



**HAL**  
open science

# Relation entre diversité et exploitation de ressources : exemple des parasitoïdes *Aphidius* dans des associations de cultures

Martin Luquet

## ► To cite this version:

Martin Luquet. Relation entre diversité et exploitation de ressources : exemple des parasitoïdes *Aphidius* dans des associations de cultures. Biologie végétale. Agrocampus Ouest, 2019. Français. NNT : 2019NSARA084 . tel-03610462

**HAL Id: tel-03610462**

**<https://theses.hal.science/tel-03610462>**

Submitted on 16 Mar 2022

**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.

# THESE DE DOCTORAT DE

AGROCAMPUS OUEST  
COMUE UNIVERSITE BRETAGNE LOIRE

ECOLE DOCTORALE N° 600  
*Ecole doctorale Ecologie, Géosciences, Agronomie et Alimentation*  
Spécialité : « *Ecologie et Evolution* »

Par

**Martin LUQUET**

## **Relation entre diversité et exploitation de ressources : exemple des parasitoïdes *Aphidius* dans des associations de cultures**

Thèse présentée et soutenue à Agrocampus Ouest, Angers, le 17 décembre 2019

Unité de recherche : UMR 1349 IGEPP - Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes

Thèse N° : 2019-29 A-84

### **Rapporteurs avant soutenance :**

Claudio LAZZARI      Professeur, Université de Tours  
David BOHAN        Directeur de recherche, INRA

### **Composition du Jury :**

Claudio LAZZARI  
Professeur, Université de Tours / *Rapporteur*

David BOHAN  
Directeur de recherche, INRA / *Rapporteur*

Isabelle AMAT  
Maître de conférences, UCB Lyon 1 / *Examinatrice*

Aude COUTY  
Maître de conférences, Université de Picardie / *Examinatrice*

Sylvia ANTON  
Directrice de recherche, INRA / *Directrice de thèse*

Anne-Marie CORTESERO  
Professeure, Université Rennes 1 / *Co-directrice de thèse*

Bruno JALOUX  
Maître de conférences, Agrocampus Ouest /  
*Co-encadrant de thèse*

Anne LE RALEC  
Professeure, Agrocampus Ouest / *Référente établissement*





Deux parasitoïdes *Aphidius ervi* se nourrissant du nectar extrafloral produit par la féverole (*Vicia faba*) : une femelle (photo du haut) et un mâle (photo du bas). Photos par Artzai Jauregui, ©.



## REMERCIEMENTS

### *Le jury*

Avant d'entamer cette section, je tiens à remercier chaleureusement les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse. Merci aux deux rapporteurs **David Bohan** et **Claudio Lazzari**, aux deux examinatrices **Aude Couty** et **Isabelle Amat**, et à **Anne Le Ralec** d'avoir accepté d'être référente pour Agrocampus. J'espère sincèrement que vous trouverez de l'intérêt à la lecture de ce manuscrit.

### *Les encadrants*

Un ENORME merci bien sûr à mes trois encadrants de rêve. Je suis conscient de la chance que j'ai d'avoir une équipe aussi impliquée, réactive et complémentaire pour me soutenir et m'encadrer pendant cette thèse. Vous êtes à la fois au top scientifiquement et humainement adorables et c'est grâce à vous que j'ai réussi à (au moins un peu) gagner confiance en moi pendant cette thèse. J'ai énormément appris grâce à vous trois, en écologie mais pas que. Merci beaucoup pour toutes les réflexions sur les manips, les retours sur les papiers (en particulier votre réactivité hors du commun pour la rédaction de la thèse !) mais aussi pour votre bienveillance et votre soutien indéfectible. Merci également de m'avoir toujours donné une grande liberté pour tenter des choses et aller creuser dans plein de directions intéressantes, même pour faire mes trucs de geek. Là aussi, je me rends compte que c'est pas donné et que j'ai beaucoup de chance. J'espère vraiment qu'on va garder contact après tout ça ☺ J'ai l'impression qu'on a été une bonne équipe tous les 4 et j'espère sincèrement que vous êtes satisfaits du travail accompli. En tout cas, moi je le suis, et c'est grâce à vous.

Merci **Bruno** d'avoir été aussi cool et disponible, toujours chaud pour proposer des idées et écouter les miennes (même nulles), mais également pour ton soutien sans faille dans tous les aspects de la thèse (les manips, la rédaction mais aussi les enseignements et plein d'autres trucs). Avec le recul c'est même assez fou ! En tout cas, c'est grâce à ça que j'ai tenu le coup et en plus, on a quand même bien rigolé. Merci aussi pour la nourriture :D (bon, là par contre j'ai pas trop appris de toi)

Merci **Sylvia** pour ta gentillesse, ta patience (malgré mon organisation chaotique) et ta réactivité exceptionnelle qui a permis je pense d'apporter pas mal de sérénité à l'avancement de la thèse. Merci pour ton aide dans les manips (surtout les EAG... heureusement que t'étais là), la rédaction et pour m'avoir permis d'en apprendre un peu plus en neuro, qui est quand même un truc assez passionnant. Je veux pas trop me mouiller, mais j'ai l'impression qu'il n'y a pas beaucoup de thésards qui ont un directeur-trice aussi bienveillant et disponible.

Et merci **Anne-Marie** d'avoir gardé un œil avisé et régulier sur la thèse malgré l'éloignement et ton emploi du temps de ministre de l'espace. Tes remarques toujours été extrêmement pertinentes et ont clairement permis d'avancer dans la bonne direction. Et ton regard avisé m'ont toujours aidé à gagner en clarté – mais merci quand même d'avoir traqué les signaux qui se transforment en stimuli ou les mécanismes en processus ;)

## *Les collaborateurs*

Une thèse, ça se fait pas tout seul, et je tiens donc à remercier les nombreux collaborateurs scientifiques qui ont participé à tout ce qui est présenté dans ce manuscrit.

En premier lieu, merci aux membres de mon comité de thèse **Maxime, Manu, Anne, Joan** et **Blas** d'avoir suivi tous ces travaux, d'être venus apporter leurs conseils, leurs réflexions pertinentes et complémentaires (qu'on a suivis !) Mais aussi pour avoir cadré un peu tout ça, c'est vrai que j'étais un peu parti pour faire 5 ou 6 thèses.

A great thanks to my favorite Chilean colleagues, **Blas** and **Ainara**. It was super nice to work with you two. Thanks Ainara for all that you've done about the HPLC experiments, without you all the rest may have not followed! Cheers to you, Artzai (thanks to him for the great pictures!) and to mini-Ainara. Thanks Blas for keeping an eye on all the work – I know you've got the same kind of crazy schedule as Anne-Marie ;)

Merci énormément à **Pascale** ! Ton implication a non seulement permis de réaliser une bonne part des manips, mais aussi d'avancer de manière super efficace. Comme quoi, c'était chaud, mais ça valait vraiment le coup de tenter ! C'était toujours un plaisir de discuter et rigoler avec toi entre deux manips.

Un grand merci à **Maxime, Manu** et **Nicolas** pour leur implication sur la partie stats. Je vais pas vous mentir, je vous tiens tous les 3 en haute estime et au départ j'étais assez intimidé de travailler avec vous. Mais c'est vite passé et c'était vraiment super agréable de travailler avec vous 3 tant sur le plan humain que scientifique. En plus de votre implication, j'ai vraiment énormément appris auprès de vous. J'espère sincèrement que ça vous a plu aussi.

Merci beaucoup à **Maurice** et **Jean-Christophe** aussi ! C'était vraiment sympa de pouvoir continuer à travailler un peu avec vous pendant la thèse, et je pense que c'est en grande partie en travaillant avec vous avant la thèse que j'ai pris goût à la recherche, ça me semblait naturel d'inclure votre nom ici 😊

Sans eux, tout s'écroule : un merci monumental à tous les techniciens qui m'ont apporté leur aide. En premier lieu, merci à **Estelle** bien sûr pour tout ce à quoi tu as contribué, j'espère que tout se passe bien de ton côté. Merci aussi à **Ferréol** (avec qui on a dû citer à peu près 3 fois l'intégrale de Kaamelott – bon par contre, je sais pas si je dis merci pour les chansonnettes qui restent dans la tête :D) et **Christelle**, d'avoir apporté tout un tas de coups de main pour les élevages mais pas que. Merci en particulier pour votre aide sur la fin, c'était vraiment salvateur ça aurait pas été possible autrement ! Et merci aussi pour votre bonne humeur au quotidien qui ont fait que globalement, c'était quand même bien sympa. Merci également à **Joël** de nous avoir régulièrement sauvé la vie, et aussi à **Christelle Buchard** d'avoir été si disponible pour m'aider dans les identifications et répondre à mes questions. Je suis vraiment content qu'on ait pu garder contact pendant la thèse, j'espère que ça continuera ! Merci aussi beaucoup à **Ivana** de m'avoir aidé pour tout un tas de trucs (y compris au péril de sa vie face aux pièges à oiseaux de l'enfer) dans les périodes où j'avais pas le temps, c'est-à-dire à peu près tout le temps ;)

Cette thèse a été financée dans le cadre du projet Européen et inter-régional **PROGRILIVE**. Un grand merci à tous les partenaires du projet et en particulier à **Solen** d'avoir suivi le projet avec intérêt.

Sans eux non plus, il n'y aurait pas grand-chose : merci aux 3 meilleurs stagiaires de l'univers, pour avoir assuré dans les manips et pour avoir été aussi choupinous. Vous êtes tous les trois de brillants scientifiques en herbe et je vous souhaite que le meilleur pour la suite.

- **Alexandre** : je sais pas trop où t'en es, mais j'espère avoir de tes nouvelles un des jours, en tout cas si tu veux arrêter l'agronomie tu peux te lancer dans la construction de maison ;) )
- **Olympus** : la plus géniale ! On s'est vraiment marrés et ça me manque vraiment de manger des donuts en regardant des chèvres. Merci de partager le fardeau de la galère ultime avec moi. Fonce pour la thèse, je crois en toi ! Et j'espère que tu pourras venir pour la soutenance 😊 D'ailleurs sinon on pourra pas ouvrir les bouteilles sans ta chaussure :D
- **Clarice** : le plus adorable ! Merci de m'avoir sauvé la vie en m'offrant du taboulé. Désolé pour la fin un peu bordellique mais merci d'avoir tenu le cap même si j'étais plus super dispo. Toi aussi, si t'es toujours partant, t'as 1000 fois les capacités (et la passion surtout) pour briller dans une thèse, j'espère en tout cas que tu trouveras une voie où tu t'éclates ;)

### *Les collègues/Les camarades/Les potes*

J'adresse un merci du fond du cœur (genre au niveau du ventricule droit... enfin je sais pas trop en fait, je fais de l'écologie moi !) à tous les membres du **département Ecologie** d'Angers. Je pense que c'est assez rare de pouvoir travailler dans une ambiance aussi conviviale, amicale et bienveillante. C'est aussi grâce à vous que ma thèse a été une aussi bonne expérience. Ça a été pour moi vraiment agréable de cohabiter avec des personnes aussi cool et de discuter de science ou de plein d'autres choses et de rigoler avec vous. Et de faire des barbeucs et des fondues aussi. En tout cas les Pasta Box auront plus le même goût après ça ! Bisous aussi aux collègues d'Hemp'lt, toujours souriants malgré les multiples galères.

Un coucou aux camarades doctorants qui ont partagé et partagent encore mon bureau : **Arnaud**, toujours dispo pour répondre à mes questions débiles, **Anna**, mon modèle de doctorant quand j'ai commencé et que j'étais tout perdu (t'as l'air bien occupée mais t'as l'air d'aller bien ;) ), **Florence** (désolé pour le bordel dans le bureau !) et **Louise**, la relève -> courage pour la suite, j'espère bien pouvoir continuer à suivre tes avancements !

Merci également à tous les stagiaires/CDD qui sont passés par là et qui ont contribué à mettre de l'ambiance dans le couloir. **Olympe** et **Marie** bien sûr, franchement on s'est quand même vraiment marrés. La thèse valait le coup rien que pour vous rencontrer toutes les 2 ! C'était vraiment cool et c'est plus du tout pareil de manger des kebabs sans vous (et je dis kebab pour pas dire bière !). Mais je sais que c'est que partie remise ;) **Manon**, j'espère que t'as la pêche, on se revoit bientôt (mais on ira pas se baigner en décembre !), **Loïse** (ne bride pas ton cœur de rebelle !), et l'équipe de choc 2019 : **Clarice**, **Charlotte**, **Zoé**, **Marine** et **Kathleen** (courage pour la thèse, avec Anne-Marie, Maxime, et Sylvia je vois pas bien comment ça pourrait mal se passer), placée sous le signe saint de la triforme sushi/blind test/molkki. Les derniers mois sont passés tout seul grâce à vous, amusez-vous bien pour la suite !!

J'oublie pas **Rémi** et **Ivana**, c'était vraiment sympa de vous avoir au bureau, mais aussi ailleurs pour faire des Catane en mangeant des Pizza Micky et en écoutant des vinyles de Black Sabbath (le combo ultime). Amusez-vous bien dans le Grand Nord, j'espère pouvoir venir goûter vos légumes un de ces 4 (et oubliez pas mon renne !)

Un grand merci aussi à tous les copains qui ont été présents pendant la thèse, m'ont apporté leur soutien et leurs encouragements, ou ont juste continué à être mes potes :



- Déjà, à toute la **famille Moutier** et aux camarades du **Doctoberfest**. Aka le groupe de doctorants 100% indépendant, équitable et autogéré. Vous êtes tous géniaux, bon je cite pas tout le monde parce que cette partie commence à faire passer une cérémonie des Oscars pour un haïku. Je viens voir toutes vos soutenances, c'est sûr ! Comme promis, un merci tout particulier quand même à mes trois sauveurs Céline, Laure et Wilfried grâce à qui mon petit cœur va bien ;)
- Tous les potes du **master EFCE** : continuez à faire des thèses de fous ou d'autres trucs géniaux, mais j'espère quand même qu'on va continuer les sessions montagne-Munchkin ;)

Et merci à tous les autres copains qui ont continué à être là : **Rémi** (prépare la GC), **Alexandre** (si j'étais Danny Sexbang, tu serais mon Ninja Brian), **Virginie** (bon, on devrait réussir à se revoir maintenant :D), **Hugo** (j'espère que tu m'as rapporté un lama), **Miren** (chuis content chuis content, j'ai pas mal glané dans les champs), **Neelum** qui est passée faire coucou, **Killian** qui m'a hébergé quand je suis passé faire coucou, et tous les autres ;) Enfin, plus ceux qui vont venir à la soutenance quand même. Mais non, je vous aime quand même.

Merci aussi à mon corps d'avoir tenu le coup malgré tout ce que je lui ai fait subir pendant ces trois ans ! Désolé, corps.

### *La famille*

Enfin, plein de mercis à ma **famille** qui m'a supporté dans tous les sens du terme pendant toute la durée de la thèse : **Papa, Maman, Emilie** et **Auriane** les deux meilleures sœurs du monde (ouais, j'ai les meilleurs encadrants, les meilleurs stagiaires ET les meilleurs sœurs, qu'est-ce que tu veux), ainsi qu'à mes deux grands-mères préférées et à tous les autres. Zoubis !! Et merci d'être passé me voir aussi régulièrement, même si je descends pas assez (mais vous inquiétez pas, c'est réglé bientôt :p).

"In any study of evolutionary ecology, food relations appear as one of the most important aspects of the system of animate nature. There is quite obviously much more to living communities than the raw dictum "eat or be eaten," but in order to understand the higher intricacies of any ecological system, it is most easy to start from this crudely simple point of view."

George Evelyn Hutchinson, 1959.

*Why are there so many kinds of animals?*

"Under carefully controlled experimental circumstances, an animal will behave as it damned well pleases."

The Harvard Law of Animal Behaviour.



Cette thèse a été financée par l'Union Européenne et la région Bretagne dans le cadre du projet PROGRAILIVE, porté par Végépolys.

UNION EUROPÉENNE  
UNANIEZH EUROPA



**L'Europe s'engage  
en Bretagne**

*Avec le Fonds européen agricole pour le développement rural :  
l'Europe investit dans les zones rurales*



UNION EUROPÉENNE



Région  
**PAYS**  
de la  
**LOIRE**

**CE PROJET EST COFINANCÉ PAR LE FONDS EUROPÉEN AGRICOLE  
POUR LE DÉVELOPPEMENT RURAL. L'EUROPE INVESTIT DANS LES ZONES RURALES**



## Table des matières

|   |     |
|---|-----|
| <b>CONTEXTE GENERAL ET OBJECTIFS DE LA THESE</b> .....  | 15  |
| <b>INTRODUCTION GENERALE</b> .....  | 19  |
| 1. La relation entre diversité et exploitation de ressources.....   | 19  |
| 1.1. Les rôles écologiques de la diversité des ressources .....   | 19  |
| 1.2. Les insectes parasitoïdes comme modèle pour étudier la relation diversité-exploitation de ressources.....  | 25  |
| 1.3. Les parasitoïdes dans les agroécosystèmes .....  | 27  |
| 2. Diversité de ressources et comportement d’approvisionnement des parasitoïdes .....   | 29  |
| 2.1. Comment les parasitoïdes devraient-ils exploiter différentes ressources de façon optimale ? .....  | 29  |
| 2.2. Des adaptations pour l’exploitation des ressources .....   | 30  |
| 2.3. Comment la diversité des ressources affecte-t-elle le comportement d’exploitation des parasitoïdes ? .....   | 33  |
| 3. Diversification et exploitation de ressources à l’échelle de la parcelle .....   | 35  |
| 3.1. Diversité et complémentation de nourriture .....   | 39  |
| 3.2. Diversité et supplémentation de ressources (hôtes alternatifs).....  | 44  |
| 4. Le modèle des associations de culture céréale-légumineuse .....  | 45  |
| 4.1. Les intérêts agroécologiques des associations céréale-légumineuse .....  | 46  |
| 4.2. Les parasitoïdes et leurs ressources dans les systèmes céréale et légumineuse .....  | 47  |
| <br>  |     |
| <b>CHAPITRE 1 – Influence de l’expérience précoce sur le processus de sélection d’hôte chez <i>Aphidius ervi</i></b> .....  | 51  |
| Présentation du chapitre.....   | 53  |
| Paper 1 – Early olfactory environment influences antennal sensitivity and choice of the host-plant complex in a parasitoid wasp .....   | 57  |
| Short note – Host selection patterns do not match olfactory preferences induced by early experience in <i>Aphidius ervi</i> (Hymenoptera: Braconidae).....                                | 71  |
| <br>  |     |
| <b>CHAPITRE 2 – Exploitation de ressources alimentaires par les parasitoïdes <i>Aphidius</i> spp. et conséquences sur le parasitisme des pucerons en cultures pures et associées.....</b> | 79  |
| Présentation du chapitre.....   | 81  |
| Paper 2 – Inferring insect feeding patterns from sugar profiles: a comparison of statistical methods .....  | 85  |
| Paper 3 – No evidence of increased parasitoid sugar feeding nor parasitism in legume-cereal intercrops .....  | 107 |



|  |            |
|--|------------|
| <b>DISCUSSION GENERALE .....</b>   | <b>131</b> |
| 1. Relation entre diversité des complexes plante-hôte et comportement d’approvisionnement des parasitoïdes .....         | 132        |
| 1.1. De nouveaux éléments pour comprendre l’induction précoce des préférences olfactives chez <i>Aphidius ervi</i> ..... | 132        |
| 1.2. Apprentissage précoce et décisions d’exploitation parmi plusieurs complexes plante-hôte .....                       | 134        |
| 1.3. Implications pour le contrôle biologique en culture pure et associée.....   | 137        |
| 2. Exploitation de ressources dans des cultures pures et associées.....  | 138        |
| 2.1 Les ressources alimentaires exploitées par les parasitoïdes en cultures pures et associées                           | 138        |
| 2.2 Implications de la complémentation en nectar pour l’exploitation des hôtes .....                                     | 140        |
| 3. Améliorer les méthodes pour évaluer la prise alimentaire en conditions naturelles.....                                | 142        |
| 4. Conclusion .....  | 145        |
| <br>   |            |
| <b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>   | <b>147</b> |
| <br>   |            |
| <b>ANNEXES .....</b>   | <b>171</b> |
| Appendices for paper 2 .....   | 173        |
| Appendices for paper 3 .....   | 191        |
| Liste des contributions scientifiques .....  | 199        |





## CONTEXTE GENERAL ET OBJECTIFS DE LA THESE

Tous les organismes consomment des ressources, et tous finissent, à plus ou moins long terme, par devenir une ressource consommée par un autre organisme. Ainsi, les interactions ressource-consommateur sont un élément central dans l'organisation des systèmes écologiques (Hutchinson 1959, Tilman 1986). Caractériser les patrons d'exploitation des ressources par leurs consommateurs, et les facteurs qui les déterminent, permet souvent d'augmenter notre compréhension d'une multitude de processus écologiques, à tous les niveaux d'organisation (Raubenheimer et al. 2009, Simpson et al. 2010). Ces patrons sont notamment déterminés par la composition en ressources de l'habitat, qui inclut la densité de ressources, leur distribution spatiale ou temporelle, mais également leur diversité (Prins & Langevelde 2008a,b). Un habitat peut en effet contenir un nombre plus ou moins élevé de ressources différentes, qui par ailleurs, peuvent elles-mêmes varier dans leur abondance ou leur qualité.

