivent avoir une fréquence de ponte bien plus élevée lors de nos expériences que la fréquence réelle de rencontre des hôtes et donc de ponte en conditions naturelles. En effet, la distribution des hôtes dans la nature ne permet pas d'imaginer que les femelles puissent parasiter plusieurs hôtes en succession rapide. Les

hôtes disponibles ne sont pas agrégés : ils sont contenus dans des fruits et donc difficilement accessibles à l'ovipositeur de la femelle, et un même fruit contient habituellement un ou deux hôtes (Driessen & Bernstein, 1999).

3.3. Les coûts associés à l'insémination peuvent-ils expliquer l'augmentation de la sex-ratio avec l'âge des femelles ?

Il n'est pas rare chez les hyménoptères parasitoïdes que la proportion d'œufs non fertilisés augmente avec l'âge des femelles, les femelles les plus âgées ne produisant plus que des mâles (revue par King, 1987 ; voir aussi Cheng et al., 2004;). L'explication admise dans la littérature est que cette augmentation de la sex-ratio avec l'âge serait le résultat de l'épuisement ou de la dégradation des réserves de spermatozoïdes, c'est-à-dire d'une contrainte fonctionnelle (King, 1987). Or, les modifications de la sex-ratio au cours de la vie pourraient aussi attester d'une stratégie de gestion active des stocks de spermes par les femelles. Cette explication alternative repose sur l'hypothèse que stocker et maintenir vivant des spermatozoïdes pourraient être coûteux d'un point de vue énergétique pour les femelles. Dans ce cas, les femelles devraient utiliser les spermatozoïdes stockés le plus rapidement possible après l'accouplement, ce qui revient à produire le plus de filles au début de la vie quand l'énergie est moins « comptée » qu'à la fin de la vie. Si une telle stratégie est adoptée, le coût du stockage devrait être suffisamment important pour se traduire par une réduction de la longévité et/ou de la fécondité des femelles accouplées par rapport aux femelles vierges. Une réduction de la longévité et/ou de la fécondité avec l'accouplement a été observé chez plusieurs espèces de parasitoïdes (Carpenter, 1995 ; Cheng et al., 2004 ; Kopelman & Chabora, 1982 ; Nishimura, 1997 ; Pérez-Lachaud & Hardy, 1999 ; mais voir Perng & Liu, 2002).

Précédemment, nous avons montré : (1) que la sex-ratio augmentait au cours de la vie chez *Venturia canescens*, allant jusqu'à l'épuisement des réserves de spermatozoïdes pour environ 25% des femelles, (2) que les femelles vierges et accouplées produisaient le même nombre de descendants au cours de la vie (Metzger et al., 2008). Ces résultats ne représentent qu'une partie des résultats obtenus dans l'expérience décrite ici. L'autre objectif de cette étude était de mettre en évidence un effet de l'accouplement sur la survie des femelles, première étape vers un test de l'hypothèse de la stratégie active de gestion des stocks.

3.3.1. Matériels et méthodes

La longévité d'un groupe de femelles accouplées et d'un groupe de femelles vierges a été mesurée (n = 48 femelles par groupe). La moitié des femelles vierges et la moitié des femelles accouplées ont été privées d'hôtes jusqu'à leur mort alors que les autres ont eu la possibilité de pondre chaque jour (15 hôtes pendant 30 min). Toutes les femelles sont gardées dans des tubes individuels sans nourriture (70 × 30 mm) dans des conditions constantes (DL 14:10, 26±1°C, 70±10% RH). Selon son appartenance au groupe qui obtient des hôtes ou qui est privé d'hôte, chaque femelle est transférée pendant 30 min par jour depuis son tube à un boîte contenant un patch d'hôtes ou à une boîte vide de mêmes dimensions (10 × 10 cm). Les femelles sont nourries une fois par jour avec une goutte de miel mis à leur disposition pendant 30 min. Le suivi de la mortalité a lieu trois fois par jour à 9h, 14h et 19h, c'est-à-dire au début, au milieu et à la fin de la photopériode. L'âge des femelles à leur mort est donc estimé par l'heure médiane entre deux observations consécutives (11h30, 16h30 et 2h).

L'effet du statut (vierge/accouplée), de la ponte (oui/non) et de l'interaction entre ces deux facteurs sur la survie des femelles ont été analysés à l'aide d'un modèle de Cox (Cox, 1972). Le risque instantané de mourir ($\lambda(t,z)$), défini comme la probabilité de mourir par unité de temps, est estimée par $\lambda_o(t) \times \exp(\sum_{i=1}^{p} \beta_i z_i)$, avec t l'âge de la femelle, $\lambda_0(t)$ le risque instantané pour le groupe témoin (toutes les co-variables sont égales 0, risque non spécifié dans le modèle), Z un vecteur de p co-variables et β_i les coefficients de la régression estimant la contribution relative des co-variables. Les β_i sont estimés par la méthode du maximum de vraisemblance. La sélection du modèle s'effectue par itérations successives de tests de rapport de vraisemblance. Dans notre cas, comme à chaque fois que les z_i ne prennent que deux valeurs possibles (témoin/traitement), le rapport des risques instantanés des individus du groupe traité par rapport au groupe témoin ou *hazard ratio* (*HR*) vaut exp(β_i). Si $HR > 1$, le traitement (ici l'accouplement ou le fait de pondre) augmente le risque instantané de mourir (la survie diminue). Un test de Wald est utilisé pour tester la significativité des coefficients β_i. La taille des femelles n'a pas été prise en compte comme facteur dans l'analyse car elle a bien été randomisée entre les traitements (ANOVA1, $F_{3,89}$ = 0,34, P = 0,79). Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le package *Survival* du logiciel R (R Development Core Team, 2007).

3.3.2. Résultats

L'accès aux hôtes réduit significativement la survie des femelles (Figure 37, *HR* = 3,05, *p* = 0,003). D'autre part, la durée de vie des femelles accouplées n'est pas significativement différente de celle des femelles vierges (*HR* = 0,623, *p* = 0,140) et l'interaction entre la ponte et l'accouplement n'est pas significative (χ^2 = 0,82, *p* = 0,365).

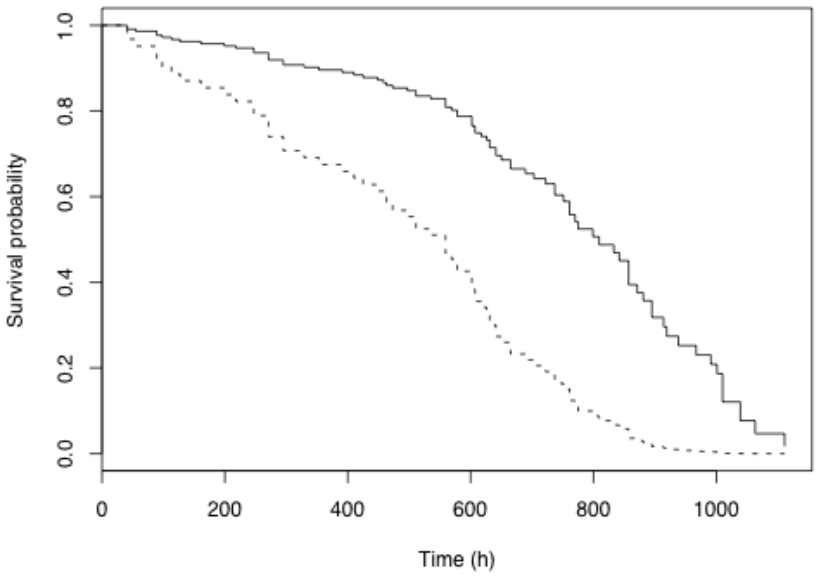


Figure 37. Courbes de survie de *V. canescens* en fonction des deux traitements concernant les hôtes : «sans hôte» en trait plein et « avec hôte » en trait pointillé. Les courbes sont calculées en utilisant les résultats provenant du modèle de Cox représentant le mieux les données.

3.3.3. Discussion

L'accouplement n'a pas d'effet sur la survie des femelles, comme il n'avait pas d'effet sur leur fécondité réalisée (Metzger et al., 2008). Il semblerait donc, qu'au moins dans les conditions de laboratoire, l'accouplement ne soit pas coûteux pour les femelles chez *V. canescens.* Par conséquent, l'hypothèse que l'augmentation de la sex-ratio avec l'âge correspondrait à une stratégie d'utilisation des spermatozoïdes en début de vie afin de réduire les coûts du maintien des spermatozoïdes à l'état viable n'est pas valide chez *V. canescens*.

Peu d'études se sont intéressées à la fois aux variations de la sex-ratio au cours de la vie et aux effets de l'accouplement sur la survie et la fécondité des femelles. Chez *Cephalonomia tarsalis,* la sex-ratio augmente avec l'âge et de manière identique quel que soit le nombre d'accouplement initial. La survie des femelles *C. tarsalis* diminue avec le nombre d'accouplements (Cheng et al., 2004), ce qui indiquerait un coût possible à l'accouplement chez cette espèce. Cependant, il a été montré que la plus grande survie des femelles vierges

pouvait s'expliquer par une stratégie de recherche d'hôtes plus économique que celle des femelles accouplées (Nishimura, 1997 ; Pérez-Lachaud & Hardy, 1999). La fécondité des femelles n'étant pas modifiée par l'accouplement chez *C. tarsalis*, l'hypothèse que les différences seraient dues à des stratégies de pontes différentes entre les femelles vierges et accouplées peut être exclue (Cheng et al., 2004). Le coût énergétique de la monte et/ou la nocivité des substances transmises par les mâles avec leur fluide séminal (pour une revue voir Arnqvist & Nilsson, 2000 ; Poiani, 2006) sont d'autres causes possible de différence entre femelles vierges et accouplées. Ainsi, Baer et al. (2006) ont montré chez les fourmis que l'accouplement en lui-même avait un coût immunitaire pour les femelles et que ce coût était proportionnel à la quantité de spermatozoïdes stockés et au nombre de partenaires sexuels.

Pour conclure, je me dois d'avancer ici des arguments biologiques en défaveur de mon hypothèse d'un fonctionnement de la spermathèque représentant un coût énergétique proportionnel à la quantité de spermatozoïdes stockés. D'un point de vue anatomique, chez les parasitoïdes, la spermathèque est un organe petit et peu aéré par les trachées et en communication surtout avec le système nerveux, ce qui est très différent des ovaires (d'après Christophe Bressac, IRBI Tours). D'autre part, même si son fonctionnement histochimique est mal connu chez les insectes, il semblerait que la majorité des substances sécrétées par les cellules épithéliales et les structures glandulaires associées aient davantage une fonction dans le conditionnement des spermatozoïdes et la régulation osmotique (Fritz & Turner, 2002) qu'une fonction de « nourrissage » (hypothèse de Solinas et Nuzzaci 1984). De plus, les spermatozoïdes ont probablement un métabolisme réduit pendant le stockage. Des polysaccharides (glycogène), mobilisés d'un point de vue cellulaire chez les femelles vierges, sont secrétés chez les femelles accouplées par les conduits spermatiques, et serviraient à la reprise d'une activité aérobie juste avant la fécondation (Schoeters & Billen 2000, chez une mouche des fruits; Fritz & Turner, 2002 chez le bourdon). Il me semble donc que l'idée avancée au départ est peu réaliste et que le coût du maintien des spermatozoïdes dans la spermathèque ne peut pas expliquer le biais de sex-ratio observé en début de vie chez *Venturia canescens* comme chez de nombreuses autres espèces de parasitoïdes (King, 1987).

Section 3. Discussion générale

L'objectif de ma thèse était d'identifier et de déterminer le rôle des différentes informations impliquées dans les prises de décisions liées à l'acquisition des partenaires d'un partenaire sexuel et au choix du sexe de sa descendance. Le modèle biologique utilisé est l'hyménoptère parasitoïde solitaire *Venturia canescens*. Les causes évolutives des comportements observés pendant la séquence d'appariement chez les deux sexes et de l'allocation aux sexes par les femelles ont donc été envisagée à travers le prisme de l'utilisation de l'information. J'ai choisi de tester si les conspécifiques, ou les indices liés à la présence de conspécifiques, constitueraient une source d'information utilisée dans cette séquence d'appariement. La justification de ce point de vue sur les questions évolutives réside dans le fait que bons nombres de modèles théoriques verbaux ou mathématiques, qui portent sur les stratégies d'acquisitions des partenaires ou sur l'allocation aux sexes, prédisent le plus souvent que, pour un individu, la valeur sélective d'une décision dépendra en grande partie des contraintes subies et des décisions prises par ses conspécifiques. En plus de ces informations externes, je me suis aussi intéressée à l'effet que pourrait avoir des facteurs liés à l'individu décideur, comme le statut d'accouplement ou le temps passé avant l'accouplement. Ces facteurs peuvent d'ailleurs être considérés comme des informations d'origine interne (Lucchetta et al., 2007). J'ai supposé que l'effet des combinaisons d'informations internes et externes pourrait être différent de la somme de leurs effets pris séparément et je me suis donc attachée à tester l'effet des combinaisons d'informations sur le comportement. Enfin, parce que depuis longtemps les écologues du comportement étudient la valeur adaptative des comportements dans l'univers des possibles, les différentes contraintes et les sources de biais pesant sur les prises de décisions ont aussi été abordées.

Ainsi, je me suis d'abord intéressée à l'implication des mâles et des femelles dans l'effort d'acquisition des partenaires sexuels et j'ai montré que des indices olfactifs émis par les femelles sont utilisés par les mâles pour les localiser. Ce résultat classique est doublé d'une spécificité originale : associées avec des hôtes, les femelles deviennent plus attractives pour les mâles que lorsqu'elles sont seules, ce qui suggère qu'afin d'augmenter leur efficacité de recherche, les mâles combineraient les informations liées aux femelles avec celles liées à leur habitat. Un résultat secondaire mais essentiel dans la compréhension des stratégies de reproduction, a été de montrer que les femelles sont monogames alors que les mâles sont probablement polygynes.

Concernant le choix du partenaire sexuel, j'ai montré que les accouplements entre frères et sœurs sont évités chez *V. canescens*, une espèce pour laquelle de tels accouplements

conduisent à la production de mâles diploïdes sans valeur sélective. Pour réduire le risque d'incompatibilité génétique avec les mâles, je propose que les femelles évitent leur frère en se basant sur des indices olfactifs portés par les mâles et en les comparant avec leur propre odeur.

Enfin, j'ai montré que des contacts préalables avec des conspécifiques mâles et femelles vierges ou accouplés ne semblent pas constituer une information pertinente pour l'ajustement de la sex-ratio de leur descendance par les femelles. La sex-ratio mesurée est biaisée chez *V. canescens* mais la proportion de femelles contraintes en conditions naturelles est trop faible pour expliquer plus qu'une petite partie du biais observé. En revanche, ce biais observé en faveur des femelles pourrait s'expliquer davantage par i) une contrainte physiologique, c'est-à-dire un contrôle imparfait de la fertilisation des œufs dans certaines conditions de ponte, ou ii) par un ajustement aux conditions de compétition qu'expérimenteront les descendants.

Dans la discussion qui suit, je ne reviendrai pas davantage sur les résultats énoncés ci-dessus car ils ont été discutés dans chacun des chapitre de la section consacrée aux résultats, ni sur les perspectives propres à chaque article et présentées dans leur discussion, ou dans les parties suivants, ces manuscrits. L'annexe D propose un tableau résumant l'ensemble de ces résultats et perspectives.

La discussion générale sera organisée de la façon suivante. Je commencerai par discuter du système d'appariement et des hypothèses évolutives au biais de la sex-ratio observé chez *V. canescens*. Ce biais de la sex-ratio ayant été le point de départ de ma thèse, les résultats méritent d'être discutés en relation aux résultats acquis par la suite afin de mettre en avant ce qu'ils nous ont appris sur les stratégies de reproduction. Puis, je pointerai les avantages et les limites du point de vue adoptée au cours de cette thèse, qui pour rechercher les causes ultimes des comportements, s'est concentrée sur l'utilisation de l'information et les contraintes physiologiques. Cette discussion se terminera sur les apports et perspectives générales de la thèse.

1. SYSTEME D'APPARIEMENT ET CAUSES EVOLUTIVES DU BIAIS DE SEX-RATIO CHEZ *V. CANESCENS*

1.1. Quel système d'appariement pour *V. canescens* ?

Le système d'accouplement de *V. canescens* serait de type polygyne avec des femelles n'acceptant qu'un seul accouplement et des mâles pouvant chacun fertiliser plusieurs femelles (la capacité d'insémination et la dynamique de production des spermatozoïdes restent à déterminer)(article I). En raison de la distribution non-agrégative des hôtes (Driessen & Bernstein, 1999) (Schneider, 2003), du mode de développement larvaire solitaire et du coût des accouplements consanguins (Beukeboom, 2001), nous avons supposé que les accouplements ne pouvaient pas avoir lieu à proximité immédiate de l'hôte d'émergence, et qu'ils devaient donc s'effectuer après un rapprochement des partenaires. Nous avons montré que ce sont les mâles qui opèrent ce rapprochement. Ils sont aidés dans leur recherche par un indice phéromonal volatile émis par les femelles. Les femelles sont plus attractives lorsqu'elles sont sur les patchs d'hôtes mais les hôtes seuls ne sont pas attractifs pour les mâles (article I). Ces résultats suggèrent que les mâles n'effectuent pas de recherche spécifique des sites de pontes et donc pas de gardiennage de ces sites, mais qu'ils y rejoignent les femelles. La stratégie des mâles pour acquérir les femelles serait donc du type course pour l'accès aux partenaires sexuels, et non une stratégie de type « défense des ressources ».