La diversité de ressources présentes dans un habitat influence une multitude de processus liés à leur exploitation par les consommateurs. Dans le cas des animaux, par exemple, la diversité détermine les ressources qu'un individu a le choix de consommer ou non, ainsi que la nécessité ou pas d'aller exploiter des ressources manquantes dans un autre habitat (Laca 2008, Prins & Langevelde 2008b). Cette diversité influence également le taux de consommation et l'utilisation relative de différentes ressources par les différents individus d'une population (Bolnick et al. 2003). On observe donc une relation entre la diversité de ressources et le comportement d'exploitation et la valeur sélective ou *fitness* des individus (Prins & Langevelde 2008b, Hengeveld et al. 2009), qui se répercute sur la croissance et la distribution spatio-temporelle des populations (Tilman 1980, Dunning et al. 1992). Par effet de cascade, la diversité en ressources a une influence majeure sur la structure et la dynamique des communautés (Tilman 1986, Siemann et al. 1998), la structure des réseaux trophiques (Knops et al. 1999, Haddad et al. 2009) et le fonctionnement des écosystèmes (Haddad et al. 2009).

La relation entre diversité et exploitation des ressources et ses conséquences écologiques ont été étudiées théoriquement, et partiellement validées expérimentalement, mais de nombreux processus sont encore mal compris. C'est le cas par exemple des mécanismes comportementaux effectivement mis en place par les animaux et qui leur permettent d'ajuster leurs stratégies d'exploitation des ressources selon leur diversité (Hengeveld et al. 2009, Wäschke et al. 2013). Par ailleurs, les patrons d'exploitation des organismes sont rarement caractérisés en conditions naturelles : ces évaluations sont pourtant essentielles pour lier la composition de l'habitat et différents paramètres écologiques (comme la taille des populations, la composition des communautés ou les propriétés de l'écosystème), de façon mécaniste et écologiquement explicite (Raubenheimer et al. 2009, Simpson et al. 2010).

Les insectes parasitoïdes sont un modèle intéressant pour étudier cette relation entre diversité et exploitation de ressources. En effet, les femelles de ces insectes exploitent principalement deux types de ressources spatialement séparées et associées à des fonctions biologiques différentes : des hôtes, qui permettent d'assurer la reproduction, et de la nourriture, qui permet d'assurer le maintien, la survie et la dispersion (Lewis et al. 1998, Bernstein & Jervis 2008). Selon leur niveau de spécialisation, les parasitoïdes peuvent également exploiter plusieurs espèces d'hôtes (Raymond et al. 2016) et plusieurs types de nourriture (Wäckers & van Rijn 2005). Les parasitoïdes ont développé une multitude d'adaptations et de stratégies d'exploitation des ressources (Wajnberg et al. 2008), et la diversité de ressources pourrait avoir une forte influence sur la dynamique de leurs populations et leurs

interactions avec les autres espèces (van Rijn & Sabelis 2005). Il est particulièrement intéressant d'étudier ces insectes dans les agroécosystèmes, qui sont un environnement hautement structuré en ressources, et qui varient selon leur niveau de diversité (Bianchi et al. 2006).

En plus d'être un modèle intéressant pour étudier différents processus écologiques d'un point de vue fondamental, les parasitoïdes sont également des agents essentiels de la régulation naturelle des ravageurs dans les cultures, ou contrôle biologique (Heimpel & Mills 2017a). Comprendre l'influence de la diversité de ressources sur l'activité de ces ennemis naturels permet donc de mieux évaluer et prédire le potentiel de contrôle biologique des ravageurs dans des agroécosystèmes donnés, et/ou de proposer des aménagements permettant de favoriser ce contrôle dans le cadre de pratiques de lutte biologique par conservation (Landis et al. 2000, Heimpel & Mills 2017b). Cet enjeu est particulièrement fort dans un contexte de transition agroécologique, de réduction des produits phytosanitaires et de conservation de la biodiversité (Altieri 1999, Bommarco et al. 2013).

Les associations de culture, qui consistent à cultiver simultanément plusieurs plantes dans la même parcelle, bénéficient actuellement d'un regain d'intérêt au regard de la multitude d'intérêts agroécologiques qu'elles apportent (Vandermeer 1989, Malézieux et al. 2009, Bedoussac et al. 2015). Les cultures associées sont un système permettant d'augmenter la biodiversité dans les cultures, et donc souvent d'augmenter la diversité de ressources disponibles pour les parasitoïdes, notamment sous la forme de sources de nourriture ou d'hôtes alternatifs (Landis et al. 2000, Wilkinson & Landis 2005). Les cultures pures (une seule plante cultivée) et les cultures associées (plusieurs plantes cultivées) offrent donc un modèle particulièrement intéressant pour étudier l'exploitation des ressources par les parasitoïdes dans des systèmes qui varient selon la diversité de ressources disponibles. **Dans ce travail de thèse, nous proposons donc d'étudier les relations entre la diversité de ressources et leur exploitation par les parasitoïdes dans des cultures pures et associées.** En particulier, nous étudions l'influence de la diversité de ressources à différents niveaux :

- A l'échelle individuelle, sur les stratégies d'exploitation déployées par les parasitoïdes. En particulier, nous évaluons certains mécanismes impliqués dans cette relation, notamment au niveau de l'olfaction des insectes.
- A une échelle plus large, sur les patrons d'exploitation par les communautés de parasitoïdes. En particulier, nous élucidons comment la diversité en ressources influence l'utilisation relative de ces différentes ressources, en conditions naturelles.
- Nous nous intéressons également aux conséquences de ces processus sur le fonctionnement des agroécosystèmes, notamment sur la régulation *top-down* des ravageurs, qui correspond à un service écosystémique de contrôle biologique.

Par ailleurs, grâce au modèle des cultures associées nous considérons deux modalités de diversification :

- La supplémentation de ressources, qui consiste à faire varier la diversité de ressources substituables (augmentation de la diversité en espèces d'hôtes ou en sources de nourriture).
- La complémentarité de ressources, qui consiste à faire varier la diversité de ressources non substituables (hôtes et nourriture).

La problématique de la relation diversité-exploitation de ressources soulève un nombre important de questions intéressantes. Malheureusement, il n'est pas possible d'étudier la totalité de ces questions dans le temps limité que représente une thèse. Nous avons donc choisi de nous focaliser sur un seul type de diversification par échelle d'organisation. **Dans un premier temps, nous étudions donc l'effet de la diversification d'hôtes (supplémentation de ressources) sur leur exploitation par les parasitoïdes** (Chapitre 1). En particulier, nous nous focalisons sur les effets de la diversité des complexes plante-hôte sur le comportement d'apprentissage du parasitoïde, et sur les mécanismes olfactifs associés. Ces processus sont encore très peu connus, malgré leur influence potentiellement importante sur les stratégies d'exploitation des parasitoïdes.

**Dans un second temps, nous nous intéressons à l'effet d'un autre type de diversification (la complémentation en nourriture) sur les patrons d'exploitation des communautés de parasitoïdes, à l'échelle de la parcelle.** Nous utilisons notamment des méthodes biochimiques récemment développées pour inférer le statut nutritif des parasitoïdes dans leur milieu naturel (Wäckers & Steppuhn 2003, Hogervorst et al. 2007a). Des outils algorithmiques robustes sont nécessaires pour exploiter au mieux les données acquises grâce à ces méthodes, afin d'assurer la fiabilité des prédictions. Dans une première étape, nous cherchons donc à évaluer et améliorer les outils de prédiction existants pour inférer le statut nutritif des parasitoïdes dans leur milieu naturel (Chapitre 2.1). Dans une seconde étape, nous nous intéressons aux effets de la diversification des agroécosystèmes sur la prise de nourriture par les parasitoïdes, et ses conséquences sur l'exploitation des hôtes (et donc sur le service de contrôle biologique assuré par les parasitoïdes dans ces cultures) (Chapitre 2.2).

**Pour étudier ces questions, nous prenons pour modèle les parasitoïdes de pucerons du genre *Aphidius* dans des cultures pures de céréale et de légumineuse et dans des associations céréale-légumineuse, et en particulier céréale-féverole.** En plus de permettre d'étudier toutes les questions évoquées, ce modèle permet de participer à l'évaluation du potentiel des cultures associées pour la sécurisation des cultures de protéagineux, un enjeu socio-économique particulièrement fort dans le cadre du projet Européen et interrégional PROGRAILIVE.



## INTRODUCTION GENERALE

### 1. La relation entre diversité et exploitation de ressources

#### 1.1. Les rôles écologiques de la diversité des ressources

Tous les êtres vivants sont dépendants d'éléments extérieurs présents dans leur environnement, qui leur permettent d'assurer leur maintien, leur croissance et/ou leur reproduction. Certains de ces éléments consistent en des conditions physiques (comme la température ou la salinité), et d'autres se présentent sous la forme de substances ou d'objets qui doivent être consommés par les organismes. Ces éléments sont appelés des ressources (Ricklefs & Miller 1999). Les organismes consomment différents types de ressources, qui leur permettent d'assurer leurs différentes fonctions biologiques. Les plantes, par exemple, consomment de la lumière, de l'eau, des nutriments et du dioxyde de carbone, qui leur permettent d'assurer la photosynthèse et de maintenir leur métabolisme (Craine & Dybzinski 2013). Chez les animaux, l'eau, la nourriture et le dioxygène font partie des principales ressources (Ricklefs & Miller 1999). Mais des éléments liés à l'espace comme le territoire de reproduction, le site de ponte ou de nidification, ou encore les abris contre les prédateurs constituent également des ressources essentielles pour de nombreuses espèces (Bell 1990, Smith & Smith 2015). Au sens large, un partenaire sexuel peut également être considéré comme une ressource (Bell 1990).

Le maintien, la survie et la reproduction des organismes nécessite un apport régulier en ressources. Certaines de ces ressources sont présentes de façon relativement continue et homogène dans l'espace et le temps, comme le dioxygène ou le dioxyde de carbone (du moins pour les organismes terrestres - Ricklefs & Miller 1999, Craine & Dybzinski 2013, Smith & Smith 2015). Cependant, la plupart des ressources sont souvent discrètes et dispersées de manière hétérogène dans l'espace et le temps. C'est le cas de la nourriture, de l'eau (pour les organismes terrestres) ou des sites de reproduction par exemple. L'accès et la disponibilité de ces ressources pour leurs consommateurs dépend donc de différentes caractéristiques liées à la structure de l'habitat dans lequel elles sont présentes (Fig.1). Les habitats peuvent différer selon la densité de ressources disponibles (Fig. 1A). Ils peuvent également varier selon la distribution spatiale ou temporelle de ces ressources (Fig. 1B). Enfin, ces habitats peuvent différer selon la diversité de ressources qui y sont présentes (Fig. 1C).

La diversité en ressources d'un habitat peut être caractérisée de différentes manières (Fig. 2). Un habitat peut différer d'un autre en proposant davantage de types différents de ressources (par exemple, à la fois de la nourriture et de l'eau) : on parle alors de *ressources complémentaires* (Dunning et al. 1992, Fig. 2). Un habitat peut également proposer un nombre plus ou moins élevé de ressources du même type (par exemple, plusieurs espèces de proies différentes pour un prédateur). On parle alors de *ressources supplémentaires*, ou substituables (Tilman 1980, Dunning et al. 1992, Fig. 2). Par ailleurs, la diversité d'un habitat peut se définir dans l'espace, mais également dans le temps (Owen-Smith 2008). En effet, un habitat peut proposer un nombre restreint de ressources sur une échelle de temps courte, tout en étant très diversifié si on considère une échelle de temps plus longue.

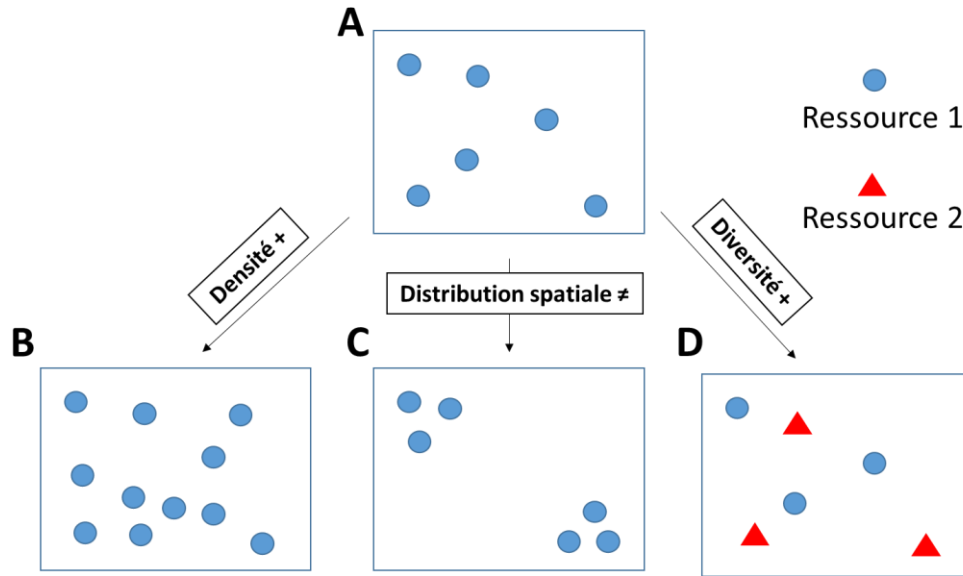


Figure 1 Différentes variations dans la composition en ressources de l'habitat. Par rapport à l'habitat A, ces habitats ont B une plus grande densité de ressource, C une distribution spatiale différente des ressources, D une plus grande diversité en ressources.

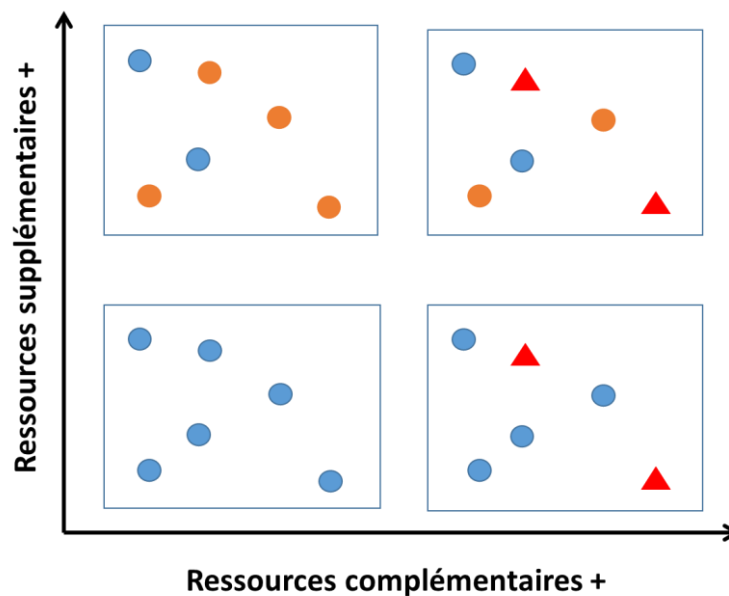


Figure 2 La diversité d'un habitat peut se définir selon deux dimensions : le nombre de ressources supplémentaires présentes (axe des ordonnées) et le nombre de ressources complémentaires (axe des abscisses). Des formes différentes indiquent des types de ressource différents (e.g. nourriture et eau). Des formes similaires mais des couleurs différentes indiquent différentes ressources de même type (e.g. différents types de nourriture).

La quantité, la qualité et la distribution spatiale des ressources sont connues pour influencer fortement les patrons d'exploitation de leurs consommateurs (Prins & Langevelde 2008a). Cependant, la diversité en ressources est également un facteur essentiel pour expliquer ces patrons, à différents niveaux. Son influence peut d'abord s'observer au niveau individuel. Chez les animaux en particulier, la diversité des ressources a une influence importante sur le comportement d'approvisionnement. En effet, lorsqu'une ressource essentielle est absente dans un habitat, les individus sont contraints de se déplacer dans un autre habitat pour la trouver (Dunning et al. 1992). Ainsi, ces organismes doivent alterner entre différents habitats afin de combler leurs différents besoins (Prins & Langevelde 2008b). En revanche, des individus présents dans un habitat disposant de toutes les ressources nécessaires

n'ont pas besoin de se déplacer dans d'autres habitats. Par exemple, on observe de grandes disparités de comportement chez les ongulés, qui dépendent de leur capacité à exploiter différentes ressources complémentaires dans un même habitat (Prins & Langevelde 2008b). Certains, comme les oryx, satisfont tous leurs besoins en eau à partir des plantes dont ils se nourrissent : leur comportement de recherche de nourriture n'est pas altéré par leur besoin en eau. En revanche, les buffles n'ont pas cette capacité et doivent alterner régulièrement entre la recherche de plantes (qui leur servent uniquement de nourriture) et de points d'eau (Prins 1996, Prins & Langevelde 2008b). Ces différences comportementales ont des implications directes sur les traits d'histoire de vie des individus, notamment leur survie et leur fécondité. En effet, alterner entre différents habitats afin de trouver différentes ressources est associé à des coûts en terme de temps et d'énergie, ainsi qu'à des risques de mortalité, liés par exemple à la prédation, aux conditions climatiques ou des pressions anthropiques comme le *road-kill* (Hinsley 2000, Cullen et al. 2016, Cosgrove et al. 2018).

Etant donné son influence sur ces différents traits d'histoire de vie (survie, fécondité), la façon dont un animal exploite successivement ses ressources affecte directement sa valeur sélective ou *fitness*. Il existe donc une forte pression de sélection sur le comportement lié à l'exploitation des ressources : par exemple, le temps qu'un animal passe à rechercher une ressource, ou le temps passé à exploiter une ressource donnée. Dans une perspective adaptationniste, le comportement d'approvisionnement peut ainsi être étudié dans le cadre de la théorie de l'approvisionnement optimal (*optimal foraging theory*) (McArthur & Pianka 1966, Pyke et al. 1977, Stephens & Krebs 1986). Cette théorie prédit que la sélection naturelle devrait optimiser le comportement d'exploitation des ressources des animaux, de manière à maximiser leur fitness. En particulier, ces derniers devraient minimiser le temps et l'énergie dépensés dans la recherche et l'exploitation de ressources, tout en tirant un maximum de gain (McArthur & Pianka 1966, Charnov 1976, Stephens & Krebs 1986). Les développements de ces modèles d'optimalité permettent notamment de prédire comment un animal devrait exploiter successivement les différentes ressources présentes dans l'environnement. De façon générale, l'animal devrait équilibrer la prise des différentes ressources en choisissant parmi toutes les combinaisons d'exploitation possibles, celle qui maximise sa fitness totale (Rapport 1980, Fig. 3). Si ces ressources sont substituables (ressources supplémentaires), l'animal devrait exploiter la ressource apportant le gain de fitness moyen le plus élevé à un instant  $t$  (Pyke et al. 1977, Hengeveld et al. 2009) : par exemple, un prédateur devrait choisir le régime alimentaire lui procurant la quantité d'énergie la plus élevée, en choisissant les espèces de proies les plus abondantes et de meilleure qualité (Pyke et al. 1977). Si ces ressources sont complémentaires, l'animal devrait équilibrer au mieux le temps passé à exploiter chaque ressource et le temps de déplacement entre ces ressources, en fonction notamment de la distance entre chaque ressource et de leurs densités relative (Prins & Langevelde 2008b). Cela implique, par exemple, d'identifier la ressource limitante dans des conditions données et de maximiser la prise de cette ressource (Hengeveld et al. 2009). Une implication notable de ces modèles est que si un animal a la possibilité de choisir parmi plusieurs habitats présentant différentes diversités de ressources, à densité égale, il devrait généralement préférer exploiter des ressources dans l'habitat le plus diversifié (Prins & Langevelde 2008b). En effet, un habitat plus diversifié propose davantage de combinaisons d'exploitation possibles, et donc une solution optimale de fitness plus élevée<sup>1</sup>. Ce phénomène a par exemple été observé chez le bourdon *Bombus vosnesenskii* : les insectes choisissent de s'approvisionner dans les habitats dont la diversité florale est la plus élevée (et ce même si cela implique de s'éloigner davantage de la colonie), probablement car cela leur permet d'acquérir une plus grande diversité de nutriments (Jha & Kremen 2013).

---

<sup>1</sup> Cela revient à augmenter l'aire sous la courbe de la « contrainte budgétaire » dans la figure 3.