En raison de la monoandrie, la stratégie consistant à localiser les femelles vierges le plus rapidement possible après leur émergence devrait être la plus rentable pour les mâles (Godfray & Cook, 1997). De plus, la réceptivité et/ou l'attractivité des femelles diminue rapidement par rapport à leur espérance de vie : 4 jours après l'émergence, la proportion de femelles s'accouplant diminue de 50% par rapport au lendemain de l'émergence (article II) alors que la durée de vie moyenne est d'une vingtaine de jours en laboratoire (section résultats, chapitre 3, partie 3.3). Ce résultat suggère qu'un système de rapprochement rapide et efficace a du être sélectionné. Les sites d'émergences des femelles sont donc aussi des sites potentiellement favorables aux rencontres, à condition qu'elles ne dispersent pas immédiatement après leur émergence et qu'elles émettent des volatiles dès l'émergence. La persistance des kairomones larvaires sur des hôtes parasités pourrait aussi augmenter l'efficacité de recherche des mâles. Pour valider l'hypothèse que les rencontres ont lieu principalement sur les sites de ponte des femelles, il faudra donc vérifier que les femelles quittent leur lieu de naissance immédiatement après l'émergence et que ces femelles vierges

sont autant attirées par les hôtes que les femelles accouplées. Nous avons émis cette deuxième hypothèse car en laboratoire, le taux de ponte est équivalent entre les deux types de femelles (article III). Cependant, ce résultat n'est pas une garantie que le comportement de recherche des hôtes des femelles soit indépendant de leur statut d'accouplement.

Si les femelles vierges recherchent effectivement autant les hôtes que les femelles accouplées, alors le taux de capture des femelles contraintes est représentatif de la proportion de femelles contraintes dans la population (article III). Ce faible taux montre que les femelles ne resteraient pas vierges longtemps.

1.2. La sex-ratio biaisée en faveur des femelles peut-elle s'expliquer par des accouplements locaux partiels ?

Le biais de sex-ratio observé (article III) suggère des populations structurées où les mâles et les femelles s'accoupleraient sur leur lieu de naissance sans avoir à disperser. En effet, l'explication classique aux biais de sex-ratio en faveur des filles est que, dans les populations structurées en groupes locaux d'accouplement, les femelles maximisent leur valeur sélective en produisant davantage de filles que de fils, ce qui revient pour une femelle : (1) à augmenter le nombre de sœurs avec lesquelles ses fils vont pouvoir s'accoupler, (2) à réduire la compétition entre ses fils pour l'accès aux autres femelles (non-sœurs) (Hamilton, 1967 ; Nunney & Luck, 1988 ; Taylor, 1981).

Mes travaux montrent que les accouplements entre frères et sœurs sont évités (article II), ce qui suppose que la probabilité de se rencontrer entre descendants d'une même femelle n'est pas négligeable. L'évitement des accouplements frères-sœurs n'exclue pas la possibilité d'accouplement locaux. En effet, les femelles peuvent toujours avoir intérêt à biaiser leur sex-ratio en faveur des filles pour réduire la compétition entre ses fils pour l'accès aux femelles non-sœurs. D'après le modèle de LMCL, la sex-ratio attendue tend vers l'équilibre de Fisher quand le nombre de fondatrices augmente (Hamilton, 1967). Le biais de sex-ratio observé chez *V. canescens* pourrait s'expliquer uniquement si les mâles et femelles s'accouplant localement sont les descendants d'un petit nombre de femelles (voir synthèse bibliographique).

Pour pouvoir tester l'hypothèse d'accouplements locaux, la connaissance de la distribution spatiale des hôtes, de la distribution spatio-temporelle des pontes et de la distribution temporelle des émergences sont nécessaires. Chez *V. canescens*, nous sommes, pour le moment, limités à des conjectures (voir p165, introduction de l'article III). Cependant,

même en faisant abstraction de ces lacunes, le réalisme biologique de l'hypothèse des accouplements locaux reste assez faible en raison de la capacité des mâles à localiser les femelles à distance. De plus, les mâles sont bien équipés pour le vol et leur durée de vie est importante (comparable à celles des femelles, observation personnelle). Il est donc probable qu'ils s'éloignent plus loin que leur groupe de fruits ou que leur arbre de naissance pour chercher des femelles. Or, d'un point de vue théorique, quand les possibilités de s'accoupler hors du groupe d'origine augmente pour les mâles, le modèle de compétition partielle pour l'accouplement prédit que le biais de sex-ratio attendu se réduit rapidement, même pour des petits nombres de femelles fondatrices (Nunney & Luck, 1988). La compétition locale pour les accouplements ne peut donc vraisemblablement pas expliquer l'intégralité d'un biais de la sex-ratio chez *V. canescens* biais qui peut atteindre jusqu'à 30% de mâles (article III).

1.3. Quelles sont les autres causes possibles au biais de sex-ratio chez *V. canescens* ?

1.3.1. Hypothèse de la dispersion différentielle

Nous avons éliminé la mortalité différentielle comme cause possible de biais de sex-ratio secondaire. De plus, la proportion de femelles contraintes à ne produire que des fils dans les populations naturelles ne peut expliquer qu'une faible partie du biais (article III). Mais une autre explication évolutive au biais de sex-ratio, ayant aussi un lien avec les conspécifiques, peut être envisagée.

Le modèle de *LMC* prédit un biais de sex-ratio en faveur des femelles et repose sur l'hypothèse que les frères sont en compétition pour l'accès aux accouplements alors que les sœurs ne sont pas plus en compétition pour les hôtes entre elles qu'avec les autres femelles de la population car elles dispersent après l'accouplement. Le modèle de compétition locale pour les ressources (LRC, Local Ressource Competition Clark, 1978 ; voir aussi Bulmer, 1994 ; Charnov, 1982) prédit un biais de sex-ratio en faveur des mâles, car il suppose à l'inverse que seuls les mâles dispersent pour rechercher des opportunités d'accouplement, alors que les femelles restent en compétition locales pour l'accès aux ressources (quand une seule femelle fonde le groupe, la sex-ratio attendue est même de 1). Bulmer (1986 ; 1980) propose un modèle reposant sur des conditions intermédiaires entre celles du *LMC* et du *LRC*. Dans ce modèle, les deux sexes sont en compétition pour l'accès aux ressources : les femelles apparentées sont en compétitions pour l'accès aux hôtes et les mâles apparentés sont en compétition pour l'accès aux femelles. D'après Bulmer (1986), les femelles devraient biaiser leur sex-ratio en faveur du sexe qui expérimentera le niveau le plus faible de compétition avec ses apparentés pour l'acquisition des ressources, c'est-à-dire le sexe qui dispersera le plus.

Ode et al. (1998) ont proposé que les différences de taux de dispersion entre les mâles et les femelles puissent expliquer la sex-ratio biaisée observée chez l'hyménoptère parasitoïde grégaire *Bracon hebetor*, espèce pour laquelle des accouplements strictement locaux entre descendants d'une même femelle devraient être évités (voir p27).

Concernant la compétition entre les femelles *V. canescens* pour l'accès aux hôtes, nous avons montré qu'elles sont capables de se percevoir à distance, ce qui avait déjà été montré pour les femelles du mode de reproduction asexuée (Castelo et al., 2003). Ces femelles évitent à distance des patchs d'hôtes où la compétition semble très intense. D'autres mécanismes existent pour réduire la compétition entre les femelles : lors de leur exploration des patchs, les femelles déposent des marques chimiques à la surface des patchs, marques sur lesquelles les autres femelles peuvent se baser pour éviter les zones déjà exploitées (montré chez les femelles asexuées Bernstein & Driessen, 1996). Les femelles discriminent aussi les hôtes parasités grâce à une substance chimique déposé en même temps que l'œuf (Hubbard et al., 1987). L'existence de ces mécanismes suggère que la compétition pour l'accès aux hôtes doit être relativement importante entre les femelles chez cette espèce.

Lorsque la disponibilité en hôtes est élevée, c'est-à-dire lorsque la fréquence de ponte est élevée, il semblerait que les femelles biaisent leur sex-ratio en faveur des filles (Section 2 : point 3.2., p152). Une fréquence de ponte élevée pourrait indiquer que la compétition pour l'accès aux hôtes sera réduite entre les filles et qu'il est avantageux d'en produire plus que les mâles. Au contraire, quand les hôtes sont rencontrés plus rarement, il pourrait être avantageux de produire plus de mâles car la compétition entre eux sera moins forte qu'entre les filles pour accéder aux ressources. L'augmentation de la sex-ratio avec la fréquence de ponte chez *V. canescens* devra être confirmée par d'autres expériences. Il faudra aussi vérifier que l'influence de la fréquence de ponte sur la sex-ratio ne s'explique pas par des fécondations accidentelles due à une précision médiocre du contrôle de la sex-ratio chez cette espèce (voir discussion du point 3.2.).

L'autre perspective à ce travail, comme évoqué dans l'article III, est l'étude des comportements de dispersions au moment de l'émergence, études qui devront être complétées par des expériences en conditions naturelles.

1.3.2. Hypothèse de la qualité de l'hôte

L'hôte utilisé pour élever *V. canescens* et pour les expériences, *Ephestia kuehniella*, n'est pas l'hôte le plus fréquent en conditions naturelles : c'est un ravageur de denrées stockées alors que la reproduction sexuée est absente des milieux anthropiques (Amat, 2004). Si ces hôtes sont plus profitables que la moyenne des hôtes généralement disponibles dans la nature, c'est-à-dire que les descendants se développant dans ces hôtes ont une valeur sélective supérieure à la moyenne, les femelles pourraient avoir biaisé la proportion de filles dans leur descendance. En effet, selon le modèle de qualité de l'hôte (Charnov, 1979 ; 1982), lorsque la valeur sélective des mâles et des femelles est affectée différemment par la qualité de l'hôte, les mères ont intérêt à allouer préférentiellement les hôtes de bonnes qualités à leurs filles, puisqu'il est généralement admis que la valeur sélective des mâles est moins affectée par la qualité de l'hôte que celle des femelles (Godfray, 1994). Conformément à ces prédictions théoriques, il a été montré chez de nombreux parasitoïdes, que la sex-ratio était biaisée en faveur des femelles dans les hôtes de grandes tailles (pour une revue voir Godfray, 1994; Ode & Hardy, 2007).

Le modèle de qualité de l'hôte a été souvent testé avec succès chez les parasitoïdes idiobiontes. Une fois parasités, les hôtes ne se nourrissent pas et ne grandissent plus (œufs et pupes). Ainsi, l'hôte au moment de l'attaque représente une quantité de ressource disponible pour le développement de la larve du parasitoïde, qui est fixée et facilement estimable par le parasitoïde (King, 1989 ; West & Sheldon, 2002). Le modèle de qualité de l'hôte est encore soumis à caution chez les parasitoïdes koïnobiontes dont fait partie *V.canescens*. En effet, les koïnobiontes exploitent des stades de développement de leur hôte, qui continuent à se nourrir et à grandir après le parasitisme (larves), et devraient donc en théorie être incapables d'estimer la future valeur de leur hôte au terme de sa croissance. En effet, la qualité dépend, par exemple, de la quantité de nourriture disponible pour l'hôte ou de la température (Bernstein et al., 2002 ; Beukeboom & Pijnacker, 2000). Certaines études menées sur des parasitoïdes koïnobiontes de pucerons et de cochenilles montrent cependant que la sex-ratio varie avec le stade larvaire parasité, et que ces différences d'allocations aux sexes correspondent à des différences de valeur sélective pour les parasitoïdes émergents (Pandey et Singh 1999, Cloutier et al 2000, Bertchy et al 2000).

Chez *V. canescens* (mode de reproduction asexuée), Harvey et Vet (1997) ont montré que l'espèce hôte et le stade larvaire parasité influencent la qualité de l'hôte, mesurable en terme de survie pendant le développement, de durée de développement et de taille du

parasitoïde à l'émergence. De plus, Pelosse et al. (2007) ont montré l'importance des conditions de développement larvaire sur la taille des femelles chez *V. canescens*, la taille étant le facteur explicatif principal aux variations de fécondité/longévité et niveau de réserves énergétiques (notamment celles utilisables pour le vol et la dispersion). Il me semble donc que, malgré les réserves émises plus haut quant à l'opportunité des biais de sex-ratio en lien avec la qualité de l'hôtes chez les koïnobiontes, l'hypothèse d'un choix du sexe de la descendance dépendant de l'espèce hôte mériterait d'être testée chez *V. canescens*. Il sera nécessaire de vérifier les hypothèses du modèle, en déterminant si la valeur sélective des mâles et des femelles est affectée différemment par la qualité de l'hôte (en fonction du stade et de l'espèce d'hôte parasitée).

2. AVANTAGES ET LIMITES DU POINT DE VUE ADOPTE POUR L'ETUDE DES PROCESSUS EVOLUTIFS, L'UTILISATION DE L'INFORMATION

Au cours de cette thèse, j'ai cherché à déterminer quelles sont les informations que les parasitoïdes utilisent pour acquérir un partenaire sexuel et choisir le sexe de leur descendance, à travers l'exemple d'un parasitoïde solitaire, *Venturia canescens*. Les questions classiques de la sélection sexuelle et de l'allocation aux sexes ont donc été envisagées à travers le prisme de l'utilisation de l'information. La variété des questions abordées m'a conduit à adopter ce point de vue qui présente l'avantage de pouvoir être utilisé dans une démarche hypothético-déductive. Ainsi, j'ai par exemple testé simultanément les prédictions théoriques de différents modèles d'évolution de la sex-ratio en m'attachant aux informations sous-jacentes à la prise de décisions. Avant d'exposer les limites du point de vue adopté, j'aimerais souligner pourquoi, d'une manière générale, étudier les informations pour déduire les processus évolutifs sous jacents s'avère être un point de vue pertinent.

Lorsqu'il doit trouver ou choisir un partenaire sexuel, un animal peut théoriquement se baser sur une grande diversité d'informations, l'information pouvant être définie comme toute chose réduisant l'incertitude sur la valeur d'une décision (Danchin et al., 2004). Pour cette raison, nous avons testé les capacités des mâles et des femelles à appréhender simultanément plusieurs sources d'informations internes et externes. L'utilisation de combinaisons d'informations a encore été peu explorée expérimentalement chez les femelles parasitoïdes (mais voir Desouhant et al., 2005 ; Lucchetta et al., 2007) et quasiment jamais chez les mâles (mais voir, Mc Auslane et al., 1990). Ainsi, en montrant que d'autres informations que les signaux sexuels importent, nous avons pu proposer un système d'appariement original pour *V.*

canescens (article I et cette discussion) alors que nous n'avons que très rarement pu voir des mâles en conditions naturelles. Des expériences complémentaires sont en cours pour vérifier que l'utilisation d'une combinaison d'informations explique bien le comportement observé. De même, nous avons montré que les femelles sont capables de se percevoir à distance et que cette perception ne change le comportement que lorsque femelles et hôtes sont associés (voir aussi Castelo et al., 2003), c'est-à-dire que les femelles combinent les informations en provenance des hôtes et des conspécifiques lors de leur recherche des patchs.

Malgré la diversité des informations théoriquement utilisables lors des prises de décisions, la disponibilité et la fiabilité des informations réellement acquises par les animaux peuvent néanmoins limiter leur capacité d'adaptation. Deux méta-analyses sur l'évolution de la sex-ratio à travers différents taxa (mammifères, oiseaux, hyménoptères en général et parasitoide en particulier), ont montré que, lorsque les conditions environnementales sont faiblement prédictibles, c'est-à-dire lorsque la contrainte portant sur l'information est importante, la sélection sur l'intensité de l'ajustement de la sex-ratio serait plus faible que lorsque l'information disponible est fiable (West & Sheldon, 2002 ; West et al., 2005).

Nous avons peu abordé cette question, mais l'acquisition d'information peut également être contrainte par les processus cognitifs mis en œuvre dans les prises de décisions. Les décisions, comme d'autres traits phénotypiques, dépendent des relations phylogénétiques (Blomberg et al., 2002) car les processus cognitifs qui sous-tendent les réponses comportementales sont dépendantes des capacités neurosensorielles des animaux (Tang-Martinez, 2001). En particulier, les capacités d'apprentissage au sens large sont essentielles dans le contexte du comportement sexuel, même chez les insectes (pour une revue voir Dukas, 2006). Nous avons toujours travaillé avec des animaux isolés à l'émergence afin de nous affranchir des mécanismes d'apprentissages. Cependant, cette question de l'apprentissage est tout de même apparue lors du choix du partenaire sexuel : nous avons aussi montré que les femelles reconnaissent leur frère et évitent les accouplements consanguins (article II). Nous avons émis l'hypothèse que les femelles utilisent l'autoréférence au phénotype pour reconnaître la signature chimique portée par leur frère, et éviter ces accouplements qui sont délétères (mécanismes discutés par Hauber et al., 2000 ; Ivy et al., 2005 ; Mateo & Johnston, 2000, 2003 ; Sherman, 1990). Cette réponse comportementale peut paraître exceptionnelle chez une espèce non sociale (Fellowes, 1998). En réalité, elle ne l'est peut-être pas tant, car les études ayant testé cette hypothèse sont assez peu nombreuses (pour une revue voir Pusey & Wolf, 1996 ; voir aussi Facon et al., 2006 ; Enigl & Schausberger,

2004) même si l'on considère qu'il existe toujours un biais de publication en faveur des résultats significatifs.