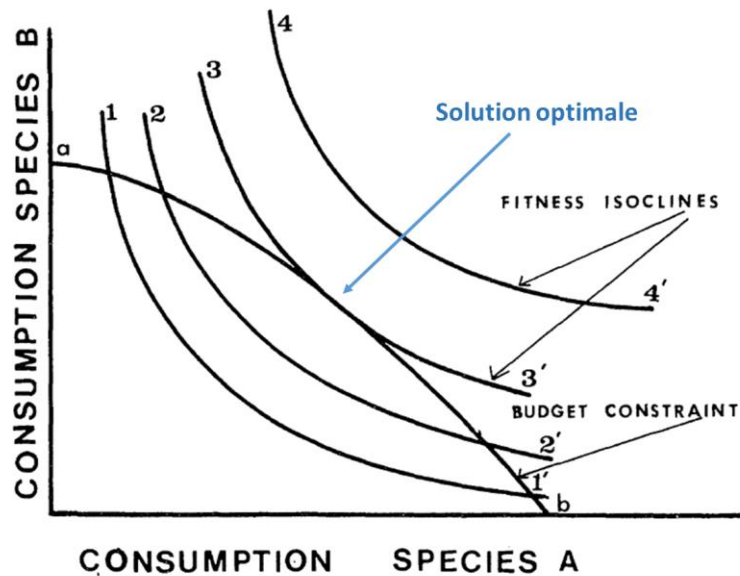


Figure 3 Stratégie optimale d'exploitation de deux ressources A et B. L'aire sous la courbe *ab* représente la contrainte budgétaire de l'animal : l'ensemble des combinaisons possibles d'exploitation des 2 ressources (*contrainte budgétaire*). Les courbes 1' à 4' représentent des isoclines de fitness : une même isocline représente toutes les combinaisons permettant d'obtenir le même gain en fitness. Un nombre plus élevé indique un gain en fitness supérieur. Le point d'intersection entre la contrainte budgétaire et l'isocline de fitness la plus élevée correspond à la « solution optimale », c'est-à-dire la façon idéale dont l'animal devrait équilibrer la prise de chaque ressource. Dans le cas de ressources complémentaires, la courbe de la contrainte budgétaire ne passe pas par l'origine des axes, car l'animal ne peut pas survivre avec une seule ressource (voir notamment Tilman 1980, 1986). Modifié depuis Rapport (1980).

Les effets de la diversité des ressources au niveau individuel ont des conséquences sur une multitude de processus écologiques, à différents niveaux d'organisation. L'influence de cette diversité sur différents paramètres des populations a notamment été étudiée de manière formelle par Tilman (1980, 1986) et par van Rijn et Sabelis (2005), en particulier dans le cadre des interactions proie-prédateur. D'une part, la diversité de ressources participe à définir la ou les ressources limitantes dans un milieu, qui conditionnent la capacité de charge de la population. D'autre part, via ses effets sur la dispersion et la fitness des individus, la présence ou l'absence d'une ressource influence la densité et le taux de croissance de la population, voire son maintien – l'absence d'une ressource essentielle dans un milieu peut empêcher une population de s'y établir (Tilman 1980, 1986, van Rijn & Sabelis 2005). Si les organismes ont la possibilité d'aller chercher les ressources manquantes dans des habitats différents, on s'attend à un effet de la composition et de la diversité de chaque habitat sur le taux de dispersion et la distribution spatiale de la population dans ces différents habitats (van Rijn & Sabelis 2005 montrent comment ces questions peuvent en fait être étudiées sous l'angle de la dynamique source-puits d'une métapopulation). Ces différents phénomènes ont pu être observés chez de nombreux taxons. Par exemple, McIvor et Odum (1988) ont montré qu'à marée basse, les populations de poissons dans un marécage sont davantage distribuées dans des microhabitats contenant à la fois de la nourriture et des refuges que dans des zones contenant de la nourriture uniquement. Un autre exemple particulièrement spectaculaire de l'influence de la diversité de ressources au niveau populationnel concerne la sauterelle mormone *Anabrus simplex* (Simpson et al. 2006). Cet orthoptère dispose de différentes sources supplémentaires de nourriture : une variété de ressources végétales, ou ses propres congénères. Lorsque les ressources végétales viennent à manquer, les sauterelles affamées s'alimentent de sauterelles nourries, contraignant ces dernières à se disperser pour trouver d'autres sources de nourriture et échapper à la pression de cannibalisme. Par voie de réaction en chaîne, ces processus individuels mènent à des phénomènes de migration de masse, pouvant impliquer des millions d'individus et se maintenir pendant des années (Simpson et al. 2006). Ici, le passage d'un environnement diversifié en ressources (végétaux + congénères) à un environnement

moins diversifié (congénères uniquement) modifie le comportement d’approvisionnement des individus et induit l’émergence de processus populationnels particulièrement importants.

Les effets de la diversité de ressources sur les individus et les populations peuvent se répercuter à des échelles d’organisation plus larges, *i. e.* au niveau des communautés et des écosystèmes. De manière générale, la présence d’un plus grand nombre de ressources différentes dans un milieu permet à un plus grand nombre de consommateurs différents de s’y établir : on s’attend à une relation positive entre la diversité de ressources et de consommateurs (Tilman 1982, 1986). Cette hypothèse a notamment été validée par Siemann et al. (1998). Dans une large expérience menée sur le site de Cedar Creek aux Etats-Unis, ils ont démontré qu’une plus grande diversité de producteurs primaires (les plantes) s’accompagne d’une plus grande diversité d’insectes herbivores. De plus, ils ont observé que cette augmentation de la diversité d’herbivores s’accompagne d’une augmentation de la diversité d’organismes prédateurs ou parasitoïdes de ces herbivores (Fig. 4A). Leurs données ont permis de mettre en évidence non seulement un lien direct entre la diversité d’herbivores et la diversité de leurs ennemis naturels, mais également une influence positive directe de la diversité en plantes sur celle des prédateurs, qui peut s’expliquer par le fait que ces ressources sont également directement consommées par certains prédateurs (par exemple sous forme de nectar ou de miellat, Siemann et al. 1998). Dans cette expérience, l’influence observée de la diversité de producteurs

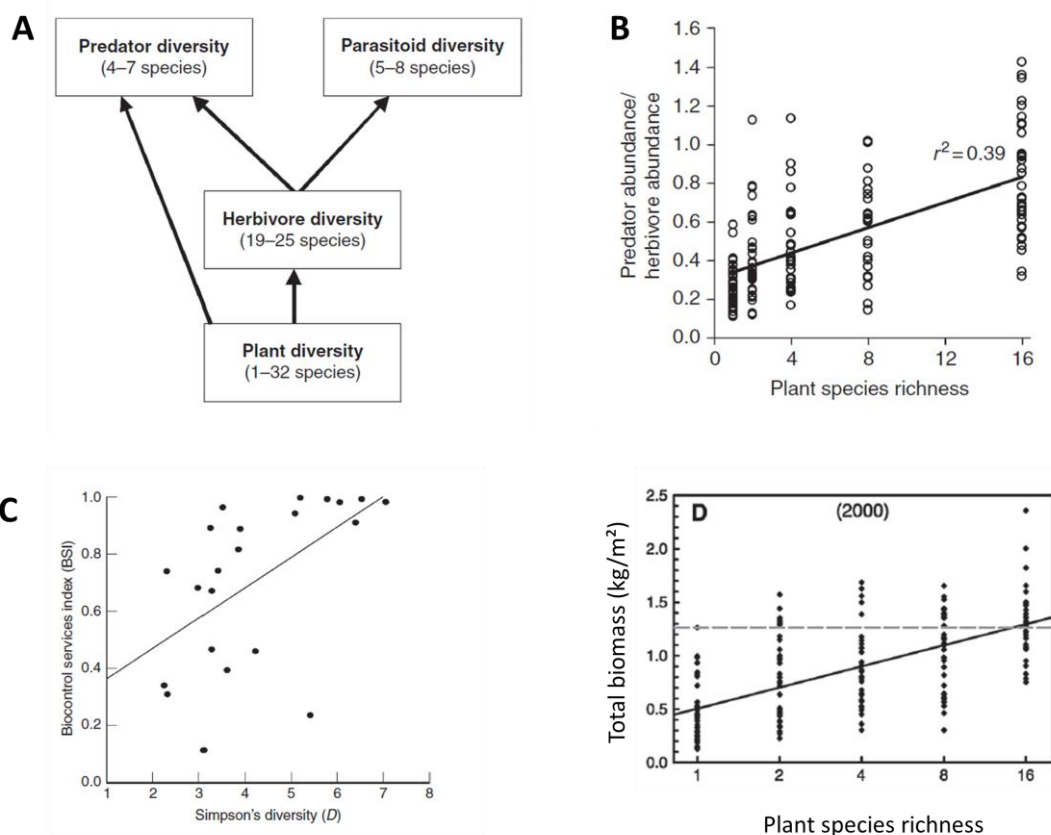


Figure 4 La diversité en ressources affecte la structure des réseaux trophiques. **A** Relations entre diversité de plantes, d’herbivores et de leurs ennemis naturels (prédateurs et parasitoïdes), observée dans une expérience à large échelle menée par Siemann et al. (1998). Dans cette expérience, la diversité en plantes était fixée et la diversité des réseaux trophiques supérieurs était la variable réponse. Les flèches représentent les relations directes et positives. De Siemann et al. (1998), modifié par Heimpel & Mills (2017). **B** Relation entre la richesse spécifique en plantes et le ratio (abondance de prédateurs/abondance d’herbivores), dans une expérience menée par Haddad et al. (2009). **C** Relation entre la diversité du paysage (évaluée par l’indice de Simpson) et le niveau régulation top-down du puceron *Aphis glycines* dans des champs de soja (estimé sous la forme d’un indice nommé *Biocontrol services index*). De Gardiner et al. (2009), modifié par Heimpel & Mills (2017b). **D** Relation entre la richesse spécifique en plantes et leur biomasse totale en 2000 dans une expérience menée à Cedar Creek. De Tilman et al. (2001).

primaires sur la diversité des niveaux trophiques supérieurs permet de mettre en évidence le fait que la diversité de ressources à un niveau trophique donné peut, par effet de cascade, conditionner la structure trophique d'un écosystème (*Hypothèse de la diversité-structure trophique*, Knops et al. 1999). Cette relation peut se manifester de différentes manières : en effet, la diversité de plantes n'influence pas uniquement la diversité de chaque niveau trophique et le nombre de liens entre eux, mais également la forme de la « pyramide trophique », *i. e.* du poids de chaque niveau trophique dans le réseau. Sur le même site de Cedar Creek, Haddad et al. (2009) ont ainsi pu montrer que le rapport du nombre de prédateurs par rapport aux herbivores augmente de façon linéaire et positive avec la richesse spécifique des plantes (Fig. 4B). Par effet de *feedback*, cette augmentation du « poids » des prédateurs par rapport aux herbivores peut se traduire par une augmentation de la régulation *top-down* de ces derniers, comme cela a été montré par Gardiner et al. (2009) (Fig. 4C). Par ailleurs, sur le même site de Cedar Creek Tilman et al. (2001) ont également observé une augmentation de la productivité des plantes (Fig. 4D). Ce phénomène est classiquement interprété comme résultant de la complémentarité de niche entre les plantes (Tilman et al. 2001, 2006). Cependant, l'intégration des résultats précédents suggèrent qu'il pourrait également découler d'une modification des interactions avec les niveaux trophiques supérieurs (cette hypothèse ne s'opposant pas à celle de la complémentarité de niche). Ainsi, Haddad et al. (2009) ont proposé l'hypothèse que par ses effets directs ou indirects, la diversité de ressource en plantes influence positivement la diversité et l'abondance des prédateurs, menant à un renforcement de la régulation *top-down* des herbivores par les prédateurs, qui se traduit en retour par une augmentation de la productivité des plantes. De manière générale, ces exemples montrent comment la diversité de ressources disponibles à un niveau trophique donnée influence des propriétés émergeant au niveau de l'écosystème entier.

**La diversité de ressources disponibles pour les organismes est donc une propriété importante permettant d'expliquer une multitude de processus écologiques. Différentes théories provenant à la fois de l'écologie comportementale, de l'écologie nutritionnelle et de l'écologie des populations et des communautés permettent de prédire une multitude de liens existant entre diversité de ressources, exploitation de ces ressources par leurs consommateurs, et conséquences écologiques. Si certaines de ces prédictions tendent à être validées empiriquement, un grand nombre de questions restent à résoudre afin de valider et d'intégrer les différents processus en jeu. Au niveau individuel, les modèles d'optimalité permettent de prédire les comportements que les animaux devraient mettre en place pour profiter de la diversité des ressources disponibles. Cependant, un grand nombre de ces prédictions doivent encore être confrontées à l'expérience. En particulier, afin de comprendre les implications écologiques et/ou adaptatives de leur comportement, il est important d'identifier et de comprendre les adaptations et les mécanismes proximaux que ces organismes ont acquis au cours de leur évolution (Hengeveld et al. 2009). De plus, si les patrons d'exploitation des organismes sont le plus souvent examinés en laboratoire, il est également important de les mettre en évidence en conditions naturelles. En effet, la mise en évidence de ces patrons est souvent l'étape clé permettant de mettre en relation les caractéristiques de l'habitat (comme la diversité de ressources, Fig. 2) avec les paramètres écologiques observés (*e. g.* la taille des populations, la diversité des communautés ou les propriétés de l'écosystème), et donc de mieux comprendre les processus en jeu (Raubenheimer et al. 2009, Simpson et al. 2010). Pourtant, la caractérisation et la quantification empiriques des interactions trophiques en conditions naturelles est rare, notamment à cause de contraintes méthodologiques et de la stochasticité environnementale, qui rendent leur évaluation difficile (Tunney et al. 2014, Nielsen et al. 2018). Cependant, de récents développements méthodologiques permettent d'envisager des protocoles d'étude *in situ* (Traugott et al. 2013, Nielsen et al. 2018).**

### 1.2. Les insectes parasitoïdes comme modèle pour étudier la relation diversité-exploitation de ressources

Les insectes parasitoïdes sont des organismes se développant sur ou à l'intérieur d'un autre organisme (leur hôte), et qui mènent à la mort de ce dernier (Doutt, 1959 ; Eggleton et Belshaw, 1992). La majorité des insectes parasitoïdes sont des hyménoptères ou des diptères (Godfray 1994 ; Boivin, 1996). Ces organismes constituent un modèle particulièrement intéressant pour étudier l'effet de la diversité des ressources sur un grand nombre de processus écologiques, pour différentes raisons.

#### 1.2.1 : Les parasitoïdes sont un modèle à la fois simple et complet pour étudier la diversification des ressources.

Les femelles adultes, en particulier, exploitent principalement deux types de ressource qui sont généralement allouées à des fonctions séparées, et donc complémentaires. En effet, leur reproduction repose sur l'exploitation d'hôtes, tandis que leur survie, le maintien de leurs fonctions métaboliques et leur dispersion reposent sur l'exploitation de nourriture. Bien que certaines espèces puissent se nourrir directement sur leur hôte (*host feeding* - Jervis & Kidd 1986, Heimpel & Collier 1996), la plupart des parasitoïdes exploitent leur nourriture sous la forme de ressources sucrées comme le nectar ou le miellat, ou encore de pollen (Wäckers & van Rijn 2005)<sup>2</sup>. Pour ces insectes, l'exploitation de ces deux types de ressource se fait donc sur des patchs différents et ségrégués dans l'espace (Jervis et al. 1993, Heimpel & Jervis 2005). Les parasitoïdes ont des capacités de stockage limitées, et la dispersion est un processus coûteux en énergie, qui mène à l'épuisement rapide de leurs réserves énergétiques (Hoferer et al. 2000, Wanner et al. 2006a, Amat et al. 2012). Les femelles doivent donc fréquemment alterner au cours de leur vie entre l'exploitation de sources de nourriture et d'hôtes.

En plus de ces ressources complémentaires, les parasitoïdes peuvent exploiter plusieurs ressources supplémentaires, selon leur niveau de spécialisation. En effet, si de nombreuses espèces sont très spécialisées et n'exploitent qu'une espèce ou quelques espèces d'un même genre, d'autres comme *Aphidius ervi* sont capables d'exploiter différentes espèces d'hôtes (Stáry 1972), d'un nombre toutefois modéré (environ 20 pour cette espèce). Ces hôtes peuvent être présents de façon simultanée dans un environnement donné (Stáry 1972). Les différentes espèces d'hôtes peuvent varier dans leur qualité (Vinson 1980) et leur disponibilité pour les parasitoïdes peut fluctuer à la fois dans l'espace et dans le temps (Pitcairn et al. 1990). Par ailleurs, ces insectes sont également capables d'exploiter différentes sources de nourriture, qui sont également ségréguées dans l'espace (sauf dans le cas où le parasitoïde peut se nourrir directement sur son hôte<sup>3</sup>). Les parasitoïdes sont capables de se nourrir à la fois de nectar floral et de nectar extrafloral, de miellat, et selon les espèces de pollen (Wäckers 2005). Ces ressources varient également dans leur disponibilité, à la fois dans l'espace (Vollhardt et al. 2010a) et dans le temps (Segoli & Rosenheim 2013, Tena et al. 2013). De plus, ces ressources n'ont pas

---

<sup>2</sup> Comme beaucoup d'autres insectes holométaboles, les parasitoïdes font en fait partie des *life-history omnivores* (Polis & Strong 1996) : leur régime alimentaire change radicalement entre le stade larvaire (non disperseur), où ils sont carnivores stricts, et le stade adulte (disperseur) où ils sont principalement phytophages (nectar, pollen).

<sup>3</sup> Même dans le cas où les parasitoïdes peuvent se nourrir directement sur leur hôte (*host feeding*), ceux-ci peuvent toutefois profiter de la présence de ressources alimentaires non-hôtes comme le nectar, qui offrent une composition différente en nutriments, en particulier en sucres (Heimpel & Collier 1996, Bernstein & Jervis 2008).

toute la même qualité nutritive, le nectar étant généralement considéré comme une meilleure ressource glucidique que le miellat (Wäckers 2001, Wäckers et al. 2008).

**Les insectes parasitoïdes (notamment les femelles) exploitent donc à la fois des ressources supplémentaires et complémentaires, de qualités différentes, et dont la présence et la disponibilité varient à la fois dans l'espace et le temps. Le nombre total de ressources différentes qu'ils exploitent n'est pas trop élevé, et ces ressources sont généralement connues, ce qui permet d'identifier et de contrôler facilement les ressources disponibles dans leur environnement. Ils sont donc un bon modèle pour étudier différents aspects de la diversité de ressources, notamment dans leur environnement naturel.**

### *1.2.2 : La diversité de ressources disponibles a des conséquences importantes au niveau individuel.*

Les performances des parasitoïdes reposent notamment sur la complémentarité en hôte et en nourriture dans leur environnement : en effet, ces deux ressources ont une influence différente sur la fitness des individus. Pondre sur ou dans un hôte assure un gain de fitness immédiat, mais coûte de l'énergie ; tandis qu'exploiter de la nourriture repousse la reproduction, mais permet de gagner de l'énergie, des nutriments nécessaires à la maturation des œufs et du temps de vie supplémentaire, et donc d'assurer un gain de fitness futur (Heimpel & Collier 1996, Lewis et al. 1998). La plupart des parasitoïdes ont des capacités de dispersion limitées (Lavandero et al., 2005), et dépendent des ressources disponibles dans leur environnement immédiat. On peut donc s'attendre à ce que la complémentarité des ressources dans un habitat donné ait une influence importante sur les stratégies d'exploitation de ces ressources par les femelles parasitoïdes.

On peut également s'attendre à des effets de la supplémentation de ressources (diversité de ressources de même type) au niveau individuel. En effet, la présence simultanée de différents hôtes ou de différentes sources de nourriture a des conséquences importantes sur les décisions d'exploitation et la fitness des parasitoïdes, en fonction de facteurs comme la qualité ou la disponibilité relative de ces ressources dans l'espace et le temps (MacKauer et al. 1996, Vollhardt et al. 2010a).

**Ainsi, les différentes ressources des parasitoïdes varient dans leur disponibilité, leur qualité, et les fonctions biologiques qu'elles permettent d'assurer. La présence conjointe ou non de ces ressources dans l'environnement des parasitoïdes est donc susceptible d'être un paramètre important pour leurs performances et leur comportement. Ces insectes sont donc un bon modèle pour étudier les effets de la diversification des ressources au niveau des individus, notamment sur la fitness et les stratégies d'exploitation. Par ailleurs, la diversité importante des insectes parasitoïdes, ainsi que leur riche histoire évolutive, ont mené au développement d'un grand nombre d'adaptations liées à l'exploitation de leurs ressources, qui leur permet de faire preuve d'une importante plasticité comportementale. Ces organismes permettent donc d'étudier un grand nombre de mécanismes impliqués dans la mise en place de stratégies d'exploitation (Wajnberg et al. 2008).**

### *1.2.3 : Les ressources déterminent la régulation des populations de parasitoïde et leur rôle dans le fonctionnement des écosystèmes.*

La reproduction des parasitoïdes est directement conditionnée par la ponte dans ou sur des hôtes : la disponibilité en hôtes a donc une influence majeure sur la croissance de leurs populations

(Pitcairn et al. 1990). D'un autre côté, la présence de nourriture permet d'augmenter grandement leur survie et leur fécondité (Jamont et al. 2013, Benelli et al. 2017), et est donc un facteur de régulation essentiel de la croissance de leurs populations (Tena et al. 2015). Etant donné la complémentarité de ces deux types de ressources, on s'attend donc à un effet important de leur présence et leur densité relative sur la dynamique des populations de parasitoïdes (van Baalen et al. 2001, van Rijn & Sabelis 2005). En effet, Tena et al. (2015) ont par exemple montré que la complémentation en nourriture dans des vergers d'agrumes permet d'augmenter les populations du parasitoïde *Aphytis melinus* par un facteur de 1.5, montrant ainsi que la diversité de ressources affecte la régulation *bottom-up* des populations de parasitoïdes, en rendant la nourriture moins limitante.