Au cours de cette thèse, j'ai aussi considéré qu'un certain nombre de contraintes physiologiques, autres que neuro-sensorielles, peuvent empêcher les ajustements de la sex-ratio. Ainsi, la fréquence de ponte pourrait être un facteur contraignant la précision de l'ajustement de la sex-ratio si des fécondations accidentelles ont lieu en situation de ponte rapprochée (résultats 3.2). De même, l'épuisement des réserves spermatiques provoque une augmentation progressive de la sex-ratio avec l'âge chez de nombreuses espèces de parasitoïdes indiquant que l'ajustement de la sex-ratio passé un certain âge ne peut pas se faire (Résultats 3.3).

Pour conclure sur l'intérêt d'étudier l'influence des contraintes sur le comportement, il me faut encore souligner que c'est grâce à ce questionnement sur l'acquisition de l'information que le réalisme des modèles théoriques, notamment d'optimisation, a pu être amélioré (Parker & Maynard Smith, 1990). En effet, une partie importante des écarts entre la réalité biologique, c'est-à-dire les réponses ou les traits observées et les prédictions des modèles théoriques (les réponses attendues) s'explique par le fait que les modèles d'optimisations n'intègrent pas toujours ces différentes contraintes liées à l'information dans leurs hypothèses et ont pu parfois considérer les animaux comme ayant une connaissance complète de leur environnement (Parker & Maynard Smith, 1990 ; West & Herre, 2002). Ces écarts s'observent au niveau quantitatif en ce qui concerne les modèles mathématiques faisant ce type de prédictions (modèle d'ESS). Pour West et Sheldon (2002), l'étude des mécanismes d'ajustement de la sex-ratio, qui sont justement contraints par la disponibilité de l'information portant sur les conspécifiques, constituent d'excellentes opportunités d'améliorer nos prédictions théoriques d'un point de vue quantitatif et donc de comprendre complètement le caractère adaptatif d'un trait comme la sex-ratio. Depuis cette proposition, ces mêmes auteurs, mais d'autres également, ont effectivement montré qu'une partie de la variation observée entre les réponses des femelles et la théorie pouvait s'expliquer par l'importance cruciale des contraintes liées à l'information dans l'ajustement de la sex-ratio (Shuker & West, 2003 et références à l'intérieur).

Le point de vue principalement adopté au cours de cette thèse, c'est-à-dire le test des prédictions théoriques en examinant les réponses comportementales à différentes informations, a néanmoins des limites. La première de ces limites est la grande diversité d'informations utilisables lors des prises de décisions. Or, les modèles théoriques verbaux ou

mathématiques les plus généraux ne font pas d'hypothèses précises quant aux informations utilisées par les animaux pour acquérir la connaissance de leur environnement. L'expérimentateur doit donc choisir les informations qu'il va tester. Dans ces conditions, l'absence de variation de la réponse comportementale ne signifie pas nécessairement que le modèle théorique proposé n'explique pas le comportement observé, car nous avons pu « rater » l'information pertinente. Ainsi, dans le cas du modèle de LMC, le fait de ne pas observer de réponse en présence de femelles n'est pas une preuve que ce modèle ne peut pas expliquer le biais de sex-ratio observé, d'autres informations comme la présence de marques chimiques laissées sur les hôtes ou des mécanismes réduisant la séquence de ponte peuvent aussi être utilisées par les femelles pour ajuster leur sex-ratio (voir synthèse bibliographique, partie 4.3.). Finalement, l'ajustement peut effectivement être impossible en raison d'autres contraintes, ultimes ou proximales, s'opposant à l'acquisition de l'information, comme nous l'avons vu dans la partie précédente. Lorsque les conditions environnementales sont imprévisibles, un comportement « moyen » peut avoir été sélectionné au cours des temps évolutifs (proposé par exemple par Ode et al., 1998, voir aussi article III).

La deuxième limite à l'approche utilisée au cours de cette thèse est qu'elle ne permet pas de tester certaines des hypothèses. Or, tous les modèles théoriques, qu'ils soient verbaux ou mathématiques, font des prédictions qui n'ont de valeurs explicatives que si les hypothèses sur lesquelles ils reposent ont été validés (Parker & Maynard Smith, 1990). Dans le cas de la sex-ratio, nous avons vu à quel point les hypothèses concernant la structure des populations, la dispersion, ou encore l'effet de la qualité de l'hôte sur la valeur sélective relatives des mâles et des femelles, sont fondamentales quand il s'agit d'expliquer les biais. Nous avons été réduits à des conjectures concernant ces différents points, les perspectives proposées devront donc aller dans ce sens de la validation des hypothèses, malgré les difficultés méthodologiques que cela pourrait poser.

3. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Une grande variété de questions évolutives a été abordée au cours de cette thèse, ce qui se justifie essentiellement par le fait que : i) nos connaissances sur les interactions mâles-femelles chez *V. canescens* étaient pratiquement inexistantes au début de la thèse (voir Introdution générale), ii) les différentes étapes des décisions reproductives sont intimement liées, il était donc difficile d'envisager l'étape de choix du sexe de la descendance sans en connaître les étapes précédentes, c'est-à-dire celles de la séquence d'appariement, et inversement.

Pour ces raisons, la recherche des mécanismes d'utilisation de l'information qui sont à l'origine des comportements observés a été quelque peu sacrifiée (voir annexe D pour le détail de ces perspectives). La détermination chimique des différents indices et signaux olfactifs utilisés par les mâles lors du rapprochement, mais aussi peut-être par les femelles, ainsi que les mécanismes de la reconnaissance de parentèle, constituent des perspectives directes à ma thèse, et correspondent à des projets en cours. Des précisions restent également à apporter concernant le système d'appariement (article I et cette discussion générale). Il est essentiel que les résultats obtenus en laboratoire soient complétés et validés par une approche de terrain confirmant que les réponses observées en tunnel de vol sont représentatives des stratégies de recherche des partenaires en conditions naturelles. L'évolution temporelle de la réceptivité des femelles et de l'émission des indices utilisés dans le rapprochement, les mécanismes déclenchant la parade sexuelle et la reconnaissance spécifique, la capacité de la spermathèque, ou encore les comportements de dispersion post-émergence, sont autant de connaissances qui seront utiles pour faire la distinction entre différents scénarii évolutifs concernant l'acquisition des partenaires.

D'autres perspectives s'intéressent moins aux mécanismes proximaux, mais plus aux causes évolutives des comportements. La structure génétique des populations, les capacités de dispersions des mâles et des femelles, ou encore les effets de la qualité de l'hôte sur la valeur sélective en fonction du sexe, constituent des pistes intéressantes à suivre pour expliquer le biais de sex-ratio en faveur des femelles observé chez *V. canescens*. (article III et cette discussion). Les résultats de cette thèse nous interrogent aussi sur l'importance des conséquences des comportements individuels, comme la reconnaissance et l'évitement des accouplements frères sœurs (article II), et sur la dynamique des populations.

Mes travaux soulignent l'importance de s'intéresser aux questions relatives aux choix sexuels comme un ensemble cohérent. Etudier les comportements à travers l'utilisation de l'information lors des prises de décision n'est pas un point-de-vue suffisant pour être conclusif sur les processus évolutifs sous-jacents, s'il n'est pas complété par la recherche d'autres contraintes, notamment physiologiques, ou de connaissances de biologie des populations, qui ne peuvent être abordées que sur le terrain. Cependant, cette thèse montre que déterminer l'importance et le rôle des informations reste un moyen efficace d'aborder ces questions lors d'une première approche. Mieux connaître l'utilisation que les animaux font de l'information reste également un des meilleurs moyens d'améliorer le réalisme biologique de nos prédictions.

Bibliographie

Abe, J., Kamimura, Y., Kondo, N., & Shimada, M. (2003) Extremely female-biased sex ratio and lethal male–male combat in a parasitoid wasp, *Melittobia australica* (Eulophidae). *Behavioral Ecology*, **14**, 34-39.

Abe, J., Kamimura, Y., & Shimada, M. (2005) Individual sex ratios and offspring emergence patterns in a parasitoid wasp, *Melittobia australica* (Eulophidae), with superparasitism and lethal combat among sons. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **57**, 366–373.

Ahmad, T. (1936) The influence of ecological factors on the mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* and its parasite, *Nemeritis canescens*. *Journal of Animal Ecology*, **5**, 67-93.

Alcock, J. (1994) Postinsemination associations between males and females in insects: the mate-guarding hypothesis. *Annual Review of Entomology*, **39**, 1–21.

Alexander, R.D. (1990) Epigenetic Rules and Darwinian Algorithms. The Adaptive Study of Learning and Development. *Ethology and Sociobiology*, **11**, 241-303.

Alexander, R.D. & Borgia, G. (1979). On the origin and basis of the male-female phenomenon. In Sexual Selection and Reproductive Competition in Insects (ed. by M.F. Blum & N.A. Blum), pp. 417-440. Academic Press, New York.

Alexander, R.D., Marshall, D.C., & Cooley, J.R. (1997). Evolutionary perspectives on insect mating. In The Evolution of Mating Systems in Insects and Arachnids (ed. by J.C. Choe & B.J. Crespi), pp. 4-31. Cambridge University Press, Cambridge.

Amat, I. (2004) Coexistence de la reproduction sexuée et asexuée chez l'hyménoptère parasitoïde *Venturia canescens* : Aspects comportementaux et écologiques, Université Claude Bernard - Lyon 1, Lyon.

Andersson, M. (1994) Sexual selection Princeton University Press, Princeton.

Andersson, M. & Simmons, L.W. (2006) Sexual selection and mate choice. *Trends in Ecology & Evolution*, **21**, 296-302.

Antolin, M.F. (1999) A genetic perspective on mating systems and sex ratios of parasitoid wasps. *Researches on Population Ecology*, **41**, 29-37.

Antolin, M.F. & Strand, M.R. (1992) Mating system of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). *Ecological Entomology*, **17**, 1-7.

Ardeh, M.J., de Jong, P.W., Loomans, A.J.M., & van Lenteren, J.C. (2004) Inter- and intraspecific effects of volatile and nonvolatile sex pheromones on males, mating behavior, and hybridation in *Eretmocerus mundus* and *E. eremicus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Journal of Insect Behavior*, **17**, 745-759.

Arnqvist, G. & Nilsson, T. (2000) The evolution of polyandry: multiple mating and female fitness in insects. *Animal Behaviour*, **60**, 145-164.

Arnqvist, G. & Rowe, L. (2005) Sexual Conflict Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Askari, A. & Coppel, H.C. (1978) Observation on courtship and mating behavior of *Meteorus pulchricornis*, a gypsy moth parasitoid. *Annals of Entomological Society of America*, **71**, 364-366.

Baeder, J.M. & King, B.H. (2004) Associative learning of color by males of the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Insect Behavior*, **17**, 201-213.

Baer, B., Armitage, S.A.O., & Boomsma, J.J. (2006) Sperm storage induces an immunity cost in ants. *Nature*, **441**, 872-875.

Bateman, A.J. (1948) Intra-sexual selection in Drosophila. *Heredity*, **2**, 349-368.

Bateson, P. (1978) Sexual imprinting and optimal outbreeding. *Nature*, **273**, 659-660.

Bateson, P. (1993). Optimal outbreeding. In Mate choice (ed. by P. Bateson), pp. 257-277. Cambridge University Press.

Beling, I. (1932) Zur Biologie von Nemeritis canescens Grav. (Hymen. Ophion). *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, **9**, 223-249.

Berglund, A. & Rosenqvist, G. (2001) Male pipefish prefer ornamented females. *Animal Behaviour*, **61**, 345-350.

Bernal, J.S. & Luck, R.F. (2007) Mate finding via a trail sex pheromone by *Aphytis melinus* DeBach (Hymenoptera: Aphelinidae) males. *Journal of Insect Behavior*, **20**, 515-525.

Bernstein, C. & Driessen, G. (1996) Patch-marking and optimal search patterns in the parasitoid *Venturia canescens*. *Journal of Animal Ecology*, **65**, 211-219.

Bernstein, C., Heizmann, A., & Desouhant, E. (2002) Intraspecific competition between healthy and parasitised hosts in a host-parasitoid system: consequences for life-history traits. *Ecological Entomology*, **2002**.

Beukeboom, L.W. (2001) Single-locus complementary sex determination in the Ichneumonid *Venturia canescens* (Gravenhorst) (Hymenoptera). *Netherlands Journal of Zoology*, **51**, 1-15.

Beukeboom, L.W., Driessen, G., Luckerhoff, L., Bernstein, C., Lapchin, L., & van Alphen, J.J.M. (1999) Distribution and relatedness of sexual and asexual *Venturia canescens* (Hymenoptera). *Proceedings of Experimental and Applied Entomology, N.E.V. Amsterdam*, **10**, 23-28.

Beukeboom, L.W. & Pijnacker, L.P. (2000) Automictic parthenogenesis in the parasitoid *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae) revisited. *Genome*, **43**, 939-944.

Beukeboom, L.W. & van den Assem, J. (2001) Courtship and mating behaviour of interspecific *Nasonia* hybrids (Hymenoptera, Pteromalidae): a grandfather effect. *Behavior Genetics*, **31**, 167-177.

Bertschy, C., Turlings, T.C.J., Bellotti, A., & Dorn, S. (2000) Host stage preference and sex allocation in *Aenasius vexans*, an encyrtid parasitoid of the cassava mealybug. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **95**, 283-291.

Blaustein, A.R. (1983) Kin Recognition Mechanisms: Phenotypic Matching or Recognition Alleles? *The American Naturalist*, **121**, 749-754.

Bleeker, M.A.K., Smid, H.M., Steidle, J.L.M., Kruidhof, H.M., van Loom, J.J.A., & Vet, L.E.M. (2006) Differences in memory dynamics between two closely elated parasitoid wasp species. *Animal Behaviour*, **71**, 1343-1350.

Bleeker, M.A.K., Smid, H.M., Van Aelst , A.C., Van Loon, J.J.A., & Vet, L.E.M. (2004) Antennal sensilla of two parasitoid wasps: A comparative scanning electron microscopy study. *Microscopy Research and Technique*, **63**, 266-273.

Blomberg, S.P., Garland, T., & Ives, A.R. (2002) Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. *Evolution*, **57**, 717–745.

Blum, M.S. (1996) Semiochemical parsimony in the arthropoda. *Annual Review of Entomology*, **41**, 353-374.

Boivin, G., Jacob, S., & Damiens, D. (2005) Spermatogeny as a life-history index in parasitoid wasps. *Oecologia*, **143**, 198-202.

Bonduriansky, R. (2001) The evolution of male mate choice in insects: a synthesis of ideas and evidence. *Biol. Rev.*, **76**, 305-339.

Bordenstein, S.R., Drapeau, M.D., & Werren, J.H. (2000) Intraspecific variation in sexual isolation in the jewel wasp Nasonia. *Evolution*, **54**, 567-573.

Borgia, G. (1979). Sexual selection and the evolution of mating systems. In Sexual selection and Reproductive Competition in Insects (ed. by M. Blum & N. Blum), pp. 19-80. Academic Press, London.

Bressac, C. & Chevrier, C. (1998) Offspring sex ratio are independant of sperm management in *Eupelmus orientalis* females. *Journal of Insect Physiology*, **44**, 351-359.

Brown, J.L. (1997) A theory of mate choice based on heterozygosity. *Behavioral Ecology*, **8**, 60-65.

Bulmer, M.G. (1986) Sex ratio theory in geographically structured populations. *Heredity*, **56**, 69-73.

Bulmer, M.G. (1994). The Sex Ratio. In Theoretical Evolutionary Biology, pp. 207-239. Sinauer Associates Inc.

Bulmer, M.G. & Taylor, P.D. (1980) Dispersal and the sex ratio. *Nature*, **284**, 448-449.

Burton-Chellew, M.N., Sykes, E.M., Patterson, S., Shuker, D.M., & West, S.A. (2007) The cost of mating and the relationship between body size and fitness in males of the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis*. *Evolutionary Ecology Research*, **9**, 921-934.

Carpenter, J.E. (1995) *Ichneumon promissorius* (Erichson) (Hymenoptera: Ichneumonidae): factors affecting fecundity, oviposition and longevity. *Journal of Entomological Science*, **30**, 279-286.

Castelo, M.K., Corley, J.C., & Desouhant, E. (2003) Conspecific avoidance during foraging in *Venturia canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae): The roles of host presence and conspecific densities. *Journal of Insect Behavior*, **16**, 307-318.

Chapman, T., Arnqvist, G., Bangham, J., & Rowe, L. (2003) Sexual conflict. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 41-47.

Charlesworth, D. & Charlesworth, B. (1987) Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **18**, 237-268.

Charnov, E.L. (1979) The genetical evolution of patterns of sexuality: darwinian fitness. *The American naturalist*, **113**, 465-480.

Charnov, E.L. (1982) The theory of Sex Allocation Princenton University Press, Princeton, New Jersey.

Charnov, E.L., Maynard Smith, J., & Bull, J.J. (1976) Why be an hermaphrodite? *Nature*, **263**, 125 – 126.

Cheng, L.-I., Howard, R.W., Campbell, J.F., Charlton, R.E., Nechol, J.R., & Ramaswamy, S.B. (2004) Mating behavior of *Cephalonomia tarsalis* (Ashmead) (Hymenoptera:

Bethylidae) and the effect of female mating frequency on offspring reproduction. *Journal of Insect Behavior*, **17**, 227-245.

Chevrier, C. & Bressac, C. (2002) Sperm storage and use after multiple mating in Dinarmus basalis (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Insect Behavior*, **15**, 385-398.

Choe, J.C. & Crespi, B.J. (1997) The Evolution of Mating Systems in Insects and Arachnids Cambridge University Press, Cambridge.

Clark, A.B. (1978) Sex Ratio and Local Resource Competition in a Prosimian Primate. *Science* **201**, 163-165.

Cloutier, C., Duperron, J., Tertuliano, M., & Mc Neil, J.N. (2000) Host instar, body size and fitness in the koinobiotic parasitoid *Aphidius nigripes*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **97F**, 29-40.

Clutton-Brock, T.H. (2007) Sexual selection in males and females. *Science*, **318**, 1882-1885.

Cohen, L.B. & Dearborn, D.C. (2004) Great frigatebirds, *Fregata minor*, choose mates that are genetically similar. *Animal Behaviour*, **68**.

Cole, L.R. (1970) Observations on the finding of mates by male Phaeogenes invisor and Apanteles medicaginis (Hymenoptera: Ichneumonoidea). *Animal Behaviour*, **18**, 184-189

Cônsoli, F.L., Williams, H.J., Vinson, S.B., Matthews, R.W., & Cooperband, M.F. (2002) *trans*-bergamotenes-male pheromone of the ectoparasitoid *Melittobia digitata*. *Journal of Chemical Ecology*, **28**, 1675-1689.

Cook, J.M. (1993) Sex determination in the hymenoptera : a review of models and evidence. *Heredity*, **71**, 421-435.

Cook, J.M. & Crozier, R.H. (1995) Sex determination and population biology in the Hymenoptera. *Trends in Ecology & Evolution*, **10**, 281-286.

Cooperband, M.F., Matthews, R.S., & Vinson, S.B. (2003) Factors affecting the reproductive biology of *Melittobia digitata* and failure to meet the sex ratio predictions of Hamilton's local mate competition theory. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **109**, 1-12.

Corbet, S.A. (1971) Mandibular gland secretion of larvae of the flour moth, *Anagasta kuehniella*, contains an epideictic pheromone and elicts oviposition movements in a Hymenopteran parasite. *Nature*, **232**, 481-484.

Cordoba-Aguilar, A. & Contreras-Garduno, J. (2003) Sexual conflict. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 439-440.

Cormier, D., Royer, L., Vigneault, C., Panneton, B., & Boivin, G. (1998) Effect of female age on daily cycle of sexual pheromone emission in gregarious egg parasitoid *Anaphes listronoti*. *Journal of Chemical Ecology*, **24**, 1595-1610.

Courteau, J. & Lessard, S. (2000) Optimal sex ratios in structured populations. *Journal of theoretical Biology*, **207**, 159-175.

Cowan, D.P. & Stahlhut, J.K. (2004) Functionally reproductive diploid and haploid males in an inbreeding hymenotperan with complementary sex determination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **101**, 10374-10379.

Cox, R.D. (1972) Regression models and life tables (with discussion). *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)*, **34**, 187-220.

Dall, S.R.X., Giraldeau, L.-A., Olsson, O., McNamara, J.M., & Stephens, D.W. (2005) Information and its use by animals in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, **20**, 187-193.

Damiens, D. & Boivin, G. (2005) Male reproductive strategy in Trichogramma evanescens: sperm production and allocation to females. *Physiological Entomology*, **30**, 241-247.

Damiens, D. & Boivin, G. (2006) Why do sperm-depleted parasitoid males continue to mate? *Behavioral Ecology*, **17**, 138-143.

Danchin, É., Giraldeau, L.-A., Valone, T.J., & Wagner, R.H. (2004) Public Information: From Nosy Neighbors to Cultural Evolution. *Science*, **305**, 487-491.

Danci, A., Gries, R., Schaefer, P.W., & Gries, G. (2006a) Evidence for four-component close-range sex pheromone in the parasitic wasp *Glyptapanteles flavicoxis*. *Journal of Chemical Ecology*, **32**, 1539-1554.

Danci, A., Schaefer, P.W., Schopf, A., & Gries, G. (2006b) Species-specific close-range sexual communication systems prevent cross-attraction in the three species of *Glyptapanteles* parasitic wasps (Hymenoptera: Braconidae). *Biological control*, **39**, 225-231.

Davies, N.W. & Madden, J.L. (1985) Mandibular gland secretions of two parasitoid wasps. *Journal of Chemical Ecology*, **11**, 1115-1127.

Dawkins, R. (1976) The Selfish Gene Oxford University Press, Oxford.

Dawkins, R. (1982) The Extended Phenotype: The Gene As the Unit of Selection W.H. Freeman & Company.

De Freitas, M.D.R.T., De Lima Mendonça, A., Do Nascimento, R.R., & Sant'Ana, A.E.G. (2004) Behavioral evidence for a female sex pheromone in *Cotesia flavipes* (Hymenoptera : Braconidae). *Physiological Entomology*, **29**, 183-187.

Decker, U., Powell, W., & Clark, S. (1993) Sex pheromones in the cereal aphid parasitoids Praon volucre and Aphidius rhopalosiphi. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **69**, 33-39.

DeLury, N.C., Gries, G., Gries, R., Judd, G.J.R., & Brown, J.J. (1999) Sex pheromone of *Ascogaster quadridentata*, a parasitoid of *Cydia pomonella*. *Journal of Chemical Ecology*, **25**, 2229-2245.

Desouhant, E., Driessen, G., Amat, I., & Bernstein, C. (2005) Host and food searching in a parasitic wasp *Venturia canescens*: a trade off between current and future reproduction? *Animal Behaviour*, **70**, 145-152.

Dickens, J., Smith, J., & Light, D. (1993) Green leaf volatiles enhance sex attractant pheromone of the tobacco budworm, *Heliothis virescens* (Lep., Noctuidae). *Chemoecology*, **4**, 175–177.

Doyon, J. & Boivin, G. (2006) Impact of the Timing of Male Emergence on Mating Capacity of Males in Trichogramma evanescens Westwood. *BioControl*, **51**, 703-713.

Driessen, G. & Bernstein, C. (1999) Patch departure mechanisms and optimal host exploitation in an insect parasitoid. *Journal of Animal Ecology*, **68**, 445-459.

Dukas, R. (2006) Learning in the context of sexual behaviour in insects. *Animal Biology*, **56**, 125-141.

Dussourd, D.E., Harvis, C.A., Meinwald, J., & Eisner, T. (1991) Pheromonal advertisement of a nuptial gift by a male moth (Utetheisa ornatrix). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **88**, 9224-9227.

Eberhard, W.G. & Cordero, C. (2003) Sexual conflict and female choice. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 438-439.

Eggleton, P. & Gaston, K.J. (1990) "Parasitoid" Species and Assemblages: Convenient Definitions or Misleading Compromises? *Oikos*, **59**, 417-421.

Eisner, T. & Meinwald, J. (1995) The chemistry of sexual selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **92**, 50-55.

Eller, F.J., Bartelt, R.J., Jones, R.L., & Kulman, H.M. (1984) Ethyl (Z)-9-hexadecenoate a sex pheromone of *Syndipnus rubiginosus* a sawfly parasitoid. *Journal of Chemical Ecology*, **10**, 291-300.

Endler, J.A. (1993) Some General Comments on the Evolution and Design of Animal Communication Systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **340**, 215-225.

Endler, J.A. & Basolo, A.L. (1998) Sensory ecology, receiver biases and sexual selection. *Trends in Ecology & Evolution*, **13**, 415-420.

Enigl, M. & Schausberger, P. (2004) Mate choice in the predaceous mite *Phytoseiulus persimilis*: evidence of self-referent phenotype matching ? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **112**, 21-28.

Facon, B., Ravigné, V., & Goudet, J. (2006) Experimental evidence of inbreeding avoidance in the hermaphroditic snail *Physa acuta*. *Evolutionary Ecology*, **20**, 395-406.

Fauvergue, X., Fleury, F., Lemaitre, C., & Allemand, R. (1999) Parasitoid mating structures when hosts are patchly distributed : field and laboratory experiments with *Leptopilina boulardi* and *L.heterotoma*. *Oïkos*, **86**, 344-356.

Fauvergue, X., Fouillet, P., Mesquita, A.L.M., & Bouletreau, M. (1998a) Male orientation to trail sex pheromones in parasitoid wasps: does the spatial distribution of virgin females matter ? *Journal of Insect Physiology*, **44**, 667-675.

Fauvergue, X., Hopper, K.R., & Antolin, M.F. (1995) Mate finding via a trail sex pheromone by a parasitoid wasp. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **92**, 900-904.

Fauvergue, X., Hopper, K.R., Antolin, M.F., & Kazmer, D.J. (1998b) Does time until mating affect progeny sex ratio? A manipulative experiment with the parasitoid wasp *Aphelinus asychis*. *Journal of Evolutionary Biology*, **11**, 611-622.

Fauvergue, X., Lo Genco, A., & Lo Pinto, M. (*in press*) Virgins in the wild: Mating status affects the behavior of a parasitoid foraging in the field. *Oecologia*.

Fauvergue, X., Malausa, J.-C., Giuge, L., & Courchamp, F. (2007) Invading parasitoids suffer no allee effect: a manipulative field experiment. *Ecology*, **88**, 2392-2403.

Fellowes, M.D.E. (1998) Do non-social insects get the (kin) recognition they deserve? *Ecological Entomology*, **23**, 223-227.

Field, S. & Keller, M. (1993a) Alternative mating tactics and female mimicry as post-copulatory mate-guarding behaviour in the parasitic wasp *Cotesia rubecula*. *Animal Behaviour*, **46**, 1183-1189.

Field, S.A. & Keller, M.A. (1993b) Courtship and intersexual signaling in the parasitic wasp *Cotesia rubecula* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior*, **6**, 737-750.

Finidori-Logli, V., Bagnères, A.-G., Erdmann, D., Francke, W., & Clément, J.-L. (1996) Sex recognition in *Diglyphus isaea* walker (Hymenoptera: Eulophidae): Role of an uncommon family of behaviorally active compounds. *Journal of Chemical Ecology*, **22**, 2063-2079.

Fisher, R.A. (1930) The Genetical Theory of Natural Selection Clarendon Press, Oxford.

Flanagan, K.E., West, S.A., & Godfray, H.C.J. (1998) Local mate competition, variable fecundity and information use in a parasitoid. *Animal Behaviour*, **56**, 191-198.

Flanders, S.E. (1965) On the sexuality and sex ratios of hymenopterous populations. *The American naturalist*, **XCIX**, 489-494.

Frank, S.A. (1985) Hierarchical selection theory and sex ratios. II. On applying the theory, and a test with fig wasps. *Evolution*, **39**, 949-964.

Fritz, A.H. & Turner, F.R. (2002) A light and electron microscopical study of the spermathecae and ventral receptacle of Anastrepha suspensa (Diptera : Tephritidae) and implications in female influence of sperm storage. *Arthropod Structure and Development* **30**, 293-313.

Gavrilets, S., Arnqvist, G., & Friberg, U. (2001) The evolution of female mate choice by sexual conflict. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **268**, 531-539.

Godfray, H.C.J. (1990) The causes and consequences of constrained sex allocation in haplodiploid animals. *Journal of Evolutionary Biology*, **3**, 3-17.

Godfray, H.C.J. (1994) Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology Princeton University Press, Princeton.

Godfray, H.C.J. & Cook, J.M. (1997). Mating systems of parasitoid wasps. In The evolution of mating systems in insects and arachnids (ed. by J.C. Choe & B.J. Crespi), pp. 211-225. Cambridge University Press, Cambridge.

Godfray, H.C.J. & Hardy, I.C.W. (1993). Sex ratio and virginity in haplodiploid insects. In Evolution and Diversity of Sex Ratio in Insects and Mites (ed. by D.L. Wrensch & M. Ebbert), pp. 404-417. Chapman and Hall, New York.

Goubault, M., Scott, D., & Hardy, I.C.W. (2007) The importance of offspring value: maternal defence in parasitoid contests. *Animal Behaviour*, **74**, 437-446.

Grafen, A. (1990a) Biological signals as handicaps. *Journal of Theoretical Biology*, **144**, 517-546.

Grafen, A. (1990b) Sexual selection unhandicapped by the fisher process. *Journal of Theoretical Biology*, **144**, 473-516.

Greeff, J.M. (1996) Alternative mating strategies, partial sibmating and split sex ratios in haplodiploid species. *Journal of Evolutionary Biology*, **9**, 855-869.

Greenfield, M.D. (1981) Moth sex pheromones: an evolutionary perspective. *Florida Entomologist*, **64**, 4-17.

Gu, H. & Dorn, S. (2003) Mating system and sex allocation in the gregarious parasitoid *Cotesia glomerata*. *Animal Behaviour*, **66**, 259-264.

Guilford, T. & Dawkins, M.S. (1991) Receiver psychology and the evolution of animal signals. *Animal Behaviour*, **42**, 1-14.

Guilford, T. & Dawkins, M.S. (1995) What are conventional signals? *Animal Behaviour*, **49**, 1689-1695.

Hamilton, W. (1964) The genetical evolution of social behaviour. *Journal of Theoretical Biology*, **7**, 1-52.

Hamilton, W. (1967) Extraordinary sex ratios. *Science*, **156**, 477-488.

Hamilton, W. (1979). Wingless and fighting males in fig wasps and other insects. In Sexual selection and Reproductive Competition in Insects (ed. by M. Blum & N. Blum), pp. 167-220. Academic Press, London.

Hamilton, W. & Zuk, M. (1982) Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science*, **218**, 384-387.

Hammerstein, P. & Parker, G.A. (1987). Sexual selection: games between the sexes. In Sexual Selection: Testing the Alternatives (ed. by J.W. Bradbury & M.B. Andersson), pp. 119-142. John Wiley & Sons Limited, Chichester.

Hardy, I.C.W. (1994) Sex ratio and mating structure in the parasitoid Hymenoptera. *Oïkos*, **69**, 3-20.

Hardy, I.C.W. (2002) Sex Ratios: Concepts and Research Methods Cambridge University Press, Cambridge.

Hardy, I.C.W. & Godfray, H.C.J. (1990) Estimating the frequency of constrained sex allocation in field population of hymenoptera. *Behaviour*, **114**, 137-147.

Hardy, I.C.W., Ode, P.J., & Siva-Jothy, M.T. (2005a). Mating behaviour. In Insects as natural enemies: a practical perspective (ed. by M.A. Jervis), pp. 219-260. Springer, Dordrecht.

Hardy, I.C.W., Ode, P.J., & Siva-Jothy, M.T. (2005b). Mating systems. In Insects as natural enemies: a practical perspective (ed. by M.A. Jervis), pp. 261-298. Springer, Dordrecht.

Hardy, I.C.W., Pedersen, J.B., Sejr, M.K., & Linderoth, U.H. (1999) Local mating, dispersal and sex ratio in a gregarious parasitoid wasp. *Ethology*, **105**, 57-72.

Hardy, I.C.W., Stokkebo, S., Bùnlùkke-Pedersen, J., & Sejr, M.K. (2000) Insemination Capacity and Dispersal in Relation to Sex Allocation Decisions in Goniozus legneri (Hymenoptera: Bethylidae): Why Are There More Males in Larger Broods? *Ethology*, **106**, 1021-1032.

Hauber, M.E. & Sherman, P.W. (2000) The armpit effect in hamster kin recognition. *Trends in Ecology & Evolution*, **15**, 349-350.

Hauber, M.E. & Sherman, P.W. (2001) Self-referent phenotype matching: theoretical considerations and empirical evidence. *Trends in Neuroscience*, **24**, 609-616.

Hauber, M.E., Sherman, P.W., & Paprika, D. (2000) Self-referent phenotype matching in a brood parasite: the armpit effect in brown-headed cowbirds (*Molothrus ater*). *Animal Cognition*, **2000**, 113-117.

Hedrick, P.W., Gadau, J., & Page, J.R.E. (2006) Genetic sex determination and extinction. *Trends in Ecology & Evolution*, **21**, 55-57.

Henter, H.J. (2003) Inbreeding depression and haplodiploidy: experimental measures in a parasitoid and comparisons across diploid and haplodiploid insect taxa. *Evolution*, **57**, 1793-1803.

Henter, H.J. (2004) Constrained sex allocation in a parasitoid due to variation in male quality. *Journal of Evolutionary Biology*, **17**, 886-896.