Par ailleurs, un très grand nombre d'espèces d'insectes sont parasitoïdes, et ils sont présents dans une très grande diversité d'écosystèmes, où ils assurent un rôle majeur de régulation des populations d'herbivores (régulation *top-down*). On peut s'attendre alors à ce que les effets de la diversité en ressources sur les populations de parasitoïdes aient, par effet de cascade, une influence majeure sur le fonctionnement de ces écosystèmes. En effet, différents modèles théoriques (van Baalen et al. 2001, van Rijn & Sabelis 2005) prédisent des effets substantiels de la complémentation hôte-nourriture sur la régulation des herbivores, qui tendent à être confirmés par plusieurs résultats expérimentaux (Tylianakis et al. 2004, Heimpel & Jervis 2005, Winkler et al. 2009, Jamont et al. 2014, Tena et al. 2015). Cependant, ces résultats sont très variables (Heimpel & Jervis 2005, Heimpel 2019), ce qui demande une description plus fine des processus en jeu.

La supplémentation des ressources disponibles a également un effet important sur le fonctionnement des populations de parasitoïdes. En effet, la présence simultanée de plusieurs hôtes ou de plusieurs sources de nourriture affecte à la fois les paramètres des populations de parasitoïdes et la dynamique des interactions hôte-parasitoïde (van Baalen et al. 2001, Vollhardt et al. 2010a, Ishii & Shimada 2012). La diversité phénologique (par exemple, la succession de différentes espèces d'hôtes aux phénologies différentes) est également un facteur essentiel pour le maintien et la croissance des populations de parasitoïdes dans un habitat donné, en permettant la synchronisation successive des parasitoïdes avec leurs ressources (Godfray et al. 1994, Van Nouhuys & Lei 2004).

**La complémentarité et la supplémentation des ressources sont donc un moteur important du fonctionnement des populations de parasitoïdes. Par ailleurs, ces populations de parasitoïdes jouent un rôle important dans le fonctionnement de nombreux écosystèmes – en particulier dans les agroécosystèmes. Ils représentent un bon modèle pour étudier les effets de la diversification des ressources à différents niveaux d'organisation biologique.**

### 1.3. Les parasitoïdes dans les agroécosystèmes

La problématique de l'influence de la diversité des ressources sur l'écologie des parasitoïdes est particulièrement intéressante à étudier dans le contexte des agroécosystèmes pour au moins deux raisons : la première est que les agroécosystèmes constituent un environnement hautement structuré et contrasté en ressources (Fig. 5), et la deuxième est que les parasitoïdes y fournissent un service écosystémique essentiel de régulation des ravageurs.

**Les agroécosystèmes constituent un environnement hautement structuré.** En effet, les parcelles agricoles constituent des habitats relativement homogènes et délimités spatialement. Ces habitats contrastent avec les espaces non cultivés à l'extérieur de la parcelle, qui comportent souvent une biodiversité végétale plus importante (*e.g.* haies, bois, prairies, végétation de bordure) (Wilkinson

& Landis 2005). Ces contrastes clairs permettent de délimiter dans l'espace des habitats comportant des ressources différentes pour les parasitoïdes (Fig. 5). Par ailleurs, les agroécosystèmes sont structurés dans le temps : les différentes étapes des cultures (semis, croissance, floraison, récolte...) sont accompagnées d'une évolution synchrone des ressources disponibles pour les parasitoïdes (hôtes ou nourriture), à l'échelle d'une parcelle (Eoche-Bosy et al. 2016).

De plus, la diversité des pratiques agricoles fait que la composition en ressources peut grandement varier d'un agroécosystème à un autre, à différentes échelles. A l'échelle du paysage, les agroécosystèmes présentent une grande variation dans leur complexité, par exemple par le nombre, la diversité, la configuration spatiale et la composition en ressources des espaces semi-naturels présents autour des parcelles (Bianchi et al. 2006). On observe également des variations à l'échelle de la parcelle. L'agriculture conventionnelle intensive a largement favorisé la monoculture, associée à une faible biodiversité dans la parcelle (Altieri & Whitcomb 1979, Letourneau et al. 2011). L'agriculture biologique, qui n'a pas accès aux herbicides de synthèse, est caractérisée par une plus grande diversité et une abondance plus élevée d'adventices intra-parcellaires (Hole et al. 2005, Petit et al. 2011). Il existe également des systèmes où les cultures sont plus diversifiées : c'est le cas des polycultures ou des couverts végétaux par exemple (Wilkinson & Landis 2005). En augmentant la diversité végétale présente au sein de la parcelle, ces systèmes permettent potentiellement d'apporter des ressources complémentaires ou supplémentaires aux parasitoïdes, sous la forme de nourriture, d'hôtes alternatifs ou encore d'abris (Landis et al. 2000).

**Les agroécosystèmes constituent donc des systèmes contrastés dans l'espace et le temps, tout en étant fortement structurés, ce qui permet d'y délimiter des habitats en fonction de leur composition en ressource. Par ailleurs, il existe une grande variabilité dans la composition en ressources de ces systèmes à différentes échelles, ce qui permet d'étudier différentes modalités de diversité de ressources pour les parasitoïdes.**

**Les parasitoïdes fournissent un service écosystémique de régulation dans les agroécosystèmes.** Les parasitoïdes sont des acteurs essentiels de la régulation *top-down* des herbivores. Dans les agroécosystèmes en particulier, ils participent à la régulation naturelle des ravageurs des cultures, que l'on appelle également régulation biologique ou *contrôle biologique*. En effet, la quasi-totalité des insectes ravageurs sont attaqués par des parasitoïdes, et l'efficacité de ces derniers en termes de contrôle biologique a été démontrée dans une grande variété de systèmes (Waage & Hassell 1982, Godfray 1994, Wajnberg et al. 2008, Heimpel & Mills 2017a). Comprendre les mécanismes en jeu dans l'exploitation des ressources par les parasitoïdes et leurs conséquences sur la régulation des ravageurs permet d'évaluer le potentiel d'un écosystème donné en termes de contrôle biologique. D'un point de vue socio-économique, l'évaluation de ce service écosystémique dans les cultures est particulièrement importante (Landis et al. 2000, Bommarco et al. 2013, Wezel et al. 2014). Mieux comprendre les effets de la diversité de ressources sur les populations de parasitoïdes pourrait notamment permettre de mettre en place des stratégies de *lutte biologique par conservation*, qui consistent à favoriser le développement des populations d'ennemis naturels des ravageurs et du service de régulation qu'ils procurent par la manipulation des ressources naturelles présentes dans leur habitat (Way 1966, Heimpel & Mills 2017b).

**Ainsi, les parasitoïdes constituent un modèle idéal du point de vue fondamental pour étudier l'effet de la diversité des ressources sur de multiples processus écologiques. Les agroécosystèmes permettent d'étudier ces processus dans des situations relativement simples et contrastées. Par ailleurs, l'étude des effets de la diversification de ces écosystèmes en particulier sur l'exploitation des ressources par les parasitoïdes présente un intérêt du point de vue appliqué, car elle permet de comprendre les mécanismes en jeu dans la régulation des insectes ravageurs par leurs ennemis naturels.**

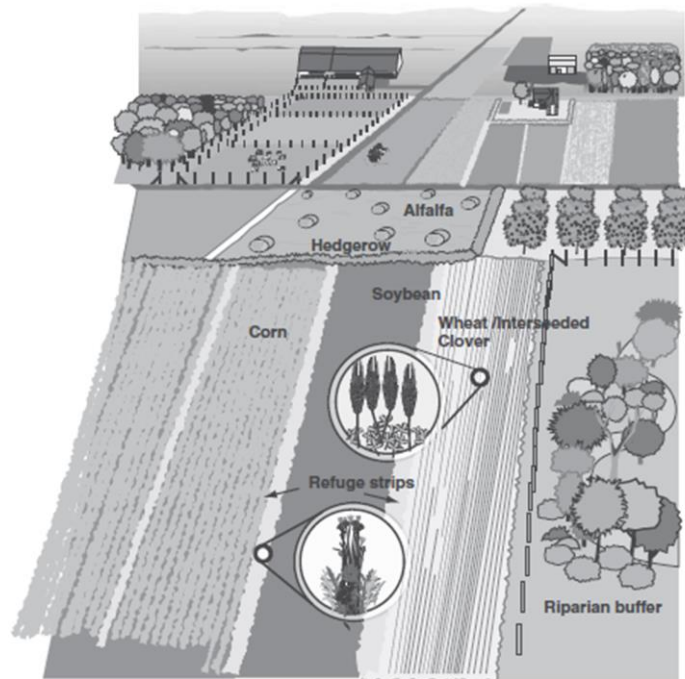


Figure 5 Exemple d'agroécosystème (Wilkinson & Lewis 2005). Les différents compartiments de cet écosystème constituent des habitats contrastés, différant dans la composition et la diversité de ressources disponibles pour les parasitoïdes. Les différentes cultures (maïs, soja, blé) contiennent des hôtes différents pour les parasitoïdes. Par ailleurs, le blé est semé avec un couvert végétal de trèfle (*interseeded clover*) qui peut fournir des ressources complémentaires (e.g. du nectar) ou supplémentaires (hôtes alternatifs) pour les parasitoïdes. Différents éléments du paysage (bandes refuges, haie, prairie de luzerne, zone tampon ou *riparian buffer*) constituent également des habitats potentiels pour les parasitoïdes, dont la diversité et la composition en ressources varient (nourriture, hôtes, abris).

## 2. Diversité de ressources et comportement d'approvisionnement des parasitoïdes

### 2.1. Comment les parasitoïdes devraient-ils exploiter différentes ressources de façon optimale ?

Appliquée aux insectes parasitoïdes, la théorie de l'approvisionnement optimal a plusieurs implications. La première est que les femelles devraient alterner de façon optimale entre prise de nourriture et ponte dans un hôte. Leurs décisions comportementales sont particulièrement importantes pour leur fitness si les femelles ne peuvent pas se nourrir de leur hôte et que les hôtes et la nourriture sont séparés dans l'espace. Ces insectes devraient donc adapter leur stratégie en fonction des coûts et des risques associés à l'exploitation de chacune de ces deux ressources (Jervis & Kidd 1986, Lewis et al. 1998). Une femelle devrait notamment être capable de déterminer à tout moment s'il est préférable de rechercher un hôte ou de la nourriture (Sirot & Bernstein 1996), et combien de temps passer à exploiter chaque ressource (Tenhumberg et al. 2006). Différents modèles ont été



construits pour prédire l'importance de différents facteurs dans les décisions comportementales d'une femelle parasitoïde (Sirost & Bernstein 1996, Tenhumberg et al. 2006, Bernstein & Jervis 2008). Ces modèles prédisent qu'afin de prendre des décisions optimales, la femelle devrait prendre en compte à la fois un certain nombre de facteurs internes (comme son statut nutritionnel ou sa charge en œufs) et des facteurs externes (comme la distance entre les patches d'hôtes et de nourriture).

Lorsque plusieurs ressources du même type sont présentes (plusieurs hôtes ou plusieurs sources de nourriture), les parasitoïdes devraient également ajuster leurs décisions d'exploitation selon différents facteurs. D'une part, la qualité de la ressource devrait influencer leurs préférences (Jaenike 1978). Notamment, l'hypothèse « mother knows best » (ou *hypothèse de préférence-performance*), prédit que lorsque différentes espèces d'hôtes sont disponibles, une femelle devrait choisir celle qui assurera le meilleur développement de sa descendance (*i.e.* lui donnant les meilleures chances de survie et/ou une plus grande fécondité ultérieure) (Jaenike 1978, Gripenberg et al. 2010). Lorsque des sources de nourriture de différentes qualités sont présentes (par exemple du nectar ou du miellat, Wäckers et al. 2008), la femelle devrait choisir celle qui maximise sa propre survie, lui permettant d'augmenter son nombre de descendants potentiels. Des analyses *in silico* ont ainsi pu montrer que la descendance des femelles était plus élevée lorsqu'elles choisissaient de se nourrir de nectar offrant un gain d'énergie plus élevé que le miellat (Vollhardt et al. 2010b). La qualité de la ressource n'est cependant pas le seul paramètre à considérer pour prendre des décisions adaptatives. En effet, si une ressource de bonne qualité est très rare dans l'environnement, un insecte risque de perdre beaucoup de temps à la chercher et il peut être préférable de se contenter d'une ressource de moins bonne qualité, mais plus abondante. Ainsi, une femelle devrait également être capable d'évaluer la disponibilité de la ressource (Křivan 1996).

## 2.2. Des adaptations pour l'exploitation des ressources

Une implication forte des théories d'optimalité est qu'un animal doit avoir une connaissance très précise de son environnement : quelles sont les ressources présentes, quelles sont leur disponibilité et leur qualité relatives. La mise en place de stratégies d'exploitation implique donc que les parasitoïdes soient capables de détecter et de discriminer leurs différentes ressources, dans un environnement souvent complexe et hétérogène (Schröder & Hilker 2008, Hilker & McNeil 2008, Wäschke et al. 2013, Aartsma et al. 2017, 2019). Bien sûr, les parasitoïdes ne sont pas omniscients : leurs contraintes cognitives et la stochasticité environnementale rendent impossible une connaissance parfaite de leur environnement. Cependant, au cours de leur évolution, les parasitoïdes ont développé un certain nombre d'adaptations sensorielles leur permettant d'évaluer différentes caractéristiques de la composition en ressources de leur environnement.

### 2.2.1 : Le rôle de l'olfaction dans la localisation et la discrimination des ressources.

Afin de détecter et reconnaître leurs hôtes ou leur nourriture, les parasitoïdes utilisent différents signaux sensoriels. Au cours de leur évolution, les parasitoïdes ont notamment développé un sens olfactif permettant une détection performante et une reconnaissance fine des ressources présentes (Lewis & Takasu 1990, Vet & Dicke 1992, de Moraes et al. 1998, Turlings & Wäckers 2004, Wäschke et al. 2013). Les bouquets d'odeurs émis par les ressources sont souvent contrastés, ce qui peut permettre aux parasitoïdes de reconnaître leurs ressources de manière spécifique (de Moraes et

al. 1998, Dicke 1999). La spécificité de ces odeurs leur permet d'être détectées y compris dans des environnements olfactivement complexes : leur contraste avec les odeurs environnantes peut même aider à leur détection (Schröder & Hilker 2008, Hilker & McNeil 2008, Beyaert et al. 2010). Par ailleurs, malgré leur caractère discontinu causé par les fluctuations aériennes, les bouquets de composés volatils émis par les ressources ont généralement une cohérence spatio-temporelle qui permet aux insectes de les discriminer des autres odeurs (Martin et al. 2011, Beyaert & Hilker 2014). Ces bouquets sont détectables à des distances pouvant aller jusqu'à plusieurs dizaines de mètres (Andersson et al. 2013). Ainsi, l'olfaction est généralement considérée comme le principal sens contrôlant le comportement d'approvisionnement à différentes échelles spatiales chez les parasitoïdes (Aartsma et al. 2017), bien que d'autres stimuli puissent intervenir dans la reconnaissance des ressources, comme par exemple des signaux visuels (Wäckers 1994, Kugimiya et al. 2010).

L'influence des stimuli olfactifs sur la localisation des hôtes par les parasitoïdes a été étudiée de manière intensive dans les trois dernières décennies (e.g. Lewis & Takasu 1990, Turlings et al. 1990, de Moraes et al. 1998, Turlings & Wäckers 2004, Wäschke et al. 2013). Afin de localiser leurs hôtes, les parasitoïdes peuvent profiter de stimuli émis par les hôtes eux-mêmes (Rice 1969, Sternlicht 1973), mais ils exploitent le plus souvent des stimuli provenant de l'habitat de l'hôte (Vet & van Opzeeland 1984, Dicke et al. 1984, Lewis & Tumlinson 1988), en particulier la plante sur laquelle les hôtes se nourrissent (Vinson 1976). Il est notamment admis que de nombreuses espèces de parasitoïdes sont attirées par des composés organiques volatils émis par les plantes et dont la production est induite par l'infestation par des herbivores, appelés *Herbivore-induced plant volatiles* ou HIPVs (Turlings et al. 1990, Vet & Dicke 1992, de Moraes et al. 1998, Ode 2013). L'émission de ces composés pourrait être le résultat d'une coévolution entre les plantes et les ennemis naturels des ravageurs, bien que leur implication sur la fitness des plantes ne soit pas encore clairement établie (Dicke & Baldwin 2010). Quoi qu'il en soit, ces volatils sont impliqués dans la détection des hôtes chez de nombreux parasitoïdes : ils leur permettent notamment de distinguer une plante infestée d'une plante non infestée (Vet & Dicke 1992, de Moraes et al. 1998), de distinguer les espèces hôtes des espèces non hôtes (Du et al. 1996, de Moraes et al. 1998, Takemoto et al. 2012), voire les différents stades de développement de leur hôte (Takabayashi et al. 1995), et enfin de distinguer plusieurs complexes plante-hôte différents (Vet & Dicke 1992, Fors et al. 2018).

Les parasitoïdes peuvent également utiliser des stimuli olfactifs pour localiser leurs sources de nourriture (Lewis & Takasu 1990, Takasu & Lewis 1996, Olson et al. 2005), en plus de signaux visuels (Wäckers 1994). Ces insectes sont notamment capables de localiser les plantes produisant du nectar (qu'il soit floral ou extrafloral), par le biais d'odeurs émises par la plante (Wäckers 2004), ou par le nectar lui-même (Röse et al. 2006, Heil 2011). De récents résultats indiquent notamment que les communautés microbiennes qu'héberge le nectar participent grandement à l'émission de bouquets olfactifs attractifs pour les parasitoïdes (Sobhy et al. 2018, 2019). Les parasitoïdes sont également capables de répondre aux stimuli olfactifs émis par le miellat (Du et al. 1997), qui seraient, là encore, modulés par l'action de micro-organismes (Leroy et al. 2011). Cependant, l'attraction pour cette source de nourriture est moins connue et la signification de ces signaux pour les parasitoïdes n'est pas encore claire (une odeur de miellat peut indiquer la présence d'hôtes ou de nourriture). De la même manière que pour les hôtes, il a été montré que les parasitoïdes sont capables de différencier des sources de nourriture grâce à des informations olfactives ; par exemple, ils peuvent discriminer les odeurs de différentes plantes qui produisent du nectar floral (Wäckers 2004).

2.2.2 : Le rôle de l'olfaction dans la plasticité comportementale et les décisions d'exploitation.

Les parasitoïdes sont donc capables d'identifier et de localiser leurs ressources, ce qui leur permet de prendre des décisions d'exploitation. Une fois qu'il a détecté une ressource, un insecte peut décider de s'y diriger, ou non. Par ailleurs, si un insecte détecte les stimuli associés à la présence de deux ressources différentes de façon simultanée, il peut choisir de se diriger préférentiellement vers l'une des deux ressources. Les réponses comportementales des parasitoïdes aux stimuli olfactifs (attraction pour une ressource, préférence parmi plusieurs ressources) peuvent être innées et/ou acquises ou modulées par l'expérience (Giunti et al. 2015). Par ailleurs, les parasitoïdes, comme d'autres insectes, font généralement preuve d'une importante plasticité comportementale, qui leur permet d'ajuster leurs décisions selon différents facteurs (Gadenne et al. 2016).

Les parasitoïdes peuvent être attirés de façon innée par les stimuli associés à un hôte ou plusieurs hôtes (Gu & Dorn 2000) ou à différentes sources de nourriture, *e. g.* différentes plantes produisant du nectar (Wäckers 1994, 2004). Chez les généralistes, on observe également des préférences innées pour certains hôtes (König et al. 2015) ou sources de nourriture, par exemple parmi plusieurs sources de nectar (Wäckers 2004). Dans ce cas, l'attraction pour la ressource est codée dans le génome de l'insecte (Gu & Dorn 2000). Cependant, l'attraction innée pour un hôte peut également être modulée par l'expérience, en particulier chez les espèces généralistes (Steidle & van Loon 2003, Giunti et al. 2015). De nombreuses espèces de parasitoïdes font notamment preuve d'apprentissage associatif au stade adulte<sup>4</sup>. Chez de nombreuses espèces, une expérience d'oviposition est associée à l'induction et/ou l'augmentation de l'attraction des stimuli olfactifs émis par un complexe plante-hôte (Vet & van Opzeeland 1984, Giunti et al. 2015), ce qui peut modifier les préférences du parasitoïde parmi plusieurs complexes (Daza-Bustamante et al. 2002). De la même manière, une expérience de prise de nourriture peut être associée à une induction et/ou une augmentation de l'attraction pour cette ressource (nectar : Lewis & Takasu 1990, Takasu & Lewis 1996 ; miellat : Kugimiya et al. 2010), et peut mener à préférer cette ressource plutôt qu'une autre (par exemple, le nectar par rapport au miellat, Vollhardt et al. 2010b).

En plus de l'apprentissage au stade adulte, de nombreuses espèces de parasitoïdes sont capables d'expérimenter de façon précoce les signaux olfactifs liés à leur complexe plante-hôte d'origine, durant les stades pré-imaginaux ou au moment de l'émergence (van Edmen et al. 1996, 2008). Ce processus d'apprentissage peut être mis en place au moyen de différents mécanismes : apprentissage de signaux chimiques présents sur l'hôte mort au moment de l'émergence (*héritage chimique* ou *imprégnation*, Corbet 1985, Storeck et al. 2000), apprentissage d'odeurs liées à l'hôte pendant les stades pré-imaginaux et conservé lors de la métamorphose (*principe de sélection d'hôte de Hopkins* : Hopkins 1917, Gandolfi et al. 2003), ou apprentissage plus complexe en plusieurs étapes (Guttierez-Ibañez et al. 2007, Takemoto et al. 2012). Ces phénomènes d'apprentissage peuvent être permis par la persistance de la mémoire de l'insecte lors de la métamorphose, qui impliquerait le système nerveux central (Heisenberg et al. 1995, Gandolfi et al. 2003), mais ils pourraient également faire intervenir l'augmentation de la sensibilité antennaire aux composés volatils émis par l'hôte d'origine (Ballesteros et al. 2017). Indépendamment du mécanisme en jeu, il a été démontré à de nombreuses reprises que cette expérience précoce génère une attraction du parasitoïde pour son complexe plante-hôte d'origine (Wickremasinghe & van Emden 1992, Storeck et al. 2000, Takemoto et al. 2012). Par ailleurs, ce processus conditionne les préférences parmi plusieurs complexes plante-

---

<sup>4</sup> L'apprentissage associatif est un processus par lequel l'animal apprend une association entre deux événements (Abramson 1994) – par exemple, la perception d'une information sensorielle et une réponse comportementale, potentiellement bénéfique en termes de fitness.

hôte différents. Par exemple, chez *Aphidius ervi*, la femelle naïve est plus attirée par son complexe plante-hôte d'origine que par un complexe alternatif, indépendamment de son ascendance (Daza-Bustamante et al. 2002) – on parle alors de *fidélité à l'hôte* (Henry et al. 2008). Ce phénomène est en fait une manifestation d'un processus répandu dans de nombreux taxons, appelé induction des préférences par l'habitat natal (*natal habitat preference induction*, Davis 2004). Dans le cas des parasitoïdes, rester fidèle à son hôte d'origine pourrait permettre à la femelle d'ajuster ses préférences à l'hôte le plus abondant : en effet, le fait qu'elle se soit développée sur une espèce donnée indique qu'il est probable de retrouver cette espèce d'hôte dans son environnement proche. Ce phénomène pourrait être particulièrement adaptatif pour les parasitoïdes susceptibles de rencontrer la même espèce d'hôte au cours de leur vie, mais dont la disponibilité des différentes espèces d'hôtes varie au cours des générations (Henry et al. 2006, Raymond et al. 2016).

En présence de plusieurs ressources, les préférences olfactives des parasitoïdes déterminent donc leurs décisions d'exploitation. Cependant, qu'elles soient innées ou acquises par expérience, les décisions d'un parasitoïde à un instant  $t$  peuvent être modulées selon différents facteurs, notamment liés à son état interne. Par exemple, il a été montré à plusieurs reprises que l'état nutritionnel d'un parasitoïde (*i. e.* le fait qu'il se soit nourri récemment ou pas) détermine sa décision de se diriger vers un hôte ou vers une source de nourriture (Wäckers 1994, Siekmann et al. 2004). Différentes études ont pu montrer que cette plasticité comportementale est due à une variation dans la réponse aux stimuli olfactifs émis par ces deux ressources (Wäckers 1994, Desouhant et al. 2005). Elle est généralement permise par une neuromodulation au niveau du système nerveux central (Sengupta 2013), même si certains résultats laissent entrevoir que des variations au niveau périphérique puissent être en jeu (Burrows et al. 2017). En plus de facteurs internes, comme leur statut physiologique, différents facteurs externes modulent les décisions d'exploitation des parasitoïdes, comme par exemple la distance entre les ressources (Lucchetta et al. 2007) ou le niveau de compétition (Martínez et al. 2017).

**Les stimuli olfactifs émis par les ressources permettent donc aux parasitoïdes de les reconnaître et de les localiser. Mais également, les ressources varient dans leur attractivité : ces insectes font preuve de préférences olfactives, qui vont déterminer leurs décisions d'exploitation parmi différentes ressources. Ces préférences peuvent être modifiées par l'expérience à plusieurs stades de leur vie, en fonction des ressources présentes dans l'environnement. Par ailleurs, la plasticité neuronale et comportementale des parasitoïdes leur permet de moduler ces décisions selon différents facteurs internes ou externes. Ces insectes disposent donc d'un panel d'adaptations leur permettant d'ajuster leurs décisions d'exploitation – et donc, potentiellement, d'exploiter leurs ressources de manière adaptative.**

### 2.3. Comment la diversité des ressources affecte-t-elle le comportement d'exploitation des parasitoïdes ?

Les préférences innées ou acquises des parasitoïdes devraient leur permettre d'ajuster leurs décisions d'exploitation de manière à augmenter leur fitness. On peut donc s'attendre à ce que les parasitoïdes ne mettent pas en place les mêmes stratégies selon qu'ils se trouvent dans un environnement plus ou moins diversifié en ressources. D'un côté, l'augmentation de la diversité de l'habitat augmente le nombre de ressources différentes disponibles pour les parasitoïdes : on peut donc s'attendre à ce que a) la diversité en ressources influence leur choix d'habitat et b) une fois dans un habitat, les insectes l'exploitent au mieux en profitant de la diversité de ressources disponibles (Stapel et al. 1997, Bernstein & Jervis 2008). D'un autre côté, l'augmentation de la complexité

sensorielle (notamment olfactive) du milieu pourrait brouiller la détection des ressources par les parasitoïdes et gêner l'exploitation des ressources (Wäschke et al. 2013).

On peut donc en premier lieu faire l'hypothèse qu'un habitat diversifié est profitable pour un parasitoïde. Notamment, la complémentarité d'hôtes et de nourriture dans un même habitat devrait permettre de minimiser le temps de déplacement entre les deux types de ressources, et donc les coûts et les risques associés (Stapel et al. 1997, Bernstein & Jervis 2008) – ce qui affecte positivement la fitness des individus. A partir de cette hypothèse, il semble raisonnable de prédire que les parasitoïdes devraient préférer exploiter un habitat diversifié plutôt qu'un habitat non diversifié (Desouhant et al. 2005, Bernstein & Jervis 2008). Cette prédiction tend à être confirmée expérimentalement, notamment dans le cas de la complémentation hôte/nourriture. Desouhant et al. (2005) et Nilsson et al (2012) ont notamment montré que les parasitoïdes *Venturia canescens* et *Trybliographa rapae* sont capables de reconnaître des habitats contenant les deux types de ressources par rapport aux habitats ne contenant qu'un seul type de ressource ; et ils préfèrent se diriger vers ces habitats plus diversifiés. Jamont et al. (2014) ont également confirmé cette hypothèse dans des conditions semi-naturelles chez le parasitoïde *Diaeretiella rapae*. De plus, les parasitoïdes restent généralement plus longtemps dans des habitats contenant à la fois des hôtes et de la nourriture que des habitats ne contenant qu'une seule ressource (Stapel et al. 1997, Jamont et al. 2014).

Une deuxième hypothèse qui peut être faite est que les parasitoïdes devraient ajuster leur décisions d'exploitation selon la diversité de leur habitat. Par exemple, la présence de ressources supplémentaires dans l'environnement du parasitoïde pourrait modifier leurs préférences de ressource. Dans des analyses par simulation, Vollhardt et al. (2010b) ont montré que lorsqu'un habitat est complété en nectar de forte qualité nutritive, les parasitoïdes devraient modifier leurs préférences : passer moins de temps à exploiter du miellat, et plus de temps à exploiter du nectar. La même prédiction peut être faite pour la supplémentation en hôtes : la présence simultanée de différents hôtes dans l'environnement devrait avoir une influence sur les décisions d'exploitation du parasitoïde. Par exemple, Ishii & Shimada (2012) ont montré que le parasitisme d'un hôte par le parasitoïde *Anisopteromalus calandrae* dépend de la présence ou non d'un deuxième hôte, ainsi que de l'abondance relative des deux hôtes.

Si l'apport de nouvelles ressources via l'augmentation de la diversité peut être profitable pour un parasitoïde, elle peut également le gêner dans la mise en place de ses stratégies d'exploitation. En effet, même si un habitat plus diversifié peut théoriquement être bénéfique à un parasitoïde en termes de fitness, il se peut que les contraintes neurobiologiques de l'insecte soient telles qu'il ne soit pas capable de gérer le flux d'informations à intégrer pour mettre en place des décisions adaptatives. Différents cas de figure sont possibles dans les choix d'habitats, répertoriés par Wäschke et al. 2013 : certains parasitoïdes préfèrent rechercher la complexité olfactive (qui indiquerait davantage de ressources), d'autres préfèrent éviter cette complexité (qui indiquerait plus de difficulté à trouver les ressources) ; enfin, d'autres préfèrent l'ignorer et se reposer sur d'autres signaux, (*e.g.* visuels, Wäckers 1994). Une fois qu'un parasitoïde est dans un habitat donné, il peut être affecté de différentes manières par sa complexité olfactive : elle peut à la fois faciliter la localisation de ressources (par augmentation des contrastes entre les différents bouquets d'odeurs), mais également masquer la présence des ressources (Schröder & Hilker 2008, Hilker & McNeil 2008).

Un aspect méconnu de l'influence de la diversité du milieu est la façon dont la complexité olfactive de l'environnement affecte les processus d'apprentissage des parasitoïdes. Quelques résultats montrent que les parasitoïdes sont capables de discriminer et de répondre à des composés après une exposition à un mélange complexe (Meiners et al. 2003). Cependant, les conséquences d'un tel processus sur les décisions comportementales des parasitoïdes est encore très peu connue. Par

exemple, il est admis que les processus d'expérience précoce modulent le comportement d'approvisionnement des parasitoïdes (Henry et al. 2006, 2008, 2010). Cependant, dans un environnement hétérogène et olfactivement complexe, un grand nombre d'odeurs se mêlent aux odeurs produites par le complexe plante-hôte du parasitoïde qui est en train de se développer. En interférant avec les odeurs du complexe plante-hôte, ces odeurs « étrangères » pourraient donc modifier le processus d'induction des préférences (Vosteen et al. 2019). A ce jour, une seule étude s'est penchée sur cette question, menée par van Emden et al. (2002). Dans cette étude, les auteurs ont placé ou non des plants de tomate dans l'environnement proche de momies du parasitoïde *Aphidius rhopalosiphii*, pendant leur développement sur des plants de blé. Lorsqu'ils s'étaient développé en présence de tomates, les parasitoïdes une fois adultes étaient beaucoup plus attiré par les odeurs d'un environnement contenant à la fois du blé et de la tomate que du blé seul, suggérant que la présence de cette source d'odeur supplémentaire avait affecté leur processus d'apprentissage précoce par allélopathie. Dans ce cas précis, la tomate n'est pas une ressource pour le parasitoïde. On peut, toutefois, se demander quelle influence aurait un tel processus sur le comportement des parasitoïdes dans un environnement dans lequel plusieurs ressources seraient présentes (par exemple, une parcelle comportant plusieurs hôtes alternatifs). D'un côté, l'apprentissage simultané des stimuli associés à plusieurs ressources pourrait lui permettre d'obtenir une meilleure évaluation des ressources présentes dans son environnement, et d'améliorer ses décisions d'approvisionnement une fois adulte. D'un autre côté, l'augmentation de la complexité olfactive de l'environnement pourrait perturber le processus d'apprentissage en augmentant le ratio bruit/signal. **Cependant, l'implication de la présence simultanée d'odeurs de différentes ressources sur ce processus précoce d'induction des préférences est à ce jour inconnu.**

### 3. Diversification et exploitation de ressources à l'échelle de la parcelle

Dans un agroécosystème, la diversité des ressources disponibles pour les parasitoïdes peut être caractérisée à plusieurs échelles spatiales. Chacune de ces échelles est importante pour expliquer les patrons d'exploitation des ressources des parasitoïdes : cependant, elles agissent sur des processus différents, et leur effet dépend des particularités biologiques des populations considérées (Chaplin-Kramer et al. 2011, Heimpel & Mills 2017b).

La diversité en ressources peut tout d'abord s'exprimer à l'échelle du paysage agricole (Thies & Tschardt 1999, Bianchi et al. 2006). A cette échelle, les ressources sont distribuées dans la parcelle, mais également dans les parcelles voisines et dans les éléments semi-naturels présents dans le paysage environnant (bois, prairies, haies...) (voir Fig. 5, page 27). Selon sa composition, un paysage peut contenir une diversité de ressources plus ou moins grande ; par ailleurs, il peut proposer une diversité plus ou moins importante d'habitats différents (Dunning et al. 1992, Chaplin-Kramer et al. 2011). La diversité des ressources présentes à cette échelle détermine différents processus liés à l'exploitation des ressources, comme la dynamique source-puits des métapopulations de parasitoïdes entre leurs différents habitats (Dunning et al. 1992, Álvarez et al. 2019). Cependant, si la diversité du paysage permet de comprendre les patrons d'exploitation des ressources des parasitoïdes à une échelle relativement large, elle ne permet pas d'expliquer leur utilisation des ressources à des échelles plus locales. En effet, les capacités de dispersion active des parasitoïdes dépassent rarement quelques dizaines de mètres (Topham & Beardsley 1975, Lavandero et al. 2005, Stacconi et al. 2018) : la majorité de leur activité a lieu à des échelles spatiales plus réduites (au moins au niveau individuel, les parasitoïdes ayant généralement une durée de vie de quelques jours, Jervis et al. 2001).

Ainsi, la diversité en ressources peut également être caractérisée à l'échelle de la parcelle et de son environ immédiat, correspondant au rayon d'exploitation de ressources des parasitoïdes présents dans le champ. A cette échelle, les ressources sont présentes dans la parcelle, et dans la végétation de bordure, qui peut prendre la forme de haies, de bosquets ou de bandes enherbées, entre autres (Landis et al. 2000, Wilkinson & Landis 2005, Olson & Wäckers 2007). Différentes études se sont intéressées à la présence de cette végétation de bordure sur la prise de ressource par les parasitoïdes et à ses conséquences sur leurs populations. Elles ont notamment pu mettre en évidence qu'elle peut servir de réservoir de nourriture activement utilisée par les parasitoïdes (Olson & Wäckers 2007, Winkler et al. 2009, Kishinievsy et al. 2018), qui retournent ensuite dans la parcelle exploiter des hôtes (Freeman-Long et al. 1998, Lee et al. 2006, Pollier et al. 2016). Ce phénomène peut mener à une augmentation de la taille des populations de parasitoïdes (Denys & Tscharrntke 2002) et du taux de parasitisme (Pollier et al. 2018). Cependant, ces effets semblent souvent limités à une échelle restreinte. En effet, plusieurs travaux ont montré que les populations de parasitoïdes et leur activité de régulation des hôtes déclinent à mesure que l'on s'éloigne des bordures pour progresser vers le centre de la parcelle (Tylianakis et al. 2004, Lavandero et al. 2005, Bianchi & Wäckers 2008) (Fig.6). En plus de cet effet « dilution », la taille des aménagements de bordure est souvent insuffisante pour soutenir de larges populations de parasitoïdes (Thies & Tscharrntke 1999).

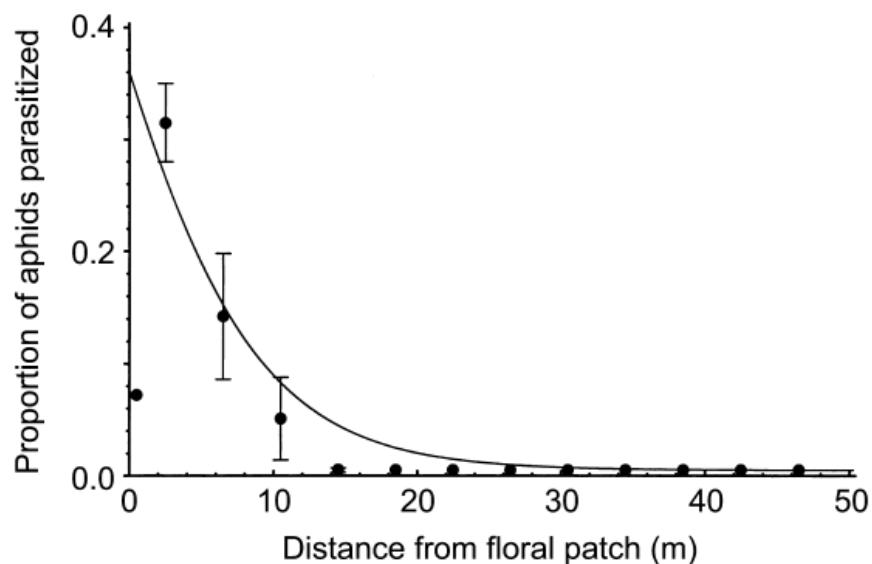


Figure 6 L'effet de la provision de nourriture sur les parasitoïdes dépend de la distance à la ressource. Ce graphique représente le taux de parasitisme moyen ( $\pm$  IC 95%) de pucerons *Metopolophium dirhodum* par le parasitoïde *Aphidius rhopalosiphii* dans un champ de blé, à différentes distances de patches de sarrasin agissant comme sources de nectar. De Tylianakis et al. (2004).

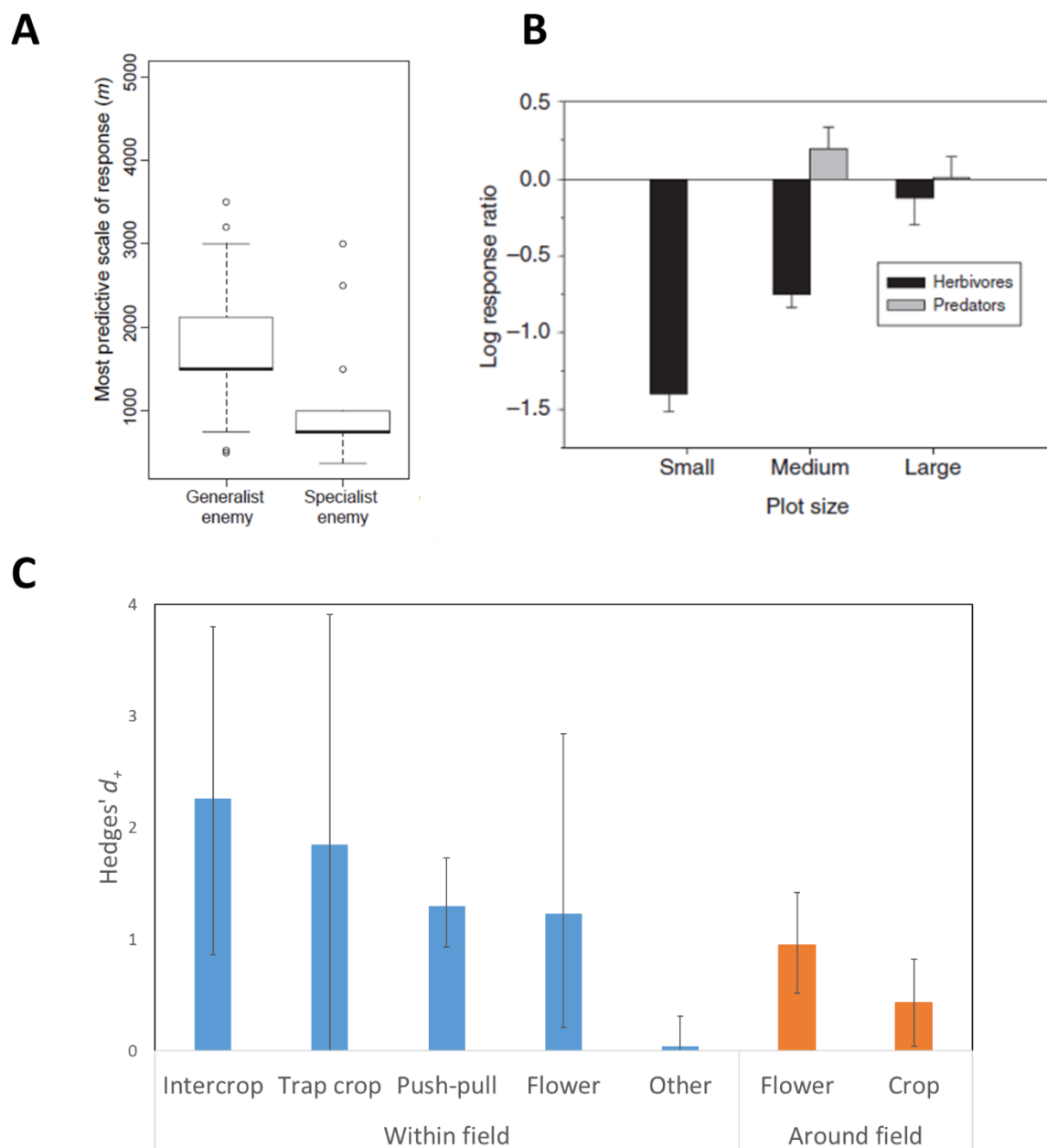
Enfin, la diversité de ressources peut être définie à l'échelle de la parcelle uniquement. Cette diversité dépend de la composition des cultures (Pickett & Bugg 1998), mais également de la biodiversité végétale présente dans la parcelle, qui peut être plus ou moins importante selon les pratiques agricoles (Landis et al. 2000). Par exemple, les monocultures intensives sont souvent peu diversifiées et présentent un faible nombre de ressources différentes pour les parasitoïdes (peu d'espèce d'hôtes, pas de nourriture). En revanche, différentes pratiques augmentent la biodiversité présente dans les cultures : cultures associées, couvert végétal, habitats refuges, végétation de sous-bois (Wilkinson & Landis, 2005). La végétation spontanée peut également contribuer à augmenter cette biodiversité (Altieri & Whitcomb 1979, 1980). Le niveau de biodiversité dans la parcelle conditionne la diversité de ressources disponibles pour les parasitoïdes par l'apport de ressources supplémentaires (hôtes alternatifs) et complémentaires (nourriture, mais aussi abris), dans l'espace et le temps. A cette échelle, les ressources sont distribuées de manière relativement homogène dans la

parcelle : on s'attend donc à d'importants effets de la diversité intra-parcellaire sur l'exploitation de ressources par les parasitoïdes. Par exemple, la présence ou l'absence de nourriture devrait déterminer leur nécessité d'aller en chercher à l'extérieur (Vollhardt et al. 2010a). Les parasitoïdes devraient passer moins de temps à rechercher et alterner entre leurs ressources et davantage de temps à les exploiter : on s'attend globalement à une augmentation de la prise de ressource – hôte comme nourriture – (Křivan & Sirot 1997, Vollhardt et al. 2010a). D'autre part, la présence de plusieurs ressources de même type (plusieurs sources de nourriture ou plusieurs hôtes différents) devrait affecter les choix d'exploitation des parasitoïdes, selon leur disponibilité et leur qualité. Malgré ces implications importantes, peu d'études expérimentales se sont intéressées à l'influence de la diversité intra-parcellaire sur les processus d'exploitation de ressource par les parasitoïdes (mais voir par exemple : Jamont et al. 2014 et Tena et al. 2015).