Herzner, G., Schmitt, T., Heckel, F., Schreier, P., & Strohm, E. (2006) Brothers smell similar: variation in the sex pheromone of male European Beewolves *Philanthus triangulum* F. (Hymenoptera: Crabonidae) and its implications for inbreeding avoidance. *Biological Journal of the Linnean Society*, **89**, 433-442.

Herzner, G., Schmitt, T., Linsenmair, K.E., & Strohm, E. (2005) Prey recognition by females of the European beewolf and its potential for a sensory trap. *Animal Behaviour*, **70**, 1411-1418.

Holland, B. & Rice, W.R. (1998) Perspective: Chase-away sexual selection: Antagonistic seduction versus resistance. *Evolution*, **52**, 1-7.

Holmes, W.G. (2004) The early history of Hamiltonian-based research on kin recognition. *Ann. Zool. Fennici*, **41**, 691-711.

Holmes, W.G. & Sherman, P.W. (1982) The ontogeny of kin recognition in two species of ground squirrels. *American Naturalist*, **22**, 491-517.

Holmes, W.G. & Sherman, P.W. (1983) Kin Recognition in Animals. *American Scientist*, **71**, 46-55.

Howard, R.W. & Blomquist, G.J. (2005) Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insects hydrocarbons. *Annual Review of Entomology*, **50**, 371–393.

Hubbard, S.F., Marris, G., Reynolds, A., & Rowe, G.W. (1987) Adaptive patterns in the avoidance of superparasitism by solitary parasitic wasps. . *Journal of Animal Ecology*, **56**, 387-401.

Hunt, J., Bussière, L.F., Jennions, M.D., & Brooks, R. (2004) What is genetic quality? *Trends in Ecology & Evolution*, **19**, 329-333.

Ivy, T., Weddle, C.B., & Sakaluk, S.K. (2005) Females use self-referent cues to avoid mating with previous mates. *Proceedings of the Royal Society B*, **272**, 2475-2478.

Iwasa, Y. & Pomiankowski, A. (1995) Continual change in mate preferences. *Nature*, **377**, 420-422.

Iyengar, V.K. & Eisner, T. (1999) Evolution Heritability of body mass, a sexually selected trait, in an arctiid moth (Utetheisa ornatrix). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **96**, 9169–9171.

Jansen, V.A.A. & van Baalen, M. (2006) Altruism through beard chromodynamics. *Nature*, **440**, 663-666.

Jennions, M.D. & Petrie, M. (1997) Variation in mate choice and mating preferences: a review of causes and consequences. *Biol. Rev.*, **72**, 283-327.

Jervis, M., Kidd, N., & Walton, M. (1992) A review of methods for determining dietary range in adult parasitoids. *BioControl*, **37**, 565-574.

Jervis, M.A., Heimpel, G.E., Ferns, P.N., Harvey, J.A., & Kidd, N.A.C. (2001) Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of 'ovigeny'. *Journal of Animal Ecology*, **70**, 442-458.

Jewett, D.K. & Carpenter, J.E. (1998) Chemical Communication Between Males and Females of a Pupal Parasitoid *Diapetimorpha introita* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Annals of Entomological Society of America*, **91**, 748-753.

Johnstone, R.A. (1997). The evolution of animal signals. In Behavioral Ecology. An Evolutionary Approach. Fourth Edition. (ed. by J.R. Krebs & N.B. Davies), pp. 155-178. Blackwell Science.

Johnstone, R.A. & Dall, S.R.X. (2002) Introduction to a theme issue, "Information and adaptative behaviour". *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, **357**, 1515-1518.

Johnstone, R.A. & Grafen, A. (1992) The continuous Sir Philip Sidney game: A simple model of biological signalling. *Journal of Theoretical Biology*, **156**, 215-234.

Jones, A.G., Arguello, J.R., & Arnold, S.J. (2002) Validation of Bateman's principles: a genetic study of sexual selection and mating patterns in the rough-skinned newt. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **269**, 2533-2539.

Jyothi, K.N., Prasuna, A.L., Sighamony, S., Kumari, B.K., Prasad, A.R., & Yadav, J.S. (2002) Electroantennogram responses of *Apanteles obliquae* (Hym., Braconidae) to various infochemicals. *Journal of Applied Entomology*, **126**, 175-181.

Kainoh, Y. (1999). Parasitoids. In Pheromones of Non-lepidopteran Insects Associated with Agricultural Plants (ed. by J. Hardie & A.K. Minks), pp. 383-404. Oxford University Press, Oxford.

Kainoh, Y., Nemoto, T., Shimizu, K., Tatsuki, S., Kusano, T., & Kuwahara, Y. (1991) Mating behavior of *Ascogaster reticulatus* Watanabe (Hymenoptera: Braconidae), an egg-larval parasitoid of the smaller Tea tortrix, *Adoxophyes* sp. (Lepidoptera: Tortricidae) III. Identification of a sex pheromone. *Applied Entomology and Zoology*, **26**, 543-549.

Kainoh, Y. & Oishi, Y. (1993) Source of sex pheromone of the egg-larval parasitoid, *Ascogaster reticulatus* Watanabe (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Chemical Ecology*, **19**, 963-969.

Karlson, P. & Luscher, M. (1959) "Pheromones": a New Term for a Class of Biologically Active Substances. *Nature*, **183**, 55-56.

Kazmer, D.J. & Luck, R.F. (1995) Field tests of the size-fitness hypothesis in the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. *Ecology*, **76**, 412-425.

Keller, L. & Ross, K.G. (1998) Selfish genes: a green beard in the red fire ants. *Nature*, **394**, 573-575.

Keller, L.F. & Waller, D.M. (2002) Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology & Evolution*, **17**, 230-241.

Khanh, H.D.T., Bressac, C., & Chevrier, C. (2005) Male sperm donation consequences in a single and double matings in *Anisopteromalus calandrae*. *Physiological Entomology*, **30**, 29-35.

King, B.H. (1987) Offspring sex ratios in parasitoid wasps. *The Quarterly Review of Biology*, **62**, 367-396.

King, B.H. (1989) Host-size-dependent sex ratios among parasitoid wasps: does host growth matter ? *Oecologia*, **78**, 420-426.

King, B.H. (1992) Sex-ratios of the wasp Nasonia vitripennis from self-versus conspecifically-parasitized hosts: local mate competition versus host quality models. *Journal of Evolutionary Biology*, **5**, 445-455.

King, B.H. (1993). Sex ratio manipulation by parasitoid wasps. In Evolution and Diversity of Sex Ratio in Insects and Mites (ed. by D.L. Wrensch & M. Ebbert), pp. 418-441. Chapman and Hall, New York.

King, B.H. (1995) Sibmating and its fitness consequences in the parasitoid wasp *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Insect Behavior*, **8**, 723-730.

King, B.H. (1996) Sex ratio responses to other parasitoid wasps: multiple adaptative explanations. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **39**, 367-374.

King, B.H. (2002) Sex ratio response to conspecifics in a parasitoid wasp: test of a prediction of local mate competition theory and alternative hypotheses. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **52**, 17-24.

King, B.H., Saporito, K.B., Ellison, J.H., & Bratzke, R.M. (2005) Unattractiveness of mated females to males in the parasitoid wasp *Spalangia endius*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **57**, 350-356.

King, B.H. & Skinner, S.W. (1991) Proximal mechanisms of the sex ratio and clutch size responses of the wasp Nasonia vitripennis to parasitized hosts. *Animal Behaviour*, **42**, 23-32.

Kirkpatrick, M. (1982) Sexual selection and the evolution of female choice. *Evolution*, **36**, 1-12.

Kokko, H., Brooks, R., Jennions, M.D., & Morley, J. (2003) The evolution of mate choice and mating biases. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, **270**, 653-664.

Kokko, H., Brooks, R., McNamara, J.M., & Houston, A.I. (2002) The sexual selection continuum. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, **269**, 1331-1340.

Kokko, H. & Jennions, M.D. (2003) It takes two to tango. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 103-104.

Kokko, H., Jennions, M.D., & Brooks, R. (2006) Unifying and Testing Models of Sexual Selection. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, **37**, 43–66.

Kokko, H. & Ots, I. (2006) When not to avoid inbreeding. *Evolution*, **60**, 467-475.

Kokko, H. & Wong, B.B.M. (2007) What determines sex roles in mate searching? *Evolution*, **61**, 1162-1175.

Kopelman, A.H. & Chabora, P.C. (1982) Resource variability and life history parameters of Leptopilina boulardi (Hymenoptera: Eucoilidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **85**, 195-199.

Kranz, B.D., Schwarz, M.P., Giles, L.C., & Crespi, B.J. (2000) Split sex ratios and virginity in a gall-inducing thrips. *Journal of Evolutionary Biology*, **13**, 700-706.

Krebs, J.R. & Dawkins, R. (1984). Animal signals: mind reading and manipulation. In Behavioral ecology: an evolutionnary approah (ed. by J.R. Krebs & N.B. Davies), pp. 380-402. Blackwell Scientific, Oxford.

Lacoume, S., Bressac, C., & Chevrier, C. (2006) Effect of host size on male fitness in the parasitoid wasps *Dinarmus basalis*. *Journal of Insect Physiology*, **52**, 249–254.

Lacoume, S., Bressac, C., & Chevrier, C. (2007) Sperm production and mating potential of males after a cold shock on pupae of the parasitoid wasp *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Insect Physiology*, **53**, 1008-1015.

Landolt, P.j. & Phillips, T.W. (1997) Host plant influences on sex pheromone behavior of phytophagous insects. *Annual review of entomology*, **42**, 371-391.

Law, R.H. & Regnier, F.E. (1971) Pheromones. *Annual Review of Biochemistry*, **40**, 533–548.

Lecomte, C. & Pouzat, J. (1985) EAG responses of two ichneumonids parasitoids, *Diadromus pulchellus* and *D. collaris*, to odours emitted by plants, the phytophagous-host *Acrolepiopsis assectella* and the sexual partner. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **39**, 295-306.

Leonard, J.E. & Boake, C.R. (2006) Site-dependent aggression and mating behaviour in three species of *Nasonia* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Animal Behaviour*, **71**, 641-647.

Lewis, W.J. & Tumlinson, J.H. (1988) Host detection by chemically mediated associative learning in a parasitic wasp. *Nature*, **331**, 257 - 259.

Liang, K.-Y. & Zeger, S.L. (1986) Longitudinal data analysis using generalized linear models. *Biometrika*, **73**, 13-22.

Ligout, S. & Porter, R.-H. (2006) La reconnaissance sociale chez les mammifères : mécanismes et bases sensorielles impliquées. *INRA Prod. Anim.*, **19**, 119-134.

Lihoreau, M., Zimmer, C., & Rivault, C. (2007) Kin recognition and incest avoidance in a group-living insect. *Behavioral Ecology*, **18**, 880-887.

Lizé, A., Cortesero, A.M., Atlan, A., & Poinsot, D. (2007) Kin recognition in *Aleochara bilineata* could support the kinship theory of genomic imprinting. *Genetics*.

Lo Pinto, M., Wajnberg, E., Colazza, S., Curty, C., & Fauvergue, X. (2004) Olfactory response of two aphid parasitoids, *Lysiphlebus testaceipes* and *Aphidius colemani*, to aphid-infested plants from a distance. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **110**, 159-164.

Lucchetta, P., Desouhant, E., Wajnberg, E., & Bernstein, C. (2007) Small but smart: the interaction between environmental cues and internal state modulates host-patch exploitation in a parasitic wasp. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **61**, 1409-1418.

Luck, R.F., Janssen, J.A.M., Pinto, J.D., & Oatman, E.R. (2001) Precise sex allocation, local mate competition, and sex ratio shifts in the parasitoid wasp *Trichogramma pretiosum*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **49**, 311-321.

Luck, R.F., Stouthamer, R., & Nunney, L. (1993). Sex determination and sex ratio patterns in parasitic hymenoptera. In Evolution and Diversity of Sex Ratio in Insects and Mites (ed. by D.L. Wrensch & M. Ebbert), pp. 442-476. Chapman and Hall, New York.

Madden, J.L. (1968) Behavioural Responses of Parasites to the Symbiotic Fungus associated with *Sirex noctilio*. *Nature*, **218**, 189-190.

Marchand, D. & Mc Neil, J.N. (2000) Effects of wind speed and atmospheric pressure on mate searching strategies behavior in the Aphid parasitoid *Aphidius nigripes* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Journal of Insect Behavior*, **13**, 187-199.

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. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **78**, 167-174.

Mateo, J.M. & Holmes, W.G. (2004) Cross-fostering as a means to study kin recognition. *Animal Behaviour*, **68**, 1451-1459.

Mateo, J.M. & Johnston, R.E. (2000) Kin recognition and the 'armpit effect': evidence for self-referent phenotype matching. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **267**, 695-700.

Mateo, J.M. & Johnston, R.E. (2003) Kin recognition by self-referent phenotype matching: weighing the evidence. *Animal Cognition*, **6**, 73-76.

Matthews, R.W., Yukawa, J., & González, J.M. (1985) Sex pheromones in male Melittobia parasitic wasps: female response to conspecific and congeneric males of males of 3 species. *Journal of Ethology*, **3**, 59 - 62.

Maynard Smith, J. (1977) Parental investment: a prospective analysis. *Animal Behaviour*, **25**, 1-9.

Maynard Smith, J. (1991) Honest signalling: the Philip Sidney game. *Animal Behaviour*, **42**, 1034-1035.

Maynard Smith, J. & Harper, D. (1995) Animal Signals: Models and Terminology. *Journal of Theoretical Biology*, **177**, 305-311.

Maynard Smith, J. & Harper, D. (2003) Animal Signals Oxford University Press, Oxford.

Mays, H.L. & Hill, G.E. (2004) Choosing mates: good genes versus genes that are a good fit. *Trends in Ecology & Evolution*, **19**, 554-559.

Mc Auslane, H.J., Vinson, S.B., & Williams, H.J. (1990) Influence of host plant on mate location by the parasitoid *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumondiae). *Environmental Entomology*, **19**, 26-31.

Mc Neil, J.N. & Brodeur, J. (1995) Pheromone-mediated mating in the aphid parasitoid, *Aphidius nigripes* (Hymenoptera: Aphididae). *Journal of Chemical Ecology*, **21**, 959-972.

Mc Neil, J.N. & Delisle, J. (1989) Host plant pollen influences calling behavior and ovarian development of the sunflower moth, *Homeosoma electellum*. *Oecologia*, **80**, 201-205.

McClure, M., Whistlecraft, J., & McNeil, J. (2007) Courtship Behavior in Relation to the Female Sex Pheromone in the Parasitoid, Aphidius ervi (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Chemical Ecology*, **33**, 1946-1959.

Metzger, M., Bernstein, C., & Desouhant, E. (2008) Does constrained oviposition influence offspring sex ratio in the solitary parasitoid wasp *Venturia canescens*. *Ecological Entomology*, **33**, 167-174.

Micha, S.G., Stammel, J., & Höller, C. (1993) 6-methyl-5-heptene-2-one, a putative sex and spacing pheromone of the aphid hyperparasitoid, *Alloxysta victrix* (Hymenoptera: Alloxystidae). *European Journal of Entomology*, **90**, 439-442.

Mohamed, M.A. & Coppel, H.C. (1987) Pheromonal basis for aggregation behavior of parasitoids of the gypsy moth: *Brachymeria intermedia* (Nees) and *Brachymeria lasus* (Walker) (Hymenoptera: Chalcididae). *Journal of Chemical Ecology*, **13**, 1385-1393.

Møller, A.P. & Jennions, M.D. (2001) How important are direct fitness benefits of sexual selection? *Naturwissenschaften*, **88**, 401–415.

Myint, W.W. & Walter, G.H. (1990) Behaviour of *Spalangia cameroni* males and sex ratio theory. *Oikos*, **59**, 163-174.

Nadel, H. & Luck, R.F. (1992) Dispersal and mating structure of a parasitoid with a female-biased sex ratio: Implications for theory. *Evolutionary Ecology*, **6**, 270-278.

Nation, J.L. (2002). Pheromones. In Insect physiology and biochemistry, pp. 389-424. CRS Press.

Nazzi, F., Powell, W., Wadhams, L.J., & Woodcock, C.M. (1996) Sex pheromone of aphid parasitoid *Praon volucre* (Hymenoptera, Braconidae). *Journal of Chemical Ecology*, **22**, 1169-1393.

Neff, B.D. & Pitcher, T.E. (2005) Genetic quality and sexual selection: an integrated framework for good genes and compatible genes. *Molecular Ecology*, **14**, 19-38.

Nishimura, K. (1997) Host selection by virgin and inseminated females of the parasitic wasp, *Dinarmus basalis* (Pteromalidae, Hymenoptera). *Functional Ecology*, **11**, 336-341.

Nunney, L. & Luck, R.F. (1988) Factors influencing the optimum sex ratio in a structured population. *Theoretical Population Biology*, **33**, 1-30.

Ochieng, S.A., Park, K.C., Zhu, J.W., & Baker, T.C. (2000) Functional morphology of antennal chemoreceptors of the parasitoid Microplitis croceipes (Hymenoptera: Braconidae). *Arthropod Structure & Development*, **29**, 231-240.

Ode, P.J., Antolin, M.F., & Strand, M.R. (1995) Brood-mate avoidance in the parasitic wasp *Bracon hebetor* Say. *Animal Behaviour*, **49**, 1239-1248.

Ode, P.J., Antolin, M.F., & Strand, M.R. (1996) Sex allocation and sexual asymmetries in intra-brood competition in the parasitic wasp *Bracon hebetor*. *Journal of Animal Ecology*, **65**, 690-700.

Ode, P.J., Antolin, M.F., & Strand, M.R. (1997) Constrained oviposition and female-biaised sex allocation in a parasitic wasp. *Oecologia*, **109**, 547-555.

Ode, P.J., Antolin, M.F., & Strand, M.R. (1998) Differential dispersal and female-biased sex allocation in a parasitic wasp. *Ecological Entomology*, **23**, 314-318.

Ode, P.J. & Hardy, I.C.W. (2007). 12. Parasitoid Sex Ratios and Biological Control. In Behavioral Ecology of Insect Parasitoids. From theoretical approaches to field applications. (ed. by E. Wajnberg, C. Bernstein & J.J.M. Van Alphen), pp. 464. Blackwell Publishing.

Orzack, S.H. (1986) Sex-ratio control in a parasitic wasp, *Nasonia vitripennis*. II. Experimental analysis of an optimal sex-ratio model. *Evolution*, **40**, 341-356.

Orzack, S.H. (1993). Sex ratio evolution in parasitic wasps. In Evolution and diversity of sex ratio in insects and mites (ed. by D.L. Wrensch & M. Ebbert), pp. 477-511. Chapman and Hall, NY.

Orzack, S.H. (2002). Using sex ratios : the past and the future. In Sex Ratios: Concepts and Research Methods (ed. by I.C.W. Hardy), pp. 382-398. Cambridge University Press, Cambridge.

Otter, K.A. & Horn, A.G. (2004) Book review: Animal Signals, John Maynard Smith & David Harper, Oxford University Press, 2003. 166 Pp. *ISBE Newsletter*, **16**, 25-27.

Pandey, S. & Singh, R. (1999) Host size induced variation in progeny sex ratio of an aphid parasitoid *Lysiphlebia mirzai*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **90**, 61-67.

Panhuis, T.M., Butlin, R., Zuk, M., & Tregenza, T. (2001) Sexual selection and speciation. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**, 364-371.

Parker, G.A. (1979). Sexual selection and sexual conflict. In Sexual selection and Reproductive Competition in Insects (ed. by M. Blum & N. Blum), pp. 123-166. Academic Press, London.

Parker, G.A. (2006) Sexual conflict over mating and fertilization: an overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **361**, 235-259.

Parker, G.A. & Maynard Smith, J. (1990) Optimality theory in evolutionary biology. *Nature*, **348**, 27-33.

Pelosse, P., Bernstein, C., & Desouhant, E. (2007) Differential energy allocation as an adaptation to different habitats in the parasitic wasp *Venturia canescens*. *Evolutionary Ecology*, **21**, 669-685.

Pérez-Lachaud, G. & Hardy, I.C.W. (1999) Reproductive biology of *Cephalonomia hyalinipennis* (Hymenoptera: Bethylidae), a native parasitoid of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae), in Chiapas, Mexico. *Biological control*, **14**, 152-158.

Perng, J.J. & Liu, Y.C. (2002) Age-specific survival and fecundity and their effects on the intrinsic rate of increase of *Aphelinus gossypii* (Hym., Aphelinidae), a parasitoid of *Aphis gossypii* (Hom., Aphididae). *Journal of Applied Entomology*, **126**, 484-489.

Petrie, M., Krupa, A., & Burke, T. (1999) Peacocks lek with relatives even in the absence of social and environmental cues. *Nature*, **401**, 155-157.

Phelan, P.L. (1992). Evolution of sex pheromones and the role of asymmetric tracking. In Insect Chemical Ecology. An Evolutionnary Approach (ed. by B.D. Roitberg & M.D. Isman), pp. 265-314. Chapman and Hall, London.

Phelan, P.L. (1997). Evolution of mate-signaling in moths: phylogenetic considerations and predictions from the asymmetric tracking hypothesis. In The evolution of mating systems in insects and arachnids (ed. by J.C. Choe & B.J. Crespi), pp. 240-256. Cambridge University Press, Cambridge.

Poiani, A. (2006) Complexity of seminal fluid: a review. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **60**, 289-310.

Pompanon, F., De Schepper, B., Mourer, Y., Fouillet, P., & Bouletreau, M. (1997) Evidence for a substrate-borne sex pheromone in the parasitoid wasp *Trichogramma brassicae*. *Journal of Chemical Ecology*, **23**, 1349-1360.

Pusey, A. & Wolf, M. (1996) Inbreeding avoidance in animals. *Trends in Ecology & Evolution*, **11**, 201-206.

Queller, D.C. (1997) Why do females care more than males? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **264**, 1555-1557.

Queller, D.C., Ponte, E., Salvatore, B., & Strassmann, J.E. (2003) Single-gene greenbeard effects in the social amoeba *Dictyostelium discoideum*. *Science*, **299**, 105-106.

Quicke, D.L.J. (1997) Parasitic wasps Chapman & Hall, London.

Quimio, G.M. & Walter, G.H. (2000) Swarming, delayed sexual maturation of males and mating behavior of *Fopius arisanus* (Sonan) (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior*, **13**, 797-813.

Rabinovitch, J.E., Jorda, M.T., & Bernstein, C. (2000) Local mate competition and precise sex ratio in *Telenomus fariai* (Hymenoptera: Scelionidae), a parasitoid of triatomine eggs. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **2000**.

Ratnieks, F.L.W. & Keller, L. (1998) Queen control egg fertilization in the honey bee. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **44**, 57-61.

Reece, S.E., Innocent, T.M., & West, S.A. (2007) Lethal male-male combat in the parasitoid *Melittobia acasta*: are size and competitive environment important? *Animal Behaviour*, **74**, 1163-1169.

Reece, S.E., Shuker, D.M., Pen, I., Duncan, A.B., Choudhary, A., Batchelor, C.M., & West, S.A. (2004) Kin discrimination and sex ratios in a parasitoid wasp. *Journal of Evolutionary Biology*, **17**, 208-216.

Ridley, M. (1993) Clutch size and mating frequency in parasitic hymenoptera. *American Naturalist*, **142**, 893-910.

Rivero, A. & West, S.A. (2002) The physiological costs of being small in a parasitic wasp. *Evolutionary Ecology Research*, **4**, 407-420.

Robacker, D.C. & Hendry, L.B. (1977) Neral and geranial: components of the sex pheromone of the parasitic wasp *Itoplectis conquisitor*. *Journal of Chemical Ecology*, **3**, 563-577.

Robacker, D.C., Weaver, K.M., & Hendry, L.B. (1976) Sexual communication and associative learning in the parasitic wasp *Itoplectis conquisitor* (SAY). *Journal of Chemical Ecology*, **2**, 39-48.

Roberts, H.L.S., Keller, M., & Schmidt, O. (2006) An empirical model of the sympatric coexistence of two strains of the endoparasitoid wasp *Venturia canescens*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, **61**, 184-194.

Ruther, J., Homman, M., & Steidle, J.L.M. (2000a) Female-derived sex pheromone mediates courtship behaviour in the parasitoid *Lariophagus distinguendus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **96**, 265-274.

Ruther, J., Reinecke, A., Thiemann, K., Tolasch, T., Francke, W., & Hilker, M. (2000b) Mate finding in the forest cockchafer, *Melolontha hippocastani*, mediated by volatiles from plants and females. *Physiological Entomology*, **25**, 172-179.

Ruther, J., Reinecke, A., Tolasch, T., & Hilker, M. (2001) Make love not war: a common arthropod defence compound as sex pheromone in the forest cockchafer *Melolontha hippocastani*. *Oecologia*, **128**, 44-47.

Ruther, J. & Steidle, J.L.M. (2000) Mites as matchmakers : semiochemicals from host-associated mites attract both sexes of the parasitoid *Lariophagus distinguendus*. *Journal of Chemical Ecology*, **26**, 1205-1217.

Ruther, J. & Steiner, S. (in press) Costs of female odour in males of the parasitic wasp Lariophagus distinguendus (Hymenoptera: Pteromalidae). *Naturwissenschaften*.

Ruther, J., Sthal, L.M., Steiner, S., Garbe, L.A., & Tolasch, T. (2007) A male sex pheromone in a parasitic wasp and control of the behavioral response by the female's mating status. *The Journal of Experimental Biology*, **210**, 2163-2169.

Ryan, M.J. (1990) Sexual selection, sensory systems, and sensory exploitation. *Oxford Surv. Evol. Biol.*, **7**, 157–195.

Salt, G. (1976) The hosts of *Nemeritis canescens*, a problem in the host specificity of insect parasitoids. *Ecological Entomology*, **1**, 63-67.

Schausberger, P. (2007) Kin recognition by juvenile predatory mites: prior association or phenotype matching. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, ***in press***.

Schiestl, F.P., Peakall, R., & Mant, J. (2004) Chemical communication in the sexually deceptive orchid genus Cryptostylis . . *Botanical Journal of the Linnean Society*, **144**, 199-205.

Schjørring, S. & Jäger, I. (2007) Incestuous mate preference by a simultaneous hermaphrodite with strong inbreeding depression. *Evolution*, **61**, 423-430.

Schneider, M.V. (2003) Mode of reproduction in the solitary parasitoid wasp *Venturia canescens*, University of Leiden, The Netherlands, Leiden.

Schneider, M.V., Beukeboom, L.W., Driessen, G., Lapchin, L., Bernstein, C., & van Alphen, J.J.M. (2002) Geographical distribution and genetic relatedness of sympatrical thelytokous and arrhenotokous populations of the parasitoid *Venturia canescens* (Hymenoptera). *Journal of Evolutionary Biology*, **15**, 191-200.

Schoeters, E. & Billen, J. (2000) The importance of spermathecal duct in bumblebees. *Journal of Insect Physiology*, **46**, 1303-1312.

Schwörer, U., Völkl, W., & Hoffmann, K.H. (1999) Foraging for mates in the hyperparasitic wasp, *Dendrocerus carpenteri*: impact of unfavorable weather conditions and parasitoid age. *Oecologia*, **119**, 73-80.

Seeley, T.D. (1998) Thoughts on information and integration in honey bee colonies. *Apidologie*, **29**, 67-80.

Seger, J. & Stubblefield, J.W. (2002). Models of sex ratio evolution. In Sex Ratios: Concepts and Research Methods (ed. by I.C.W. Hardy), pp. 2-25. Cambridge University Press, Cambridge.

Shelly, T.E. & Whittier, T.S. (1997). Lek behavior of insects. In The Evolution of Mating Systems in Insects and Arachnids (ed. by J.C. Choe & B.J. Crespi), pp. 273-293. Cambridge University Press, Cambridge.

Sherman, P.W. (1990) Multiple mating and kin recognition by self-inspection. *Ethology and Sociobiology*, **12**, 377-386.

Sherman, P.W., Reeve, H.K., & Pfennig, D.W. (1997). Recognition systems. In Behavioral Ecology. An Evolutionary Approach. Fourth Edition. (ed. by J.R. Krebs & N.B. Davies), pp. 69-96. Blackwell Science.

Shu, S. & Jones, R.L. (1993) Evidence for a multicomponent sex pheromone in *Eriborus terebrans* (Gravenhorst) (Hym.: Ichneumonidae), a larval parasitoid of the european corn borer. *Journal of Chemical Ecology*, **19**, 2563-2576.

Shuker, D.M., Reece, S.E., Taylor, J.A.L., & West, S.A. (2004a) Wasp sex ratios when females on a patch are related. *Animal Behaviour*, **68**, 331-336.

Shuker, D.M., Reece, S.E., Whitehorn, P.R., & West, S.A. (2004b) Sib-mating does not lead to facultative sex ratio adjustment in the parasitoid wasp, *Nasonia vitripennis*. *Evolutionary Ecology Research*, **6**, 473-480.

Shuker, D.M., Sykes, E.M., Browning, L.E., Beukeboom, L.W., & West, S.A. (2006) Male influence on sex allocation in the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **59**, 829-835.

Shuker, D.M. & West, S.A. (2003) Information constraints and the precision of adaptation: Sex ratio manipulation in wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **101**, 10363-10367.

Shuster, S. & Wade, M.J. (2003) Mating systems and strategies Princeton University Press, Princeton and Oxford.

Simmons, L.W. (1989) Kin-recognition and its influence on mating preferences of the field cricket, *Gryllus bimaculatus* (de Geer). *Animal Behaviour*, **37**, 68-77.

Simmons, L.W. (1991) Female choice and the relatedness of mates in the field cricket, Gryllus bimaculatus. *Animal Behaviour*, **41**, 493-501.

Sirot, E. (1996) The pay-off from superparasitism in the solitary parasitoid *Venturia canescens*. *Ecological Entomology*, **21**, 305-307.

Smith, B.H. & Ayasse, M. (1987) Kin-based male mating preferences in two species of halictine bee. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **20**, 313-318.

Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. (1995) Biometry: the principles and practice of statistics in biological research W.H. Freeman, New York.

Steidle, J.L.M. & Ruther, J. (2000) Chemicals used for host recognition by the granary weevil parasitoid *Lariophagus distinguendus*. *Journal of Chemical Ecology*, **26**, 2665-2675.

Steiner, S., Hermann, N., & Ruther, J. (2006) Characterization of a female-produced courtship pheromone in the parasitoid *Nasonia vitripennis*. *Journal of Chemical Ecology*, **32**.

Steiner, S., Steidle, J.L.M., & Ruther, J. (2005) Female sex pheromone in immature insect males - a case of pre-emergence chemical mimicry? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **58**, 111-120.

Stelinski, L.L. & Liburd, O.E. (2005) Behavioral evidence for host fidelity among populations of the parasitic wasp, *Diachasma alloeum* (Muesebeck). *Naturwissenschaften*, **92**, 65-68.

Stelinski, L.L., Pelz-Stelinski, K.S., & Gut, L.J. (2006) Male *Diachasma alloeum* parasitoids from two host species of tephritid fruit flies respond equally to female-produced sex pheromone. *Physiological Entomology*, **31**, 178-183.

Stouthamer, R., Hurst, G.D.D., & Breeuwer, J.A.J. (2002). Sex ratio distorters and their detection. In Sex Ratios: Concepts and Research Methods (ed. by I.C.W. Hardy), pp. 195-215. Cambridge University Press, Cambridge.

Strand, M.R. (1988) Variable sex ratio strategy of *Telenomus heliothidis* (Hymenoptera: Scelionidae): adaptation to host and conspecific density. *Oecologia*, **77**, 219-224.

Stubblefield, J.W. & Seger., J. (1990) Local mate competition with variable fecundity : dependence of offspring sex ratios on information utilization and mode of male production. *Behavioral Ecology*, **1**, 68-80.

Sullivan, B.T. (2002) Evidence for a sex pheromone in bark beetle parasitoid *Roptrocerus xylophagorum*. *Journal of Chemical Ecology*, **28**, 1045-1063.

Suzuki, Y., Tsuji, H., & Sasakawa, M. (1984) Sex allocation and effects of superparasitism on secondary sex ratios in the gregarious parasitoid, *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Animal Behaviour*, **32**, 478-484.

Swedenborg, P.D. & Jones, R.L. (1992a) Multicomponent sex pheromone in *Macrocentrus grandii* Goidanich (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Chemical Ecology*, **18**, 1901-1912.

Swedenborg, P.D. & Jones, R.L. (1992b) (Z)-4-tridecenal, a pheromonally active air oxidation product from a series of (Z-Z)-9,13 dienes in *Macrocentrus grandii* Goidanich (Hymenoptera:Braconidae). *Journal of Chemical Ecology*, **18**, 1913-1931.

Swedenborg, P.D., Jones, R.L., Liu, H.-W., & Krick, T.P. (1993) (3R*,5S*,6R*)-3,5-dimethyl-6-(methylethyl)-3,4,5,6-tetrahydropyran-2-one, a third sex pheromone component for *Macrocentrus grandii* (Goidanich) (Hymenoptera: Braconidae) and evidence for its utility at eclosion. *Journal of Chemical Ecology*, **19**, 485-502.

Syvertsen, T.C., Jackson, L.L., Blomquist, G.J., & Vinson, S.B. (1995) Alkadienes mediating courtship in the parasitoidCardiochiles nigriceps (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Chemical Ecology*, **21**, 1971-1989.

Tagawa, J. (1977) Localization and histology of the female sex pheromone-producing gland in the parasitic wasp, Apanteles glomeratus. *Journal of Insect Physiology*, **23**, 49-56.

Tang-Martinez, Z. (2001) The mechanisms of kin discrimination and the evolution of kin recognition in vertebrates: a critical re-evaluation. *Behavioural Processes*, **53**, 21-40.

Taylor, P.D. (1981) Intra-sex and inter-sex sibling interactions as sex ratio determinants. *Nature*, **291**, 64-66.

Team, R.D.C. (2007) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing.