Les patrons d'exploitation des ressources par les parasitoïdes déterminent de nombreux paramètres de leurs populations ; comme leur densité, leur croissance, leur distribution spatiale, ou leur taux de dispersion (Křivan & Sirot 1997, Kean et al. 2003, van Rijn & Sabelis 2005, Bianchi & Wäckers 2008). Par voie de conséquence, la modification de ces patrons en fonction de la diversité a une influence importante sur le fonctionnement de ces populations, et donc sur leurs interactions avec les autres populations – et en particulier, sur leur fonction de régulation des insectes ravageurs (Kean et al. 2003, van Rijn & Sabelis 2005). Un certain nombre d'études se sont intéressées aux relations entre la diversification à différentes échelles et l'abondance des populations d'ennemis naturels et/ou le contrôle biologique. Si la diversification à l'échelle du paysage peut avoir un effet sur ces paramètres (Chaplin-Kramer et al. 2011), ses effets sont variables et très dépendants du contexte (Tscharrntke et al. 2016, Karp et al. 2018). Une méta-analyse menée par Chaplin-Kramer et al. (2011) montre que les ennemis naturels les plus spécialisés, dont font partie les parasitoïdes, répondent davantage aux échelles spatiales les plus réduites (Fig. 7A). Dans une autre méta-analyse, Bommarco & Banks (2003) ont comparé l'effet de différentes échelles de diversité sur les populations d'ennemis naturels (prédateurs et parasitoïdes confondus) : leurs résultats ont montré que les effets de la diversification sur l'augmentation des populations d'ennemis naturels et la réduction des populations de ravageurs sont plus forts aux échelles les plus réduites (Fig. 7B). Dans une troisième méta-analyse, Letourneau et al. (2011) ont également comparé différentes échelles de diversification, cette-fois à une échelle plus réduite (dans et autour de la culture). Leurs résultats ont montré les mêmes effets sur les populations d'ennemis naturels (prédateurs et parasitoïdes confondus) et de ravageurs ; de plus, ils ont montré que la diversification à l'échelle de la parcelle a un effet plus important sur l'abondance des ennemis naturels et/ou le parasitisme que la diversification aux abords de la parcelle (Fig. 7C).

**L'échelle de la parcelle semble particulièrement pertinente pour étudier les relations entre la diversité de ressources et leur exploitation par les parasitoïdes. Les connaissances mécanistes sur l'écologie des parasitoïdes et les théories d'écologie comportementale suggèrent que cette échelle devrait déterminer une grande partie de leurs patrons d'exploitation. Cette hypothèse est renforcée par les résultats des études corrélatives ayant comparé différentes échelles, qui montrent que la diversification au niveau parcellaire a le plus d'influence sur les populations de parasitoïdes (Fig. 7). De plus, ces travaux montrent que cette échelle de diversité a l'effet positif le plus important sur le contrôle biologique : la diversification intra-parcellaire semble donc particulièrement prometteuse, dans une perspective de lutte biologique par conservation. Cependant, les processus expliquant cette relation sont encore méconnus ; de plus, il existe une variabilité importante dans les réponses des parasitoïdes à la diversification (Fig. 7C). Il semble donc pertinent de s'intéresser à ces processus, à la fois pour mieux comprendre la relation diversité-exploitation de ressources chez les parasitoïdes, mais également pour mieux évaluer et prédire le potentiel des systèmes diversifiés pour le contrôle biologique.**





*Figure 7* Différentes échelles de diversification affectent différemment les ennemis naturels. **A** Echelle spatiale qui prédit le mieux la réponse des ennemis naturels (parasitoïdes et prédateurs) à la complexité du paysage dans 26 études, selon leur degré de spécialisation. La réponse des ennemis naturels inclut plusieurs variables comme leur abondance, leur diversité et le niveau de prédation ou de parasitisme. D'après une méta-analyse réalisée par Chaplin-Kramer et al. (2011). **B** Relation entre l'échelle de diversification et la réponse des ennemis naturels et des ravageurs. L'échelle de diversification a été divisée en trois modalités : petite (moins de 16m<sup>2</sup>), moyenne (entre 16m<sup>2</sup> et 256m<sup>2</sup>) et grande (plus de 256 m<sup>2</sup>). Le *log response ratio* (axe des ordonnées) est calculé comme  $\ln(X_{\text{diversifié}}/X_{\text{non diversifié}})$ , où X est l'abondance mesurée (aucune donnée n'était disponible pour les ennemis naturels pour l'échelle la plus petite). Résultats obtenus dans une méta-analyse menée par Bommarco & Banks (2003), sur 25 études réalisées entre 1980 et 1997. Modifié par Heimpel & Mills (2017b). **C** Relation entre différentes modalités de diversification et la réponse des ennemis naturels, en termes d'abondance ou de taux de parasitisme. En bleu : diversification intra-parcellaire, en orange : diversification autour de la parcelle. Le  $d_+$  de Hedge est une mesure de la taille d'effet par rapport à une culture non diversifiée (un  $d_+$  positif indique une réponse positive, un  $d_+$  plus grand indique une réponse plus forte). *Intercrop* = culture associée, *trap crop* = culture piège (culture spécifiquement plantée pour attirer les ravageurs et les éloigner de la culture d'intérêt), *push-pull* = système consistant à la fois à planter une ou des cultures qui repoussent les insectes ravageurs de la culture d'intérêt, notamment par le biais de signaux chimiques (*push*), et à les attirer vers une ou des culture(s) piège(s) (*pull*). Résultats obtenus dans une méta-analyse menée par Letourneau et al (2011), sur 45 études réalisées entre 1998 et 2008.

### 3.1. Diversité et complémentation de nourriture

#### 3.1.1 : Diversité intra-parcellaire et prise de nourriture par les parasitoïdes.

La diversité en ressources présente dans la parcelle a une influence à la fois sur la façon dont les parasitoïdes exploitent leur nourriture (choix de ressource, mouvement entre les ressources), et sur la quantité et la qualité de la nourriture qu'ils peuvent consommer. Dans les cultures peu diversifiées, comme les monocultures de céréale par exemple, il est fréquent que les sources de nourriture produites par les plantes, comme le nectar, soient absentes ou très rares (Heimpel & Jervis 2005). Dans ce cas, plusieurs patrons d'exploitation peuvent être observés. Une première possibilité pour les parasitoïdes est de se nourrir de miellat : en effet, il a été montré que le miellat est la principale source de nourriture pour différentes espèces, dans des cultures où les sources de nectar sont rares (Hogervorst et al. 2007a, Tena et al. 2013, 2016). Cependant, l'exploitation de cette ressource dépend de la présence d'homoptères producteurs de miellat dans la parcelle, et sa disponibilité dépend grandement des conditions environnementales et des saisons (Tena et al. 2013). Une autre possibilité pour les parasitoïdes est d'exploiter de la nourriture présente à l'extérieur de la parcelle, notamment en bordure de la culture où les sources de nourriture sont souvent plus abondantes (Heimpel & Jervis 2005). En effet, différents travaux ont montré que la végétation de bordure peut servir de source de nourriture pour les parasitoïdes présents dans la parcelle, indiquant que les parasitoïdes sont capables de faire des aller-retours entre l'intérieur et l'extérieur de la parcelle (Lavandero et al. 2005, Lee et al. 2006, Pollier et al. 2016). Cependant, la disponibilité de ces ressources extérieures est elle-même soumise à de fortes variations spatio-temporelles (Segoli & Rosenheim 2013). Quand l'extérieur de la parcelle est inaccessible ou pauvre en nourriture et qu'il n'y a pas d'homoptères producteurs de miellat dans la parcelle, il semble que de faibles populations de parasitoïdes puissent se maintenir sans se nourrir au stade adulte, comme c'est le cas au printemps dans les vergers d'amandiers californiens (Heimpel et al. 1998, Heimpel & Jervis 2005).

Dans de nombreux cas, la diversification des cultures permet d'apporter des sources de nourriture au sein de la parcelle – notamment du nectar floral ou extrafloral (Landis et al. 2000, Jones et al. 2017). Dans cette configuration, les parasitoïdes ont accès au nectar sans avoir à sortir de la parcelle. Cet apport de nectar devrait permettre à la fois de rendre la nourriture plus disponible et de réduire le temps de déplacement entre les différentes ressources. On peut donc s'attendre à une augmentation de la prise de nourriture par les parasitoïdes dans les cultures diversifiées. Des analyses *in silico* menées par Vollhardt et al. (2010a) ont en effet montré que cette diversification devrait augmenter leur taux de consommation de nourriture, du moins lorsque la quantité de miellat disponible est inférieure à un certain seuil – et ce y compris si des sources de nectar sont disponibles à l'extérieur de la parcelle. Ces prédictions ont été confirmées expérimentalement par Tena et al. (2015) qui ont montré que la prise de nourriture augmentait dans des agroécosystèmes complétés par des sources artificielles de sucre. Par ailleurs, les travaux de Vollhardt et al. (2010b) suggèrent que même lorsque le miellat est abondant, les parasitoïdes devraient exploiter préférentiellement le nectar, qui est généralement une ressource de meilleure qualité nutritionnelle que le miellat, comme indiqué plus haut (Wäckers 2001, 2005, Wäckers et al. 2008).

**La diversité de ressources dans la parcelle influence donc les patrons de consommation de nourriture par les parasitoïdes, par le biais de divers processus.** Dans les cultures peu diversifiées, la ressource nectar est souvent limitante, et les trajets entre les différentes ressources peuvent être longs, coûteux et risqués. La diversification de la parcelle par complémentation en nectar devrait permettre de réduire le temps de déplacement entre différentes ressources, d'augmenter le

taux individuel de consommation de nourriture (lorsque le miellat est limitant) et/ou d'augmenter la part du nectar dans le régime alimentaire des parasitoïdes (lorsque le miellat n'est pas limitant), qui est une ressource de meilleure qualité que le miellat – mais certains de ces processus demandent encore à être vérifiés expérimentalement. Ces différents mécanismes (auxquels s'ajoutent la réduction du risque de mortalité) ont des conséquences directes sur la fitness des parasitoïdes : en effet, plusieurs travaux ont pu montrer que la diversification *via* l'apport de sources de nectar (naturelles ou artificielles) permet d'augmenter la longévité et la fécondité des parasitoïdes en conditions naturelles (Winkler et al. 2006, Lee & Heimpel 2008, Vollhardt 2010a, Tena et al. 2015).

### 3.2.2 : Conséquences sur les populations de parasitoïdes et le contrôle biologique.

Les effets de la diversité de ressources sur les patrons d'exploitation des ressources pourraient avoir des conséquences sur de nombreux paramètres des populations de parasitoïdes et sur le parasitisme. D'une part, l'augmentation de la fitness des parasitoïdes devrait permettre d'augmenter le taux de croissance des populations. D'autre part, le relâchement de la limitation en nourriture devrait augmenter leur capacité de charge, *i.e.* la taille maximale que peuvent atteindre ces populations dans la parcelle. Par ailleurs, un habitat diversifié (présence simultanée de nourriture et d'hôtes) devrait être particulièrement attractif pour les parasitoïdes des environs (Desouhant et al. 2005). Enfin, la présence simultanée de ces deux ressources essentielles devrait augmenter la capacité de rétention de l'habitat pour les parasitoïdes – les insectes ayant accès à toutes les ressources nécessaires, ils n'auraient pas besoin d'aller les chercher à l'extérieur (Stapel et al. 1997). Ainsi, on peut s'attendre à ce que différents mécanismes non mutuellement exclusifs favorisent l'abondance des parasitoïdes et/ou les taux de parasitisme dans la parcelle (Heimpel & Jervis 2005, van Rijn & Sabelis 2005).

Plusieurs éléments permettent de supposer que la nourriture est un facteur limitant pour la croissance et le maintien des populations dans les milieux non diversifiés. En effet, les populations présentes dans les milieux pauvres en nourriture sont particulièrement faibles (Heimpel et al. 1998, Heimpel & Jervis 2005), et la faible concentration des parasitoïdes au centre des parcelles, en comparaison des bordures, laisse à penser que la nourriture n'y est pas facilement accessible (Tylianakis et al. 2004, Bianchi & Wäckers 2008). Par ailleurs, différentes études ont mis en évidence une augmentation de la densité des populations (Tena et al. 2015) et/ou du parasitisme (Winkler et al. 2006, Jamont et al. 2014, Tena et al. 2015) dans des champs complémentés en nourriture. Plusieurs de ces études ont permis d'isoler expérimentalement les mécanismes en jeu. Grâce à un dispositif d'exclusion, Winkler et al. (2006) ont pu montrer que les gains en fitness apportés par la présence de nourriture permettent d'augmenter le parasitisme d'un facteur 100. Tena et al. (2015) ont montré que la présence de sources de nourriture permet d'augmenter à la fois le taux de prise de nourriture et la densité des populations du parasitoïde *Aphytis melinus*, suggérant que la complémentation en nourriture permet d'augmenter la capacité de charge des populations (en rendant la nourriture moins limitante). En suivant individuellement des parasitoïdes dans des parcelles expérimentales, Jamont et al. (2014) ont montré que la rétention et l'attraction des parasitoïdes étaient plus élevées dans des patches contenant à la fois des hôtes et du nectar extrafloral que dans des patches contenant des hôtes seuls (ces patches recrutent davantage de parasitoïdes, et ceux-ci ont moins tendance à quitter le patch), menant à une augmentation du taux de parasitisme de près de 80%. Des effets similaires ont été observés par Stapel et al. (1997) en laboratoire.

Ainsi, par le biais de ces différents processus, la diversification de la parcelle par complémentation en nectar devrait permettre d'affecter positivement le contrôle biologique. Cette hypothèse semble corroborée par les résultats de la méta-analyse menée par Letourneau et al. (2011, Fig. 7C, page 36) – cependant, cette analyse ne dissocie pas les effets que la diversification a sur les parasitoïdes et sur les prédateurs, et révèle une grande variabilité dans les réponses des ennemis naturels. Par ailleurs, Heimpel & Jervis (2005) ont répertorié de nombreux cas dans lesquels la diversification de la culture ne mène pas à une augmentation du contrôle biologique (augmentation du parasitisme et/ou réduction de la densité en ravageurs). De plus, comme ils le soulignent, une augmentation du contrôle biologique ou une réduction des populations de ravageurs dans une parcelle diversifiée ne signifie pas que la complémentation en nectar en soit à l'origine. Heimpel (2019) suggère même que la présence de nourriture pourrait favoriser la dispersion des parasitoïdes hors de la parcelle, et non pas les retenir. En effet, il pourrait être adaptatif pour les parasitoïdes de quitter la parcelle après s'être nourris, par exemple pour éviter le superparasitisme ou l'augmentation du risque d'hyperparasitisme. Il est donc important d'identifier les processus liant la présence de nourriture, son exploitation par les parasitoïdes, et ses conséquences sur l'exploitation des hôtes pour pouvoir optimiser le contrôle biologique.

**En s'inspirant de l'hypothèse des ennemis de Root (1973), Heimpel & Jervis (2005) ont ainsi formulé l'hypothèse d'approvisionnement en nectar.** Cette hypothèse prédit que la complémentation en nourriture mène à l'augmentation du contrôle biologique des ravageurs. Elle prédit donc à la fois un mécanisme (l'augmentation de la prise de nectar par les parasitoïdes) et un résultat (l'augmentation du contrôle biologique). Afin de valider cette hypothèse, il est nécessaire de montrer que : a) la ressource en nourriture est limitante dans le système, b) l'apport de nectar dans le système est suivi d'une augmentation de la prise de nourriture par les parasitoïdes, c) l'augmentation de la prise de nourriture mène à une augmentation du taux de parasitisme, et d) il en résulte une réduction des populations de ravageurs. Jusqu'à présent, les différentes étapes de l'hypothèse d'approvisionnement en nectar n'ont été validées de manière complète que dans peu de systèmes (Tylianakis 2004, Olson & Wäckers 2007, Tena et al. 2015). De plus, si ces travaux ont pu montrer les bénéfices de la végétation de bordure (Tylianakis 2004, Olson & Wäckers 2007) ou de l'apport de sources artificielles de sucre (Tena et al. 2015), **cette hypothèse n'a jamais été validée dans le cas de cultures diversifiées, comme des cultures associées par exemple.**

### *3.3.3 : Mesurer l'activité alimentaire en conditions naturelles.*

Afin de déceler les patrons d'exploitation de nourriture par les parasitoïdes et d'évaluer leur influence sur les paramètres de leurs populations et leur activité de régulation des ravageurs, il est nécessaire de suivre et de quantifier la prise de différentes sources de nourriture de façon précise et fiable. Pour ce faire, plusieurs méthodologies ont été développées.

L'approche la plus intuitive est de se baser sur des observations directes : lorsqu'un parasitoïde est observé avec ses pièces buccales au contact d'une source de nourriture, comme une goutte de nectar, il peut être considéré comme exploitant cette source de nourriture. Par exemple, Jervis et al. (1993) ont utilisé cette approche pour évaluer la prise de nectar sur différentes familles de plantes. Cependant, cette approche est difficile à mettre en œuvre dans de nombreux cas. En effet, les parasitoïdes sont souvent de très petite taille, et l'observation *in situ* de la prise de nourriture peut être particulièrement difficile, voire quasiment impossible : parfois, la morphologie florale ne permet pas d'identifier un point de contact précis. Les gouttes de miellat, quant à elles, sont souvent invisibles

à l'œil nu (Jervis et al. 1992). Par ailleurs, en plus de leur petite taille, les parasitoïdes se dispersent de manière rapide et fréquente : de nombreuses heures d'observation sont nécessaires pour évaluer la prise de nourriture (Jervis et al. 1992), pour un résultat potentiellement peu fiable et représentatif. En pratique, bien que cette approche soit très utile pour identifier des sources potentielles de nourriture en conditions naturelles (Jervis et al. 1993), elle est très rarement utilisée pour effectuer une quantification précise de la consommation de nourriture.

Une alternative est donc d'inférer la prise de nourriture à partir de données indirectes, liées à l'histoire nutritive de l'insecte. Une approche particulièrement efficace consiste à marquer expérimentalement des plantes avec une substance qui sera transférée au parasitoïde lors de la consommation de nectar. Différentes substances peuvent être utilisées, comme le rubidium (Freeman-Long et al. 1998, Lavandero et al. 2005) ou les isotopes stables (Wanner et al. 2006b, Hood-Nowotny & Knols 2007, Jamont et al. 2014, Pollier et al. 2016). Cette méthode permet d'identifier les parasitoïdes s'étant nourris sur les plantes marquées et a notamment permis d'étudier la dispersion des insectes après la prise de nourriture (Lavandero et al. 2005, Jamont et al. 2014, Pollier et al. 2016). Elle présente l'avantage de permettre d'identifier des ressources précises (une plante ou un groupe de plantes particulier) sur lesquelles un parasitoïde s'est nourri. Cependant, seul un nombre limité de plantes peut être marqué : cette méthode ne peut donc être utilisée que sur une échelle spatiale restreinte. En effet, en conditions naturelles, il est très peu probable de retrouver un parasitoïde s'étant nourri sur un groupe de plante précis (Pollier et al. 2016). Ainsi, cette méthode ne peut généralement pas être utilisée pour évaluer les patrons complets d'exploitation de nourriture à l'échelle d'une population. Une alternative permettant de contourner ces problèmes pourrait être d'utiliser des isotopes naturels, qui marquent naturellement les ressources (Hood-Nowotny & Knols 2007), mais cette approche n'a encore jamais été développée dans le cas des insectes parasitoïdes.

Une dernière approche développée lors des deux dernières décennies consiste à utiliser les profils glucidiques des insectes afin d'inférer leur activité nutritive récente. En effet, la prise alimentaire par un insecte modifie la composition en sucres de son organisme (présence ou absence de différents sucres, quantités absolues et relatives) : un insecte qui s'est nourri récemment présente un profil glucidique très contrasté par rapport à un insecte émergent ou affamé (Jervis et al. 1992, Olson et al. 2000, Steppuhn & Wäckers 2004, Hogervorst et al. 2007a). De la même manière, un insecte se nourrissant de miellat n'acquiert pas les mêmes sucres dans les mêmes proportions, ce qui aboutit à un profil glucidique différent de celui d'un insecte se nourrissant de nectar (MacVicker et al. 1990, Wäckers et al. 2006, Hogervorst et al. 2007a). Grâce à ces variations, il est possible d'inférer l'histoire nutritive (*i. e.* le fait de s'être nourri récemment ou non) et la source de nourriture d'insectes capturés sur le terrain, à partir de leur profil glucidique. Plusieurs méthodes permettent d'obtenir ces profils glucidiques, qui varient selon leurs caractéristiques (Tableau 1) :

- Des méthodes colorimétriques à l'antrone, originellement développées chez les moustiques (van Handel 1972, 1985) et adaptées pour les parasitoïdes par Olson et al. (2000).
- Des méthodes colorimétriques enzymatiques (Phillips et al. 2018).
- Des méthodes par chromatographie (Jervis et al. 1992). En particulier, l'utilisation de la chromatographie liquide à haute performance (*HPLC*) a été particulièrement développée chez les parasitoïdes (Wäckers & Steppuhn 2003, Steppuhn & Wäckers 2004, Heimpel et al. 2004).

L'avantage de ces méthodes est qu'elles permettent à la fois d'identifier le statut alimentaire des individus, mais également d'estimer les patrons d'exploitation des populations. En effet, chaque parasitoïde capturé peut être assigné à un statut alimentaire (par exemple non-nourri, nourri de nectar, ou nourri de miellat), ce qui permet d'estimer la *prévalence* des différents statuts dans une population donnée (*i. e.* la proportion relative d'insectes nourris de nectar, nourris de miellat et non-

nourris). Ainsi, ces méthodes peuvent être utilisées pour estimer la fréquence relative d'utilisation de différentes ressources par une population de parasitoïdes dans des conditions données (Lee et al. 2006, Hogervorst et al. 2007a, Rand & Lundgren 2019), ou encore pour identifier si la nourriture est limitante dans un écosystème (Tena et al. 2013, 2015).

Dans le cadre de cette méthode, l'assignation des insectes capturés à un statut nutritif particulier demande de disposer d'informations de référence sur les relations entre les profils glucidiques et l'histoire nutritive et/ou la source de nourriture des insectes. Une approche générale consiste donc à évaluer les profils glucidiques d'insectes dont le statut nutritif est contrôlé en laboratoire, afin d'évaluer ces relations et de définir des règles d'inférence qui permettront de prédire le statut des insectes capturés sur le terrain (Steppuhn & Wäckers 2004, Hogervorst et al. 2007a, Desouhant et al. 2010). Ce type d'approche, consistant à utiliser des exemples annotés pour faire des prédictions sur de nouvelles données, est appelé *apprentissage supervisé*. La méthode couramment utilisée pour établir ces règles d'inférence consiste à établir des seuils de décision binaires le long de certaines variables particulièrement discriminantes (par exemple, si un insecte a une valeur supérieure au seuil pour une variable  $X$ , alors il est considéré comme nourri, et vice-versa). Plusieurs variables ont été identifiées dans la littérature, sur des bases à la fois biologiques et heuristiques : la quantité totale de sucre et le ratio glucose / fructose sont généralement considérés comme discriminant les insectes selon leur activité alimentaire récente (Wäckers & Steppuhn 2003, Steppuhn & Wäckers 2004), tandis que le ratio fructose / quantité totale de sucres (Lee et al. 2006) ou le ratio erlose / melezitose (Hogervorst et al. 2007a, Tena et al. 2013, 2015) sont généralement considérés comme indicateurs de la consommation de miellat ou de nectar.

Si les seuils de décision décrits ci-dessus permettent de discriminer la plupart des insectes en conditions contrôlées, ils souffrent cependant de certaines limites. En effet, il a été montré que l'usage de tels seuils dans d'autres contextes (notamment les analyses de marquage protéique ou isotopique) génère un nombre important de classifications erronées sur les individus de terrain, ainsi qu'une sous-estimation des taux d'erreur (notamment les taux de faux-positifs dans ces contextes ; Sivakoff et al. 2011, Pollier et al. 2016). Ces fausses prédictions peuvent être particulièrement problématiques lorsque le but de l'étude est d'estimer des prévalences (*i.e.* la distribution des insectes de terrain dans différentes classes) : en effet, des taux d'erreurs même faibles peuvent mener à une très mauvaise estimation de ces prévalences (Forman 2008). Malgré ces biais potentiels, les performances de la méthode de seuil n'ont jamais été évaluées. De plus, d'autres méthodes d'apprentissage supervisé plus performantes existent, mais ont rarement été exploitées dans ce contexte (Desouhant et al. 2010). En particulier, certaines méthodes d'apprentissage ont été mises au point spécifiquement pour résoudre des problèmes d'estimation de prévalence, et pas uniquement de classification individuelle (Forman 2008, González et al. 2017), mais n'ont que très rarement été appliquées dans des contextes écologiques (mais voir Beijbom et al. 2015). **Afin de faire les prédictions les plus robustes possibles, il semble donc important d'évaluer les performances de ces différentes méthodes dans le contexte de l'alimentation des parasitoïdes.**

Tableau 1 Différentes méthodes permettant d'évaluer le profil glucidique des insectes. Ces méthodes sont plus ou moins précises et permettent d'obtenir plus ou moins d'information (van Handel 1985, Phillips et al. 2018, Lee 2019).

| Méthode  | Sucres mesurables                   | Particularités   |
|--|-------------------------------------|--|
| Tests à l'anthrone                                 | Glucose, tréhalose, total en sucres | Peu coûteux, rapide, peu sensible                                    |
| Méthodes enzymatiques                              | Glucose, fructose, tréhalose        | Peu coûteux, plus rapide et plus sensible que les tests à l'anthrone |
| Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) | Autant que de standards disponibles | Sensible, plus coûteux que les autres méthodes, long (1h/individu)   |

### 3.2. Diversité et supplémentation de ressources (hôtes alternatifs)

La diversité végétale présente dans la parcelle conditionne également la diversité d'insectes phytophages qui y est présente. Ainsi, la diversification du champ est susceptible d'augmenter le nombre d'espèces d'hôtes disponibles pour les parasitoïdes. Cet apport de ressources supplémentaires est susceptible d'affecter la prise de ressources par les parasitoïdes, avec des répercussions sur le contrôle biologique (Root 1973, Landis et al. 2000, Heimpel & Mills 2017b). En particulier, un processus par lequel l'augmentation de la diversité d'hôtes pourrait augmenter le contrôle biologique d'un hôte cible est celui de la *compétition apparente* (Holt 1977) : la présence d'un ou plusieurs hôtes alternatifs permettrait d'augmenter la densité des populations de parasitoïdes, et donc d'augmenter la pression de parasitisme sur l'hôte cible (Kaser & Ode 2016, Raymond et al. 2016, Heimpel & Mills 2017b). L'émergence ou non de ce processus dépend d'un certain nombre de facteurs.

D'une part, la diversification peut mener à la présence simultanée de différents hôtes potentiels pour un parasitoïde dans le champ. Dans ce cas, les patrons d'exploitation de chaque hôte devraient dépendre de différents facteurs, comme la préférence du parasitoïde pour chaque hôte, leur abondance relative ou la capacité du parasitoïde à changer d'hôte (van Baalen et al. 2001, Ishii & Shimada 2012), mais également de conditions abiotiques (Andrade et al. 2013). En utilisant une approche par modélisation, Kaser & Heimpel (2015) ont exploré l'implication de certains de ces paramètres sur l'exploitation de deux hôtes par un parasitoïde. Dans de nombreux cas, l'apport d'un hôte alternatif peut faire émerger une relation de compétition apparente, qui se traduit par une augmentation du contrôle biologique. En revanche, si le parasitoïde a un degré de préférence trop élevé pour l'hôte alternatif, ou si ce dernier est trop résistant au parasitoïde, cela peut mener à une réduction du contrôle biologique sur l'hôte principal. De manière générale, les conséquences de l'introduction d'un hôte alternatif sur l'exploitation de l'hôte principal dépendent du fait qu'il fasse office de source ou de puits pour les populations de parasitoïdes (Heimpel & Mills 2017b). Saeed et al. (2015) ont montré que la provision d'hôtes alternatifs à proximité de la parcelle peut en effet servir de source pour les parasitoïdes.

Par ailleurs, selon son niveau de diversité, la parcelle peut abriter des hôtes ayant des phénologies différentes. Dans les parcelles ne contenant qu'une seule espèce d'hôte, les parasitoïdes ne peuvent pas se reproduire avant l'arrivée de l'hôte. Ils sont donc recrutés depuis l'extérieur au moment où l'hôte arrive dans la parcelle, et on observe souvent un délai avant que le parasitisme ait lieu (Neuville et al. 2016). La diversification de la parcelle peut permettre d'apporter des hôtes alternatifs dans le champ avant l'arrivée de l'hôte principal. Ainsi, on peut s'attendre à ce que cet hôte alternatif attire les parasitoïdes de manière plus précoce dans la parcelle. Les populations de ces derniers seront donc déjà élevées lors de l'arrivée de l'hôte principal : leur régulation par les parasitoïdes devrait être plus importante (l'hôte alternatif agirait ainsi comme source). Ces hypothèses ont été explorées de façon théorique et expérimentale par Godfray et al. (1994) et van Nouhuys & Lei (2004). Ils ont effectivement pu démontrer la possibilité de ce phénomène de « relais » : une population d'hôte précoce peut augmenter la taille des populations de parasitoïdes, ce qui entraîne un taux de parasitisme plus élevé sur une population d'hôte plus tardive. L'émergence ou non de ce phénomène, ainsi que son amplitude, dépendent du degré de synchronisation entre les trois populations.

Si plusieurs auteurs ont étudié l'influence de la diversité en hôtes sur leur exploitation par les parasitoïdes (notamment par rapport à son implication sur le contrôle biologique), les études existantes ont surtout été réalisées à des échelles plus grandes que celle de la parcelle. Notamment, ces études se sont intéressées aux espaces semi-naturels entourant la parcelle comme réservoirs potentiels d'hôtes alternatifs (Murphy et al. 1998, Alhmedi et al. 2011, Raymond et al. 2016, Heimpel

& Mills 2017b). De façon générale, les résultats montrent que le potentiel de ces « réservoirs » par rapport au contrôle biologique fourni par les parasitoïdes est assez réduit, alors qu'il paraît plus intéressant pour les prédateurs plus généralistes (Alhmedi et al. 2011, Raymond et al. 2016). Cependant, des cas particuliers intéressants existent. Un exemple classique est celui du parasitoïde *Anagrus erythroneurae*, qui parasite la cicadelle *Erythroneura elegantula*, un ravageur des vignes d'Amérique du Nord. Le parasitoïde doit passer l'hiver à l'intérieur d'un œuf d'hôte, mais *E. elegantula* passe l'hiver au stade adulte. La plantation de pruniers au voisinage des vignes permet d'apporter d'autres espèces d'hôtes, sur lesquelles le parasitoïde *Anagrus erythroneurae* peut passer l'hiver. Cet apport d'hôtes alternatifs se traduit par une augmentation du contrôle biologique de *E. elegantula* (Murphy et al. 1998). En revanche, l'influence de la présence d'hôtes alternatifs à l'échelle de la parcelle sur le contrôle biologique n'a que rarement été évaluée, et a jusqu'à présent montré des résultats limités (Shameer et al. 2018).

#### 4. Le modèle des associations de culture céréale-légumineuse

En pratique, il existe une grande variété d'agroécosystèmes, proposant différents degrés de biodiversité au niveau de la parcelle. Ces écosystèmes ont été façonnés par l'évolution des pratiques agronomiques au fil des siècles. En particulier, les associations de cultures, qui consistent à cultiver simultanément plusieurs cultures, ont une longue histoire. Leur usage remonte probablement à l'invention de l'agriculture (Plucknett & Smith 1986), et elles ont été adoptées par un grand nombre de civilisations à travers l'Histoire (Turner & Mikisicek 1986, Francis 1986, Anders et al. 1995). Le succès de cette pratique repose notamment sur le fait qu'elle procure de nombreux avantages agronomiques : augmentation de la production, stabilisation du rendement, meilleure fertilisation, augmentation du contrôle biologique (Vandermeer 1989, Malézieux et al. 2009, Mousavi & Eskandari 2011, Bedoussac et al. 2015). Grâce à ces avantages, une grande diversité d'associations de cultures a vu le jour, impliquant tous types de cultures (cultures légumières, céréalières, agroforesterie, etc.) (Malézieux et al. 2009). Si les pratiques consistant à associer des cultures sont encore très utilisées dans les pays en voie de développement, elles ont fortement régressé dans les pays occidentaux du fait de l'intensification de l'agriculture (mécanisation des actions culturales, standardisation et industrialisation des récoltes...) qui a favorisé la monoculture (Vandermeer 1989, Anders et al. 1995, Malézieux et al. 2009). Cependant, elles regagnent actuellement de l'intérêt grâce aux avantages agroécologiques qu'elles procurent, dans un contexte de réduction des intrants (Vandermeer et al. 1998, Altieri 1999, Malézieux et al. 2009). En particulier, un grand nombre d'associations incluent une légumineuse, qui permet un apport important d'azote dans l'agroécosystème (Vandermeer 1989). Les associations céréale-légumineuse, notamment, cumulent de nombreux intérêts agroécologiques (Jensen 1996, Haugaard-Nielsen & Jensen 2001, Bedoussac et al. 2015).

En Europe, les associations de culture légumineuse-céréale constituent un des systèmes les plus courants d'associations de cultures, et bénéficient actuellement d'un regain d'intérêt notamment en agriculture biologique (Malézieux et al. 2009, Bedoussac et al. 2015, Yu et al. 2015). Il est possible de trouver des cultures pures de légumineuses et de céréales et des cultures associées dans les mêmes régions biogéographiques, ce qui permet d'étudier des systèmes similaires variant uniquement dans leur niveau de diversité. Ces systèmes varient dans les ressources qu'ils proposent pour les parasitoïdes. Notamment, les céréales ne produisent pas de nectar, alors que c'est le cas de certaines légumineuses comme la féverole (Mondor & Addicott 2003) : l'inclusion de féverole dans un champ de céréale permet donc d'augmenter la complémentarité des ressources dans le système. Par ailleurs, les deux cultures (céréale et légumineuse) contiennent une diversité d'insectes phytophages différents,



spécialisés sur leur plante hôte respective : l'association des deux cultures permet donc d'augmenter la diversité d'hôtes potentiels pour les parasitoïdes (supplémentation de ressources) – et ce sans pour autant augmenter la diversité des phytophages ravageurs de chacune des plantes. Ainsi, ces systèmes (cultures pures de céréales et de légumineuses et cultures associées céréales-légumineuses) constituent un modèle de choix pour étudier l'effet de la diversité de ressources sur ces insectes.

Par ailleurs, la production de légumineuses a fortement baissé en France au cours des dernières décennies (Agreste 2019), à cause notamment de l'importante variabilité de ses rendements et de la baisse des coûts de l'importation de soja américain (Häusling 2011). Les politiques Européennes visent actuellement à relancer la production de protéagineux, des légumineuses dont la féverole fait partie, afin de favoriser l'autonomie protéique des élevages et de réduire l'importation de soja (Häusling 2011, de Visser et al. 2014). En plus de ces raisons économiques, ces politiques portent des enjeux environnementaux, les cultures intensives américaines de soja étant une cause importante de déforestation (Elgert 2013). Dans le Grand Ouest de la France, en particulier, le projet PROGRALIVE vise à augmenter et sécuriser la production de protéagineux (comme la féverole), grâce au développement des associations de cultures. Comprendre les causes de l'irrégularité des rendements des légumineuses, et proposer des solutions pour sécuriser ces rendements, constituent donc des enjeux socio-économiques particulièrement importants. La pression en ravageurs pourrait être un des principaux phénomènes pour expliquer cette variabilité (Bedoussac et al. 2015). Grâce aux processus écologiques qu'elle favorise, l'augmentation de la diversité dans ces cultures pourrait permettre d'augmenter le contrôle biologique, et par conséquent participer à la sécurisation de leur rendement.

#### 4.1. Les intérêts agroécologiques des associations céréale-légumineuse

Les associations céréale-légumineuse apportent un certain nombre d'avantages agronomiques, qui reposent sur les mécanismes d'interaction entre les deux plantes. Un de leurs intérêts principaux est la complémentarité de niche qui a lieu entre la féverole et la céréale par rapport à la nutrition azotée (Jensen 1996, Bedoussac et al. 2015). En effet, les légumineuses sont capables d'assimiler l'azote atmosphérique, laissant l'azote minéral présent dans le sol à disposition de la céréale (Corre-Hellou et al. 2006). En plus de cette complémentarité, il existe également des relations de facilitation entre les deux plantes. En particulier, la légumineuse est capable de rhizodéposition : elle redépose dans la rhizosphère une partie de l'azote absorbé dans l'atmosphère, qui est ensuite disponible pour la céréale (ainsi que pour les cultures suivantes dans la rotation) (Fustec et al. 2010). A l'inverse, la céréale peut être bénéfique à la croissance de la légumineuse en lui servant de support et en augmentant sa résistance à la verse (notamment dans le cas du pois) (Kontturi et al. 2011). Il existe également des relations de facilitation et de complémentarité liées à l'obtention d'autres ressources que l'azote, comme le phosphore et le carbone (Hinsinger et al. 2011, Tang et al. 2014). Ainsi, les interactions entre les deux plantes (complémentarité et facilitation) sont globalement bénéfiques pour leur croissance et leur utilisation des ressources. Il existe toutefois des relations de compétition entre les deux plantes, notamment pour la lumière (Haugaard-Nielsen et al. 2006, Bedoussac et al. 2015), mais également pour l'azote minéral à certains stades de croissance de la légumineuse (Haugaard-Nielsen et al. 2001a, Corre-Hellou et al. 2006).

Ces mécanismes écologiques d'interaction permettent aux associations céréale-légumineuse de fournir plusieurs services écosystémiques. D'une part, la complémentarité entre les deux plantes, ainsi que le processus de rhizodéposition assurent un service de fertilisation : ils permettent une

meilleure utilisation des ressources disponibles, notamment lorsque les apports externes en azote sont limités (Haugaard-Nielsen et al. 2001b, Bedoussac et al. 2015). La complémentarité de niche entre les deux plantes permet également d'augmenter la pression de compétition pour les adventices, en réduisant les ressources disponibles pour ces dernières (Bedoussac et al. 2015) : les cultures associées fournissent donc également un service de régulation. Enfin, les relations de complémentarité et de facilitation fournissent un service de production, en augmentant la biomasse et la croissance des plantes et en influençant leur composition en nutriments.

Ces services écosystémiques ont une influence directe sur les variables agronomiques liées au rendement et à la qualité nutritionnelle des plantes. Bedoussac et al. (2015) ont quantifié plusieurs de ces paramètres dans une méta-analyse portant sur une soixantaine d'études, réalisées en Europe entre 2001 et 2009. Ils ont notamment pu montrer que le rendement des cultures associées augmentait d'un facteur 1.3 par rapport aux cultures pures (en considérant la moyenne des rendements des deux cultures – mais ils ont également montré que le rendement de chaque culture peut augmenter indépendamment grâce à l'association). Ils ont également calculé un *land equivalent ratio* de 1.27, correspondant à la surface nécessaire pour obtenir avec des cultures pures le rendement obtenu grâce à l'association des cultures (autrement dit, il faut une surface 1.27 fois plus grande pour obtenir le même rendement en culture pure qu'en culture associée). Enfin, ils ont noté une augmentation de la teneur en protéine des graines de céréale de 1% dans les associations de culture, considérée comme une augmentation qualitative. Par ailleurs, l'association des cultures ne permet pas seulement une augmentation des rendements moyens, mais également une réduction de leur variance. Dans une autre méta-analyse, Raseduzzaman et Jensen (2017) ont effectivement montré que l'association des cultures de céréales et de légumineuses permet une meilleure stabilité du rendement, à la fois dans l'espace et dans le temps, en particulier pour la légumineuse.

**Les associations céréale-légumineuse constituent donc des systèmes à la fois productifs (augmentation du rendement) et résilients (stabilisation du rendement). Ces bénéfices sont particulièrement notables lorsque les apports en intrant sont faibles (Bedoussac et al. 2015, Raseduzzaman et Jensen 2017), grâce à la complémentarité de niche, au transfert d'azote permis par la légumineuse et à l'augmentation de la pression de compétition sur les adventices. Ainsi, ces cultures permettent une réduction de l'utilisation d'intrants tout en permettant d'obtenir des rendements élevés et stables : elles sont donc particulièrement indiquées dans un contexte de transition agroécologique (Bommarco et al. 2013). Les bénéfices agronomiques de ces associations dépendent de services écosystémiques qui sont permis grâce à la diversification de la parcelle. En revanche, le potentiel de cette diversification sur la régulation des insectes phytophages, ainsi que les processus sous-jacents, n'ont que très peu été évalués (Helenius 1990a, b, Xu et al. 2018a, b).**

#### 4.2. Les parasitoïdes et leurs ressources dans les systèmes céréale et légumineuse

Les cultures de céréale et de légumineuse hébergent une communauté importante d'insectes phytophages, qui peuvent y exercer une pression importante. Sur légumineuse, les principaux ravageurs sont les pucerons, notamment les pucerons du genre *Aphis* (*A. craccivora* et *A. fabae*) et le puceron du pois *Acyrtosiphon pisum*, ainsi que les sitones du genre *Sitona*, notamment *S. lineatus* (Vankosky et al. 2009, Stoddard et al. 2010, Terres Inovia 2019). Les bruches sont également un important ravageur des légumineuses, qui s'attaque aux graines (Terres Inovia 2019). Sur céréales, on compte également différents pucerons parmi les principaux ravageurs (*Sitobion avenae*, *Metopolophium dirhodum*, *Rhopalosiphum padi*) (Kamran et al. 2013, Encyclop'aphid, Hullé et al.