Teder, T. (2005) Male-biased size dimorphism in ichneumonine wasps (Hymenoptera: Ichneumonidae) - the role of sexual selection for large male size. *Ecological Entomology*, **30**, 342-349.

Thiel, A., Driessen, G., & Hoffmeister, T.S. (2006) Different habitats, different habits ? Response to foraging information in the parasitic wasp *Venturia canescens*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **59**, 614-623.

Thornhill, R. & Alcock, J. (1983) The Evolution of Insect Mating Systems Harvard University Press, Cambridge.

Toft, C.A. (1984) Activity budgets in two species of bee flies (Lordotus: Bombyliidae, Diptera): a comparison of species and sexes. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **14**, 287-296.

Tregenza, T. & Wedell, N. (2000) Genetic compatibility, mate choice and patterns of parentage. *Molecular Ecology*, **9**, 1013-1027.

Tregenza, T., Wedell, N., & Chapman, T. (2006) Introduction. Sexual conflict: a new paradigm? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **361**, 229-234.

Trivers, R.L. (1972). Parental investment and sexual selection. In Sexual selection and the descent of man1871-1971 (ed. by B.G. Campbell), pp. 136-179. Adine, Chicago.

Trivers, R.L. & Willard, D.E. (1973) Natural Selection of Parental Ability to Vary the Sex Ratio of Offspring. *Science*, **179**, 90-92.

Valone, T.J. & Templeton, J.J. (2002) Public information for the assessment of quality: a widespread social phenomenon. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, **357**, 1549-1557.

van Alphen, J.J.M. & Visser, M.E. (1990) Superparasitism as an adaptative strategy for insect parasitoids. *Annual review of entomology*, **35**, 59-79.

van den Assem, J. (1996). Mating behavior. In Insect Natural Enemies-Practical Approaches to Their Study and Evaluation (ed. by M. Jervis & N. Kidd), pp. 163-221, Chapman & Hall, London,.

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

van den Assem, J. & Werren, J.H. (1994) A comparison of the courtship and mating behavior of three species of Nasonia (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Insect Behavior*, **7**, 53-66.

van Dijken, M.J., van Alphen, J.J.M., & van Stratum, P. (1989) Sex allocation in *Epidinocarsis lopezi*: local mate competition. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **52**, 249-255.

van Santen, M.C.P. & Schneider, M.V. (2002) Courtship description in the solitary parasitoid wasp *Venturia canescens* (Hymenoptera). *Proceedings of Experimental and Applied Entomology, N.E.V. Amsterdam*, **13**, 87-92.

van Welzen, C.R.L. & Waage, J.K. (1987) Adaptative response to local mate competition by the parasitoid, *Telenomus remus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **21**, 359-365.

van Wilgenburg, E., Driessen, G., & Beukeboom, L.W. (2006) Single locus complementary sex determination in Hymenoptera: an "unintelligent" design? *Frontiers in Zoology*, **3**.

Velthuis, B.-J., Yang, W., van Opijnen, T., & Werren, J.H. (2005) Genetics of female mate discrimination of heterospecific males in *Nasonia* (Hymenoptera, Pteromalidae). *Animal Behaviour*, **69**, 1107-1120.

Vickers, N.J. (2000) Mechanisms of Animal Navigation in Odor Plumes. *The Biological Bulletin*, **198**, 203-212.

Vinson, S.B. (1972) Courtship behavior and evidence for a sex pheromone in the parasitoidCampoletis sonorensis [Hymenoptera: Ichneumonidae]. *Environmental Entomology*, **1**, 409-415.

Waage, J.K. (1982) Sex ratio and population dynamics of natural enemies-some possible interactions. *Ann. of Appl. Biol.*, **101**, 159-164.

Waage, J.K. & Lane, J.A. (1984) The reproductive strategy of a parasitic wasp. II. Sex allocation and local mate competition in *Trichogramma evanescens*. *Journal of Animal Ecology*, **53**, 417-426.

Wade, M.J. & Shuster, S. (2002) The evolution of parental care in the context of sexual selection: a critical reassessement of parental investment theory. *The American naturalist*, **160**, 285-292.

Wajnberg, E. (2006) Time allocation strategies in insect parasitoids: from ultimate predictions to proximate behavioral mechanisms. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **60**, 589-611.

Waldman, B. (1988) The ecology of kin recognition. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, **19**, 543-571.

Werren, J.H. (1980) Sex ratio adaptations to local mate competition in a parasitic wasp. *Science*, **208**, 1157-1158.

Werren, J.H. (1984) Brood size and sex ratio regulation in the parasitic wasp *Nasonia vitripennis* (Walker) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Netherlands Journal of Zoology*, **34**, 123-143.

West, S.A., Compton, S.G., Vincent, S.L., Herre, E.A., & Cook, J.M. (1998) Virginity in haplodiploid populations: a comparison of estimation methods. *Ecological Entomology*, **23**, 207-210.

West, S.A. & Herre, E.A. (2002). Using sex ratios: why bother ? In Sex Ratios, Concept and Research Methods (ed. by I.C.W. Hardy), pp. 399-413. Cambridge University Press, Cambridge.

West, S.A. & Sheldon, B.C. (2002) Constraints in the evolution of sex ratio adjustment. *Science*, **295**, 1685-1688.

West, S.A., Shuker, D.M., & Sheldon, B.C. (2005) Sex-ratio adjustment when relatives interact: a test of constraints on adaptation. *Evolution*, **59**, 1211-1228.

Whiting, P.W. (1943) Multiple alleles in complementary sex determination of habrobracon. *Genetics*, **28**, 365-382.

Williams, G.C. (1992) Natural Selection: Domains, Levels and Challenges Oxford University Press.

Wilson, K. & Hardy, I.C.W. (2002). Statistical analysis of sex ratios: an introduction. In Sex ratios: concepts and research methods. (ed. by I.C.W. Hardy), pp. 48-92. Cambridge University Press, Cambridge.

Wyatt, T.D. (2003) Pheromones and animal behaviour: communication by smell and taste Cambridge University Press, Cambridge, U.K.

New York.

Yang, Z., Bengtsson, M., & Witzgall, P. (2004) Host plant volatiles synergize response to sex pheromone in codling moth, *Cydia pomonella*. *Journal of Chemical Ecology*, **30**, 619–629.

Yoshida, S. (1978) Behaviour of males in relation to the female sex pheromone in the parasitoid wasp, *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **23**, 152-162.

Zahavi, A. (1975) Mate selection—A selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology*, **53**, 205-214.

Zayed, A. & Packer, L. (2005) Complementary sex determination substantially increases extinction proneness of haplodiploid populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **102**, 10742-10746.

Zeh, J.A. & Zeh, D.W. (1996) The Evolution of Polyandry I: Intragenomic Conflict and Genetic Incompatibility. *Proceedings: Biological Sciences*, **263**, 1711-1717

Zuk, M. & Kolluru, G.R. (1998) Exploitation of sexual signals by predators and parasitoids. *The Quarterly Review of Biology*, **73**, 415-438.

Annexes

ANNEXE A : Identification des phéromones femelles intervenant dans les relations intra-spécifiques chez les mâles et les femelles V. canescens

Nous avons montré que : i) l'odeur des femelles était capable d'induire le décollage et le vol orienté des mâles, ii) l'odeur de femelle associée avec des hôtes augmentait le temps passé avant le décollage par rapport à des patchs sans femelles, suggérant que les femelles sont capables de se détecter entre elles à distances (article I). Ces résultats posent la question de la nature de ces informations olfactives : est-ce que ce sont les mêmes composés organiques volatiles qui sont utilisés par les mâles pour rechercher les femelles et par les femelles pour s'éviter lors de l'exploitation des hôtes ? Cette annexe présente brièvement un projet qui permettrait de répondre à cette question.

Ce projet a été en partie imaginé suite à la formation sur les Composés Organiques Volatiles d'origine biogénique qui s'est tenu au Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive à Montpellier les 17 et 18 janvier 2008.

Etape 1: identification des composés perçus par les mâles et les femelles

Collection des volatiles

Deux techniques sont a priori utilisables pour concentrer les COV émis par des femelles, celles utilisant des tubes d'adsorbant (ou d'adsorbant) en espace de tête dynamique soit l'utilisation de fibre SPME (Solid Phase Micro Extraction) (voir Figure a). L'utilisation de fibre SPME nécessite a priori moins de matériel et un temps de prélèvement moins long que les tubes à adsorbant mais rend délicate la quantification des COV et certains COV peuvent être perdus.

Les échantillons vivants prélevés devront être des mâles vierges - femelles vierges - femelles accouplées - 3 témoins correspondants. Le contrôle de l'âge et du statut d'accouplement des individus émetteurs est essentiel.

Analyse en GC-MS et GC-EAD

- *Chromatographie en phase Gazeuse-liquide* [Gas-liquid Chromatography] (GC) sur les échantillons. Cette étape permet de séparer les composés chimiques. Le

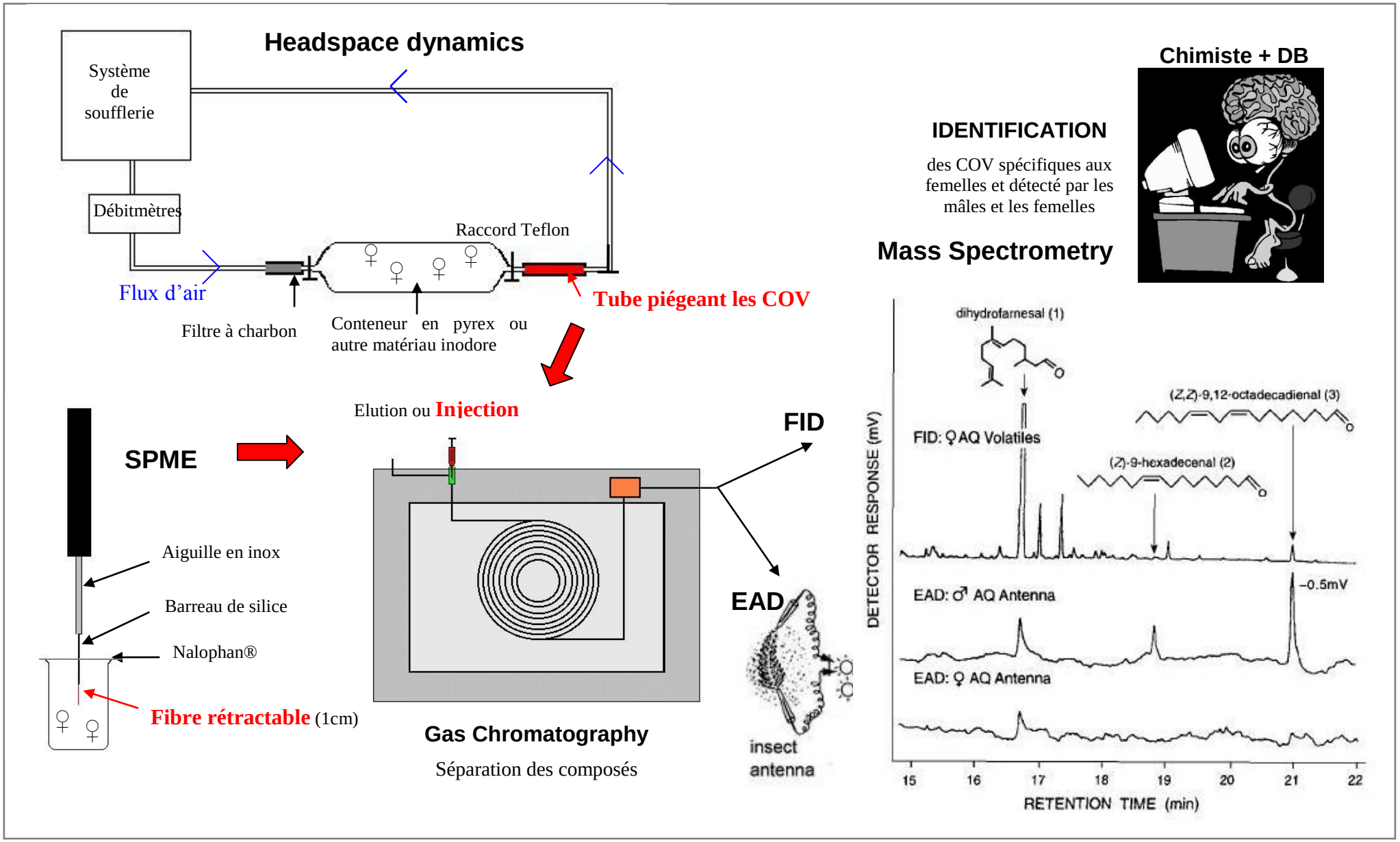
branchement sur un spectromètre de masse permet l'identification des composés. La technique d'injection reste à déterminer (Thermodésorption ou élution « classique » après évaporation).

- *Couplage à un détecteur électroantennographe.*

Le détecteur du chromatographe risque de mettre en évidence un grand nombre de COV dont un seul peut avoir une activité biologique. Les phéromones chez les insectes sont en réalité très souvent des mélanges de composés plutôt qu'un seul composé et les phénomènes de synergisme ne sont pas rares (Nation, 2002 ; Wyatt, 2003). D'autre part, un ou des composés essentiels à la réponse peuvent être émis en quantité très faible et rester indétectable au détecteur du chromatographe (pour un exemple chez un parasitoïde voir Danci et al., 2006a). La technique de GC-EAD (Gas Chromatography coupled with Electro Antenogramm Detection, Figure a) permet de remédier à ces problèmes (Wyatt, 2003) en déterminant parmi les composés du bouquet émis ceux qui sont perçus par l'insecte ce qui réduit fortement le nombre de composés phéromonals candidats. Elle permet aussi de mettre en évidence des réponses à des composés en dessous du seuil de détection du chromatographe, l'antenne de l'insecte étant un meilleur détecteur que celui du FID (sensible à des quantités inférieures au picogramme). Nous pourrons comparer les réponses des mâles et des femelles à différents composés émis par les mâles et les femelles. La technique de GC-EAD déterminera précisément les volatiles qui sont détectés par les mâles et les femelles

- *Détermination des COV spécifiques aux femelles* par comparaison des profils mâles/femelles/témoin et des électro-antennogrammes mâles et femelles.

Figure a. Etapes de collection puis d'analyse par GC-MS combinée à la détection par Electro-antennographe (EAS), des composés organiques volatiles émis par des femelles (lecture de gauche à droite). La collection des volatiles peut avoir lieu en utilisant la technique de l'espace de tête dynamique (Headspace dynamics) où un flux d'air entraine les composés volatiles émis par les femelles dans un tube contenant un adsorbant. La collection peut aussi avoir lieu en utilisant une fibre SPME (Solid Phase Micro Extraction) mise en contact quelques minutes avec des femelles. Après la collecte, les échantillons sont injectés dans le chromatographe où ils sont séparés dans la colonne de gaz car ils ressortent séparés par un laps de temps + ou - long (retention times). A la sortie de la colonne une partie est détectée par le détecteur du chromatographe (FID), l'autre partie passant simultanément devant le détecteur de l'électroantennographe (EAD). Les spectres sont alignés de façon à identifier les composés détectés par l'insecte (d'après Wyatt, 2003). Le graphique montrant l'EAD est issue de l'étude identifiant les phéromones sexuelles chez le parasitoïde *Ascogaster quadridentata* DeLury et al. (1999). Le couplage avec un spectromètre de masse doit permettre d'identifier les pics mis en évidence par le détecteur.


Headspace dynamics
Système de soufflerie
Débitmètres
Raccord Teflon
Flux d'air
Filtre à charbon
Conteneur en pyrex ou autre matériau inodore
Tube piégeant les COV
Elution ou Injection
SPME
Aiguille en inox
Barreau de silice
Nalophan®
Fibre rétractable (1cm)
Gas Chromatography
Séparation des composés
FID
EAD
insect antenna
Chimiste + DB
IDENTIFICATION
des COV spécifiques aux femelles et détecté par les mâles et les femelles
Mass Spectrometry
dihydrofarnesal (1)
(Z,Z)-9,12-octadecadienal (3)
(Z)-9-hexadecenal (2)
FID: ♀ AQ Volatiles
EAD: ♂ AQ Antenna
EAD: ♀ AQ Antenna
−0.5mV
DETECTOR RESPONSE (mV)
15
16
17
18
19
20
21
22
RETENTION TIME (min)

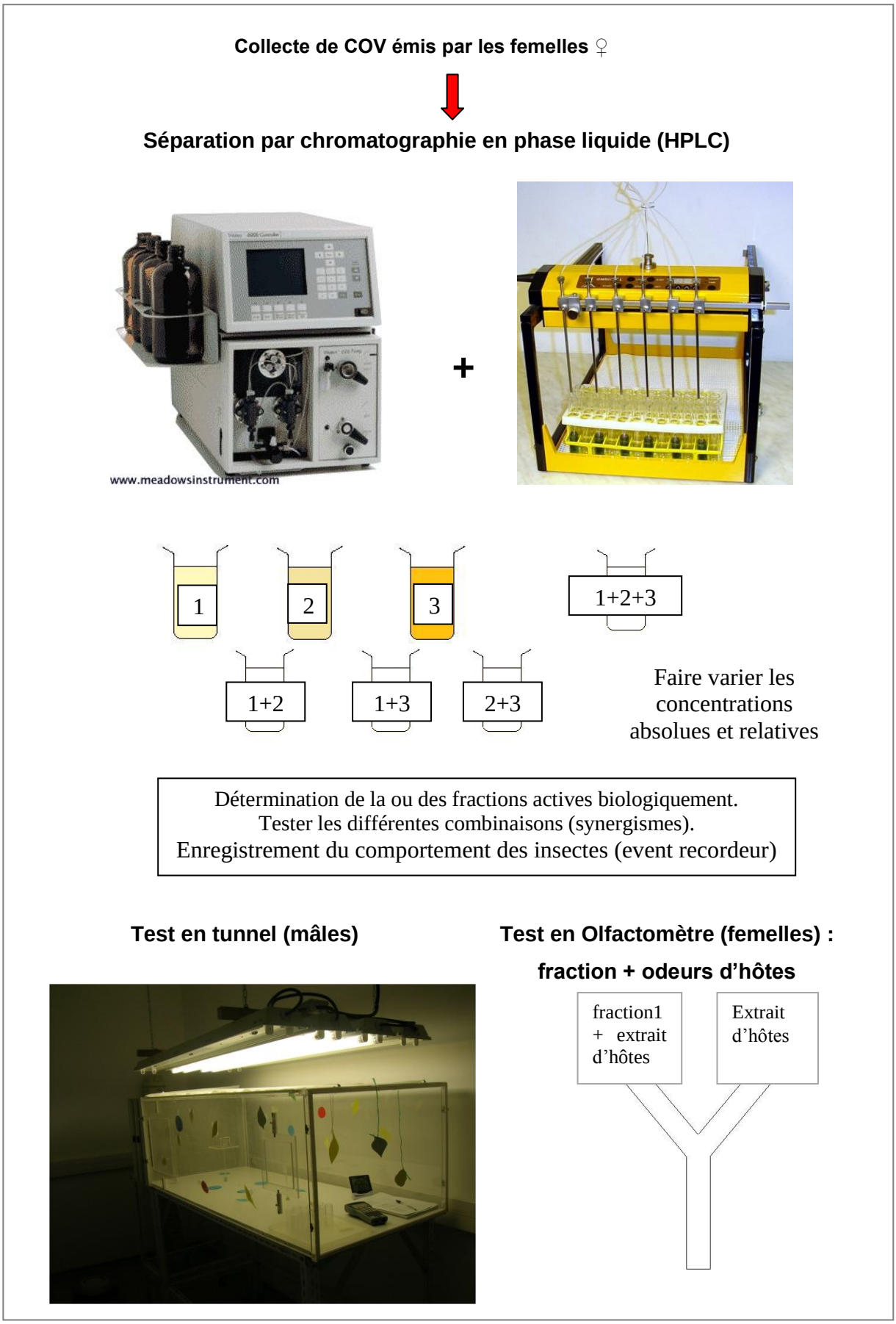


Figure b. Etape de fractionnement puis de test des différentes fractions en tunnel de vol.

Etape 2 : Essai en tunnel

Collection des volatiles (2)

Un nouveau piégeage des COV est indispensable si les échantillons ont été détruit dans l'analyse comme le nécessite les techniques par thermo-désorption et celles fibres SPME.

Extraction des différentes fractions

Fractionnement du mélange de COV.

Chromatographie en phase liquide ou en HPLC qui utilise les caractéristiques physico-chimiques des COV du mélange comme leurs différentes solubilités dans les solvants pour les séparer (élution successives).

(Ou fabrication de phéromone synthétique)

Essais en tunnel

Test de l'activité biologique des différentes fractions pour les mâles et les femelles en tunnel de vol.

- Une fraction active pour les mâles doit les attirer sur une cible (vol orienté vers la source d'odeur)
- Une fraction active pour les femelles doit modifier leur temps de décollage en direction d'un patch d'hôte. Ajouter odeurs d'hôtes est indispensable. Utilisation d'un système de cloche + pompes à envisager (réaliser le test en olfactomètre serait peut-être plus simple avec un test de choix).
- Témoin supplémentaire avec uniquement le solvant (attention certains solvants peuvent être répulsifs…).

(Test de l'attractivité de la phéromone synthétique)

Annexe B : Spermathèque chez *Venturia canescens*

Protocole de coloration au DAPI voir (Bressac & Chevrier, 1998)

Fig. a Dissection de l'appareil reproducteur femelle de *V. canescens* : position de la spermathèque. (loupe binoculaire). Photographie C. Bressac.

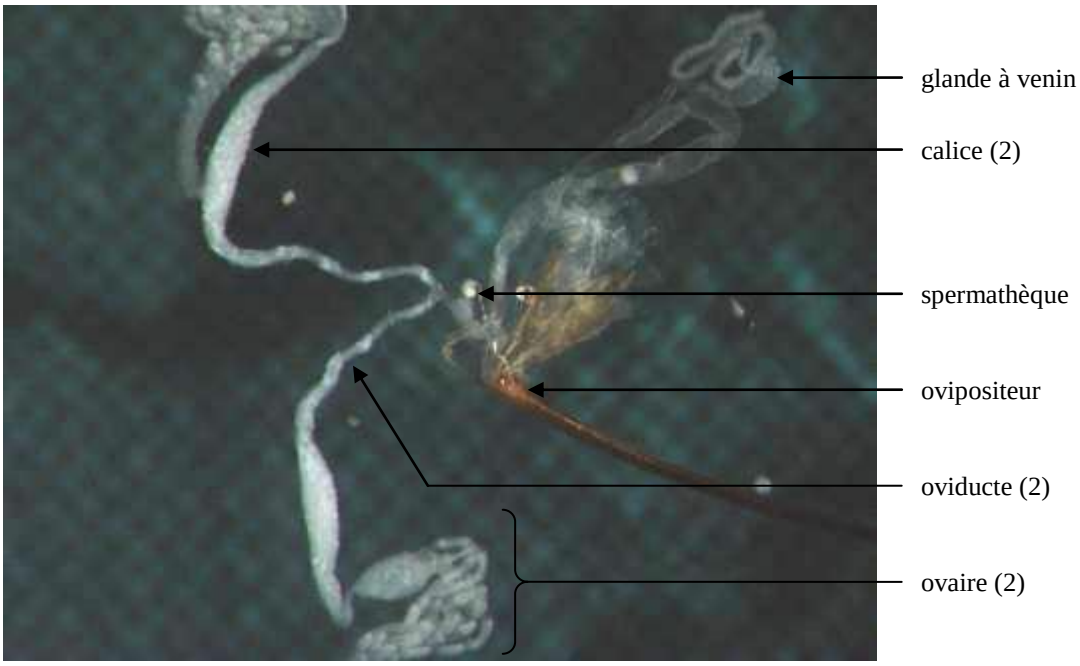


Fig. b La spermathèque de *V.canescens* (microscope à contraste de phase). Photographie C. Bressac.

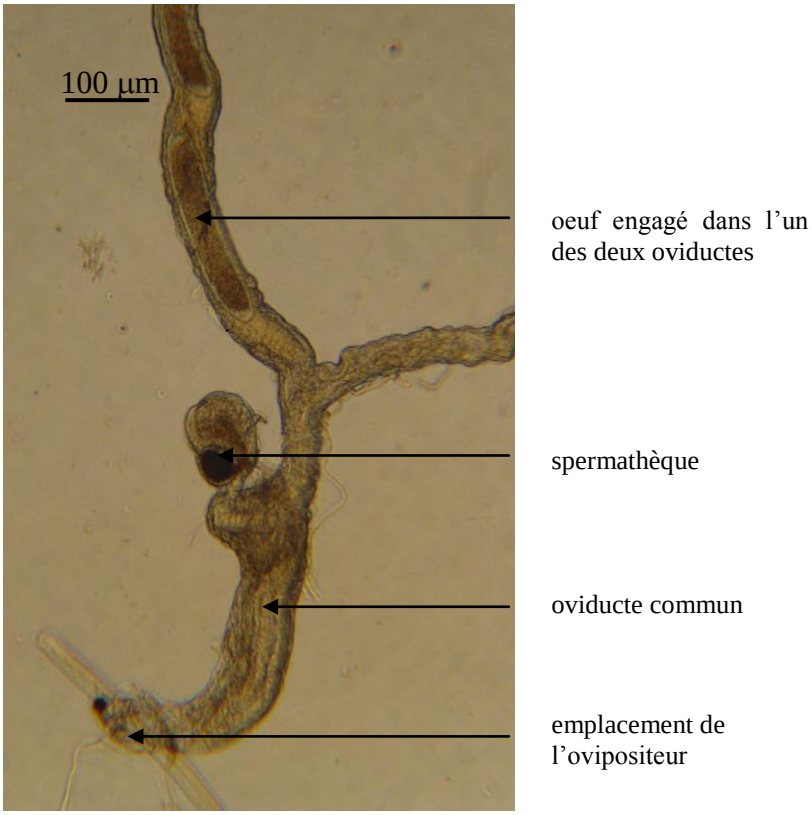
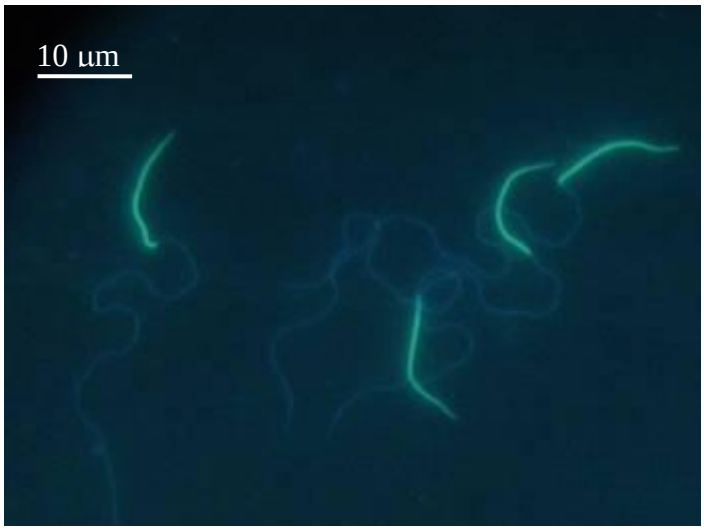


Fig c. Spermatozoïdes de *V.canescens* (coloration au DAPI, microscope à fluorescence). Photographie C.Bressac.



Annexe D : Résumé des résultats et perspectives

Résumé des informations externes et internes utilisées lors des prises de décisions en rapport avec l'acquisition des partenaires (recherche et choix) et du choix du sexe de la descendance chez *V.canescens*. Les causes évolutives des comportements, ainsi que les hypothèses alternatives à ces causes évolutives sont aussi résumées. Symboles utilisés : (+/-) niveau de crédibilité d'une hypothèse, (?) incertitude sur la faisabilité, ou (???) l'intérêt, d'une perspective proposée.

		INFORMATIONS TESTEES	CAUSES EVOLUTIVES	HYPOTHESES ALTERNATIVES	PERSPECTIVES
Lors de la recherche des partenaires	A distance	Les femelles vierges mais aussi les femelles accouplées émettent une substance volatile attractive pour les mâles qui est aussi perçue par les femelles.	Espionnage d'un signal sexuel	Phéromone d'évitement entre femelles	Tester si ce sont les mêmes volatiles qui sont perçus par les mâles et les femelles (annexe A)
			- Dispersion hors du lieu de naissance des mâles - recherche des femelles sur les sites où elles ont le plus de chance de se trouver : l'utilisation d'information portant sur les hôtes <u>augmente la fiabilité de l'indice phéromonal lié aux femelles</u> - stratégie d'acquisition des femelles de type « course aux partenaires »	Lieu de rendez-vous arbitraire	Déterminer les COV émis par les femelles et utilisés par les mâles (annexe A)
		L'association des femelles avec des hôtes renforce leur attractivité pour les mâles (combinaisons d'informations)		- Augmentation de l'émission du signal à cause de la ponte - Préférence pour les femelles de bonne qualité (-)	Rechercher les causes du synergisme et tester l'effet des combinaisons d'informations (section 2. Partie **1.2**)
		Les hôtes sains ne sont pas attractifs à distance pour les mâles	Ressource non monopolisable : pas de gardiennage des sites de pontes		Vérifier l'absence d'attractivité à distance des hôtes parasités qui indiquerait une recherche possible des sites d'émergence des femelles
		Les mâles sont faiblement attractifs pour les autres mâles (uniquement quand ils sont associés à des hôtes)	Mimétisme chimique résiduel des volatiles émis par les femelles afin de détourner les mâles des sites d'émergences (-)	Contrainte physiologique pouvant être désavantageuse (+)	Déterminer les COV émis par les mâles (???)
		Les mâles ne sont pas attractifs pour les femelles	Les mâles prennent en charge les coûts associés à la mobilité		Mesurer les coûts de la production des phéromones et les coûts à la mobilité (?)

		INFORMATIONS TESTEES	CAUSES EVOLUTIVES	HYPOTHESES ALTERNATIVES	PERSPECTIVES
	A proximité	Les hôtes en eux même ne retiennent pas les mâles	Ressource non monopolisable : pas de gardiennage des sites de pontes		
		Les patchs d'hôtes parasités par les femelles retiennent plus longtemps les mâles	Indice fiable de la présence d'une femelle à proximité des marques (-)	Effet résiduel : patch imprégné par les volatiles perceptible à distance (+)	Tester à nouveau cette hypothèse en utilisant une seule femelle pendant une durée plus courte (???)
		Informations chimiques utilisables à faible distance pour le rapprochement et le déclenchement de la parade sexuelle	Reconnaissance spécifique	Informations visuelles également nécessaire	Déterminer les phéromones peu volatiles ou volatiles perceptibles à distance qui provoquent aussi le comportement de parade (?)

Lors du choix du partenaire	Les femelles reconnaissent et évitent de s'accoupler avec leurs frères	Sl-CSD responsable d'une incompatibilité génétique : réduction du risque de production de fils diploïdes		Recherche du mécanisme : reconnaissance des mâles apparentés par autoréférence et concordance des phénotypes (?) → première étape = recherche de similitude olfactive entre individu apparentés (mâles et femelles) (Annexe B)
		Conflit sexuel à propos des accouplements consanguins (si les mâles ne sont pas discriminants)	Sélection de parentèle (si les mâles sont discriminants)	Déterminer le rôle des mâles lors du choix
	Lorsque deux mâles sont en compétition, la femelle ne distingue plus les frères des non-frères	Situation où les femelles sont courtisées simultanément par plus d'un mâle sont peu fréquentes	Pas de contrôle en situation de compétition entre mâles (stratégie sournoise)	Tester l'hypothèse de l'inhibition de la réceptivité des femelles suite à la reconnaissance de l'un des deux mâles comme son frère (confusion chimique) (?)
	Effet de l'âge des femelles sur le taux de succès des accouplements	Coût à l'accouplement pour les femelles quand l'âge augmente	Inutilité du maintient du signal ou préférence pour les femelles jeunes	Tester si c'est la réceptivité des femelles qui diminue avec l'âge et/ou leur attractivité qui est réduite Première étape : quantifier l'intensité de la parade sexuelle des mâles pour des femelles vierges en fonction de l'âge (?)

<table>
<tr><th></th><th colspan="2">INFORMATIONS TESTEES</th><th>CAUSES EVOLUTIVES</th><th>HYPOTHESES ALTERNATIVES</th><th colspan="2">PERSPECTIVES</th></tr>
<tr><td rowspan="5">Lors de l'allocation aux sexes</td><td rowspan="2">Pas d'effet des rencontres préalables</td><td>avec des femelles accouplées</td><td rowspan="2">Informations non pertinentes pour l'ajustement de la sex-ratio</td><td>Compétition locale pour les accouplements
(Hamilton 1967)</td><td>Tester l'effet de marques chimiques laissées par les femelles sur les patchs et dans les hôtes parasités sur la sex-ratio (?)</td><td rowspan="5"><u>Travailler sur les hypothèses des modèles</u> :
1. Etude de la structure génétique des populations
2. Comparaison des capacités de dispersion des mâles et des femelles, dispersion différentielle à l'émergence
3. Etude de la compétition entre sœurs pour l'accès aux hôtes</td></tr>
<tr><td>avec des mâles ou des femelles vierges</td><td>Constrained model
(Godfray, 1990)</td><td>Tester l'effet du temps passé contrainte</td></tr>
<tr><td colspan="2">Pas de variation de la sex-ratio en lien avec la proportion de femelles contraintes en condition naturelle</td><td>Pas d'informations fiables de la proportion de femelles contraintes dans les populations (-)</td><td>La présence de femelles contraintes dans les populations naturelles influence peu la sex-ratio optimale (population non panmictique) (+)</td><td>Augmenter l'échantillonnage</td></tr>
<tr><td colspan="2">La fréquence de ponte a un effet sur la sex-ratio</td><td>Compétition locale pour les ressources,
La fréquence de ponte renseigne sur la richesse en hôte dans l'environnement et le niveau de compétition expérimenté par les filles (+)</td><td>Contrainte physiologique
= fertilisation accidentelle (-)</td><td>Augmenter le nombre de répétitions
Déterminer l'efficacité d'utilisation des spermatozoïdes</td></tr>
</table>