2019), ainsi que d'autres insectes comme les Cecidomyiidae (cécidomyies) (Kamran et al. 2013). Ces différents phytophages sont régulés par des vertébrés (notamment des oiseaux) et des arthropodes : araignées, punaises, syrphes, chrysopes, coccinelles et hyménoptères parasitoïdes (Heimpel & Mills 2017a). Ces derniers peuvent exercer une forte activité de régulation des ravageurs dans ces systèmes (Heimpel & Mills 2017a). Si tous les ravageurs précités peuvent être parasités par des parasitoïdes, la majorité des parasitoïdes présents dans ces cultures sont des parasitoïdes de pucerons. Toutes les espèces de pucerons présentes dans les cultures de légumineuse et de céréale sont attaquées par différentes espèces de parasitoïdes. Cependant, il semble que les événements de parasitisme sur les pucerons du genre *Aphis* soient rares pendant la majorité de leur période de présence dans les cultures (Vökl & Stechmann 1998).

Il existe en France une dizaine de genres de parasitoïdes des pucerons des céréales et des légumineuses, qui sont tous des hyménoptères et font partie des familles des Braconidae (plus particulièrement de la sous-famille des Aphidiinae) et des Aphelinidae (Encyclop'aphid, Hullé et al. 2019). Les espèces les plus fréquemment rencontrées font partie du genre *Aphidius* (Braconidae) (Rabasse et al. 1983, Encyclop'aphid, Hullé et al. 2019). Ces différentes espèces sont capables de parasiter un nombre plus ou moins élevé de pucerons (Tableau 2). Le fait qu'une espèce puisse se développer dans plusieurs hôtes peut suggérer un statut de généraliste ; mais elle peut également impliquer que ces espèces soient composées de plusieurs populations génétiquement différentes, localement adaptées à leur hôte (Raymond et al. 2016). En effet, il est fréquent que des parasitoïdes supposés « généralistes » soient en fait un ensemble d'espèces cryptiques (Smith et al. 2008). Des résultats récents, basés sur des analyses phylogénétiques d'Aphidiinae échantillonnés dans des hôtes différents, semblent indiquer qu'*Aphidius ervi* serait le seul « vrai » *Aphidius* généraliste, les autres espèces du genre étant en fait génétiquement structurées en fonction de leur hôte (Derocles et al. 2016). *Aphidius ervi* est capable de parasiter les principaux pucerons présents sur céréale et féverole, à l'exception des pucerons du genre *Aphis* (Tableau 2, Fig. 8). Ce parasitoïde est donc celui qui est le plus susceptible d'être affecté par la variation de la diversité en hôtes.

Tableau 2 Principaux pucerons et parasitoïdes du genre *Aphidius* trouvés dans les cultures de féverole et de céréale. Les croix indiquent quels pucerons sont parasités par quels parasitoïdes. Si les pucerons du genre *Aphis* peuvent être parasités par *A. colemani* et *A. matricariae*, on observe très peu d'événements de parasitisme sur le terrain (Vökl & Stechmann 1998). \**Aphis* sp. comprend les espèces *Aphis fabae* et *Aphis craccivora*.

|          |                          | Puceron                   |                   |                        |                               |                           |
|----------|--------------------------|---------------------------|-------------------|------------------------|-------------------------------|---------------------------|
|          |                          | Féverole                  |                   | Céréale                |                               |                           |
|          |                          | <i>Acyrtosiphon pisum</i> | <i>Aphis</i> sp.* | <i>Sitobion avenae</i> | <i>Metopolophium dirhodum</i> | <i>Rhopalosiphum padi</i> |
| Aphidius | <i>A. avenae</i>         | X                         |                   | X                      | X                             | X                         |
|          | <i>A. colemani</i>       |                           | X                 |                        |                               | X                         |
|          | <i>A. eadyi</i>          | X                         |                   |                        |                               |                           |
|          | <i>A. ervi</i>           | X                         |                   | X                      | X                             | X                         |
|          | <i>A. matricariae</i>    |                           | X                 | X                      |                               | X                         |
|          | <i>A. rhopalosiphii</i>  |                           |                   | X                      | X                             | X                         |
|          | <i>A. uzbekistanicus</i> |                           |                   | X                      | X                             |                           |

Les cultures de légumineuse et de céréale diffèrent selon les ressources en nourriture qu'elles proposent pour les parasitoïdes. Premièrement, les céréales ne produisent pas de nectar, alors que les légumineuses ont cette capacité. En particulier, la féverole produit du nectar extrafloral, grâce à des organes spécialisés appelés nectaires, situés sur les stipules de la plante (Mondor & Addicott 2003, Fig. 8). Jamont et al. (2014) ont montré qu'un Aphidiinae (*Diaeretiella rapae*) se nourrit activement de ce

nectar en conditions semi-naturelles (Jamont et al. 2014). La féverole a la particularité de produire ce nectar extrafloral très précocement dans son cycle de vie, bien avant la floraison (Lu et al. 2014). Elle permet donc la présence de nectar pendant toute la période où les parasitoïdes sont présents dans la parcelle, qui pourraient même y être attirés avant la présence des pucerons (Jones et al. 2017). Par ailleurs, d'autres légumineuses fournissent du nectar extrafloral accessible aux parasitoïdes, comme la vesce commune *Vicia sativa* (Géneau et al. 2012). Si la céréale et la légumineuse diffèrent dans leur capacité à produire du nectar, elles hébergent toutes deux des pucerons, qui peuvent tous produire du miellat. Les *Aphidius* sont connus pour se nourrir activement du miellat de ces pucerons : dans les cultures de céréale pure, il semble s'agir de leur principale source de nourriture, mais il pourrait être limitant (Hogervorst et al. 2007a). Les miellats des différents pucerons des céréales diffèrent à la fois par leur composition en sucres et leur effet sur les traits d'histoire de vie des *Aphidius* (Hogervorst et al. 2007b). Sur légumineuse, les pucerons du genre *Aphis* et *A. pisum* sécrètent également du miellat qui peut être consommé par les parasitoïdes, au moins en conditions expérimentales (England & Evans 1997, Rasekh et al. 2010).

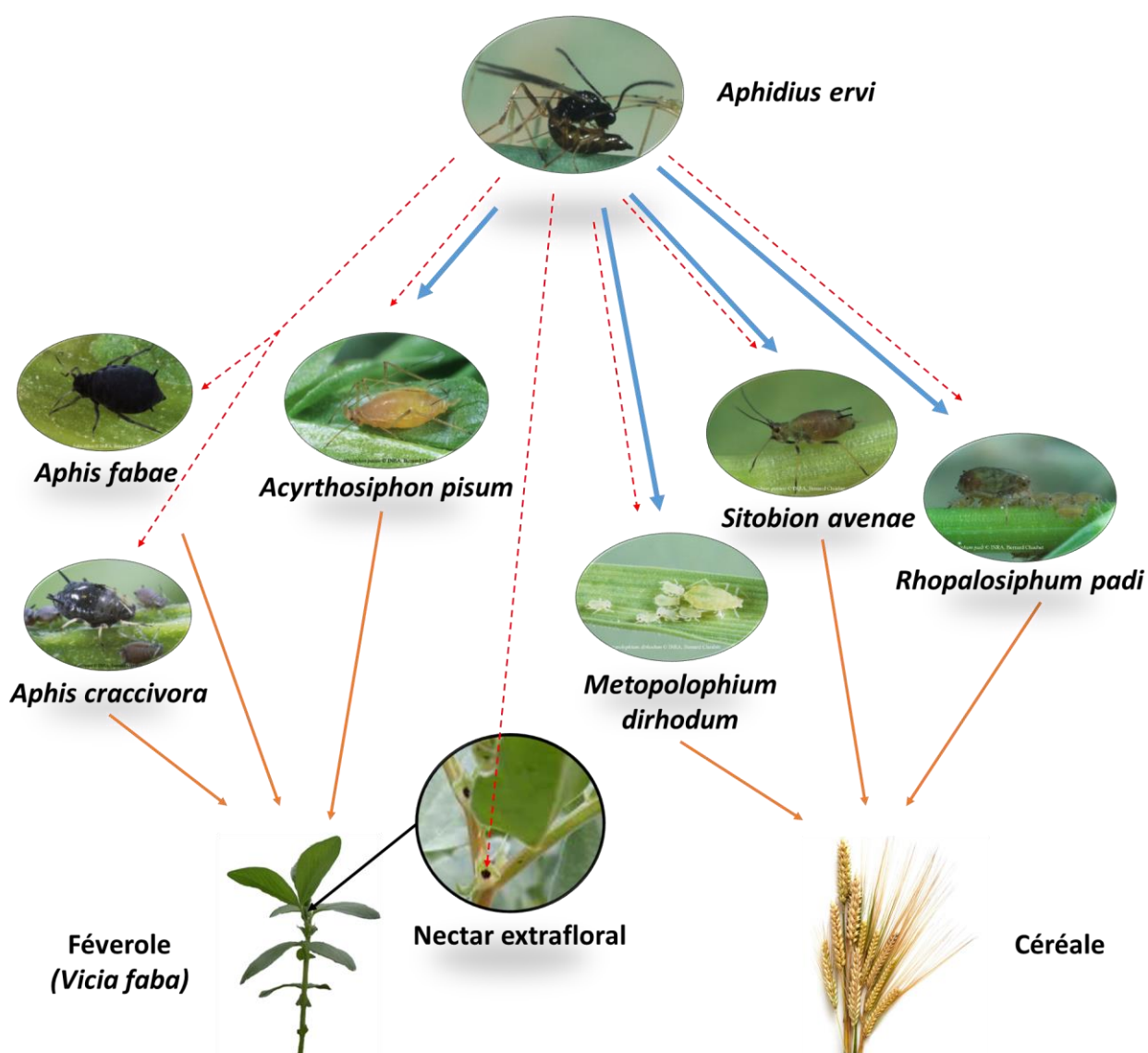


Figure 8 Les parasitoïdes *Aphidius* (ici, *Aphidius ervi*) et leurs ressources dans les systèmes féverole et céréale. Les flèches en bleu représentent les relations parasitoïde-hôte. Les flèches pointillées en rouge indiquent les sources de nourriture consommées par les parasitoïdes (nectar ou miellat). Les flèches en orange représentent les relations phytophage-plante. Photos de pucerons et parasitoïdes par Bernard Chaubet, INRA.

**Les systèmes de cultures pures de légumineuse et de céréale et de cultures associées légumineuse-céréale constituent donc trois habitats présentant différents niveaux de diversité en ressources, variant à la fois dans leur diversité d'hôtes et de sources de nourriture** – en particulier lorsque la légumineuse produit du nectar extrafloral, ce qui est le cas de la féverole – (Fig. 9). Etant donné l'effet positif de l'association des deux cultures sur la diversité en ressources disponibles, on peut donc s'attendre à ce que cette association affecte la prise de ressource par les parasitoïdes, et donc le contrôle biologique. Par rapport à la céréale pure, l'association des deux cultures permet l'augmentation de la diversité d'hôtes disponibles pour les parasitoïdes du genre *Aphidius* (grâce à la présence du puceron *A. pisum*), mais elle permet également l'apport d'une nouvelle source de nourriture dans le système, sous forme de nectar extrafloral (Fig. 8, 9), pendant toute la période de présence des parasitoïdes et en grande quantité (Lu et al. 2014, Jones et al. 2017) – bien que la production de nectar par la féverole en champ et les déterminants de sa variabilité restent à explorer. Grâce à cet apport important de sources de nectar, l'association céréale-féverole est donc un système intéressant pour tester l'hypothèse d'approvisionnement en nectar en culture diversifiée. En vertu de cette hypothèse, on s'attend notamment à une augmentation de la prise de nectar par les *Aphidius* en culture associée, potentiellement suivie d'une régulation accrue des pucerons des céréales. Par rapport à la féverole pure, l'association avec une céréale permet une augmentation de la diversité en hôtes disponibles, grâce à l'apport des pucerons *S. avenae*, *M. dirhodum* et *R. padi* (Fig. 8, 9). Ces pucerons (en particulier *S. avenae*) font des colonies généralement bien plus denses que les colonies de *A. pisum*. Ainsi, la présence de ces pucerons plus abondants dans le système pourrait entraîner une augmentation de la taille des populations de parasitoïdes, qui se traduirait par une augmentation de la compétition apparente pour *A. pisum* – et donc, un contrôle biologique plus important pour ce puceron également.

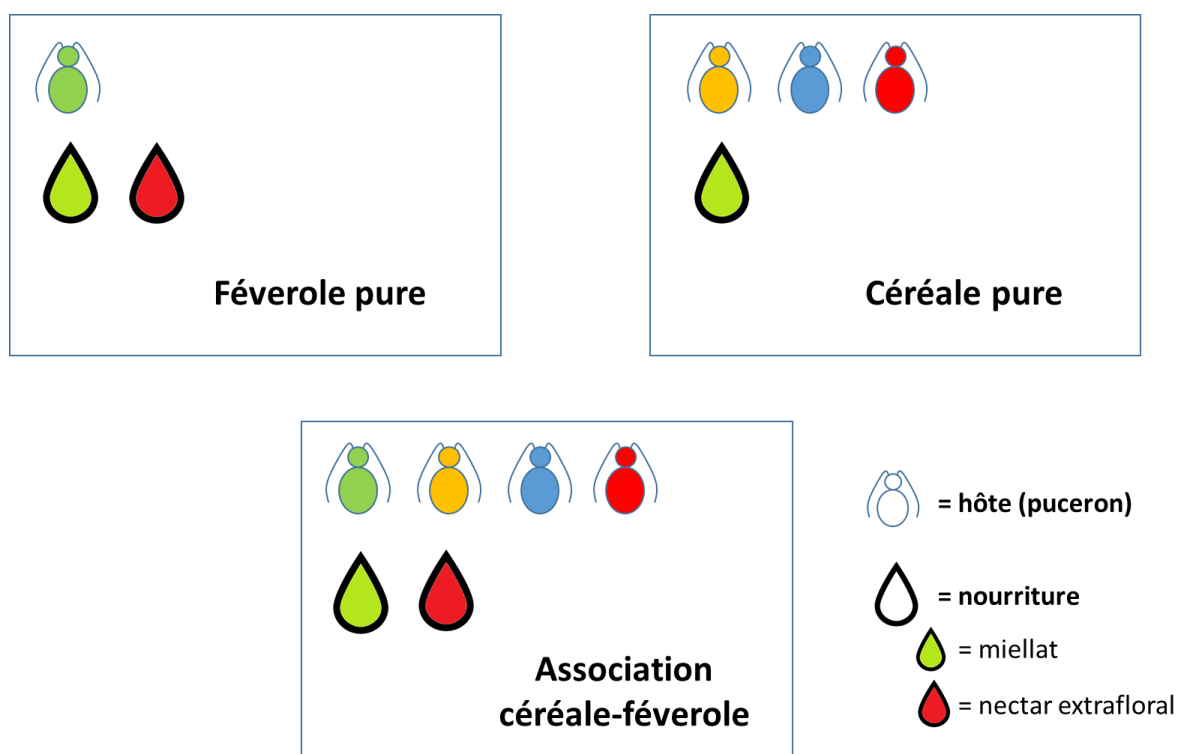


Figure 9 Niveau de diversité de ressources disponibles pour les *Aphidius*, dans les systèmes étudiés. Dans les cultures de féverole pure, on trouve une espèce d'hôte (*Acyrtosiphon pisum*) et deux sources de nourriture (miellat et nectar extrafloral). Dans les cultures de céréale pure, on trouve trois espèces d'hôte (*Sitobion avenae*, *Metopolophium dirhodum* et *Rhopalosiphum padi*) mais le miellat est la seule source de nourriture disponible. Dans les associations céréale-féverole, toutes ces ressources sont conjointement présentes : le niveau de diversité s'élève donc à quatre espèces d'hôte et deux sources de nourriture.

# CHAPITRE 1

---

## Influence de l'expérience précoce sur le processus de sélection d'hôte chez *Aphidius ervi*



Femelle *Aphidius ervi* attaquant le puceron *Acyrtosiphon pisum*. Photo de Bernard Chaubet, ©.



## CHAPITRE 1

### Influence de l’expérience précoce sur le processus de sélection d’hôte chez *Aphidius ervi*

#### Contexte

L’apprentissage précoce des stimuli olfactifs associés au complexe plante-hôte (CPH) d’origine est un processus présent chez de nombreuses espèces de parasitoïdes (Giunti et al. 2015). Chez *Aphidius ervi*, cet apprentissage se fait en deux étapes : juste avant la nymphose, au moment où la larve creuse une ouverture ventrale dans la momie (Gutiérrez-Ibañez et al. 2007, Takemoto et al. 2011, Fig. 1), ainsi qu’à l’émergence (Takemoto et al. 2012). Il a été montré que cet apprentissage précoce permet au parasitoïde de reconnaître son CPH d’origine (Takemoto et al. 2009), mais également qu’il conditionne ses préférences parmi plusieurs CPH. En effet, Daza-Bustamante et al. (2002) ont montré qu’une femelle *A. ervi* s’étant développée sur le complexe féverole – *Acyrtosiphon pisum* est plus attirée par ce CPH une fois adulte que par le complexe blé – *Sitobion avenae*, et inversement.

Dans de récents travaux, Ballesteros et al. (2017) ont montré que cette plasticité comportementale en fonction du CPH d’origine est corrélée à l’expression différentielle de gènes codant pour des protéines impliquées dans la détection des odeurs au niveau du système périphérique (*odorant binding proteins* et *olfactory receptor proteins*). Le parasitoïde serait donc plus sensible, au niveau antennaire, à des composés émis par son CPH d’origine. **Cependant, l’effet du CPH d’origine sur la détection antennaire de stimuli olfactifs émis par des CPH différents n’a jamais été testé.**

Il est généralement prédit que ce processus d’apprentissage précoce, en conditionnant les préférences olfactives du parasitoïde, devrait mener à un phénomène de fidélité à l’hôte : la femelle préférerait pondre dans son hôte d’origine plutôt que dans un hôte alternatif (Davis et al. 2004, Henry et al. 2006, 2008). **Cependant, l’influence de l’induction précoce des préférences olfactives sur le processus de sélection d’hôte a rarement été évaluée.**

Enfin, dans un environnement diversifié, le processus d’apprentissage pourrait être modulé par la complexité olfactive de l’environnement : van Emden et al. (2002) ont montré que lorsque des odeurs étrangères au CPH sont présentes pendant son processus d’apprentissage, le parasitoïde *Aphidius rhopalosiphi* a tendance à être plus attiré par les odeurs du CPH en présence de ces odeurs une fois adulte. **Cependant, l’influence de la présence d’un CPH alternatif pendant le développement d’une femelle parasitoïde sur ses préférences olfactives parmi plusieurs CPHs et ses décisions d’oviposition est à ce jour inconnue.**

#### Démarche

Dans ce chapitre, nous avons testé les trois hypothèses suivantes : a) les différences comportementales liées au CPH d’origine chez *Aphidius ervi* sont associées à une sensibilité antennaire différente à des composés émis par chacun de ces CPH, b) l’induction des préférences olfactives incite les femelles parasitoïdes à pondre dans leur hôte d’origine (fidélité à l’hôte), et c) la présence d’un CPH alternatif pendant le développement des femelles modifie leurs préférences olfactives et leurs décisions d’oviposition.



Nous avons obtenu quatre modalités de développement de femelles *A. ervi* à partir de nos élevages de laboratoire: des femelles élevées sur le CPH féverole – *Acyrtosiphon pisum* (*ApF*) ou le CPH orge – *Sitobion avenae* (*SaO*), dans un environnement olfactif « simple » (pas d’odeurs de CPH alternatif présentes pendant le développement) ou « complexe » (odeurs du CPH alternatif présentes pendant le développement). Nous avons ensuite réalisé les expériences suivantes :

- Les préférences olfactives de chaque modalité de développement ont été évaluées grâce à des expériences d’olfactométrie. Les femelles ont été placées en présence des odeurs émises par les deux CPH *ApF* et *SaO* dans des olfactomètres 4-voies, et leurs réponses comportementales (temps passé dans les branches contenant chaque odeur) ont été évaluées et comparées.
- La sensibilité antennaire de femelles s’étant développé sur chaque CPH (dans un environnement simple uniquement) a des composés associés à chaque CPH a été évaluée dans des expériences d’électroantennographie (EAG).
- Pour évaluer les conséquences de l’expérience précoce sur la sélection d’hôte, les femelles ont été placées dans un dispositif de choix contenant les deux CPH *ApF* et *SaO*. Leur premier choix, leur temps passé à faire un choix et le nombre de tentatives d’oviposition sur chaque puceron ont été mesurés et comparés en fonction des modalités.

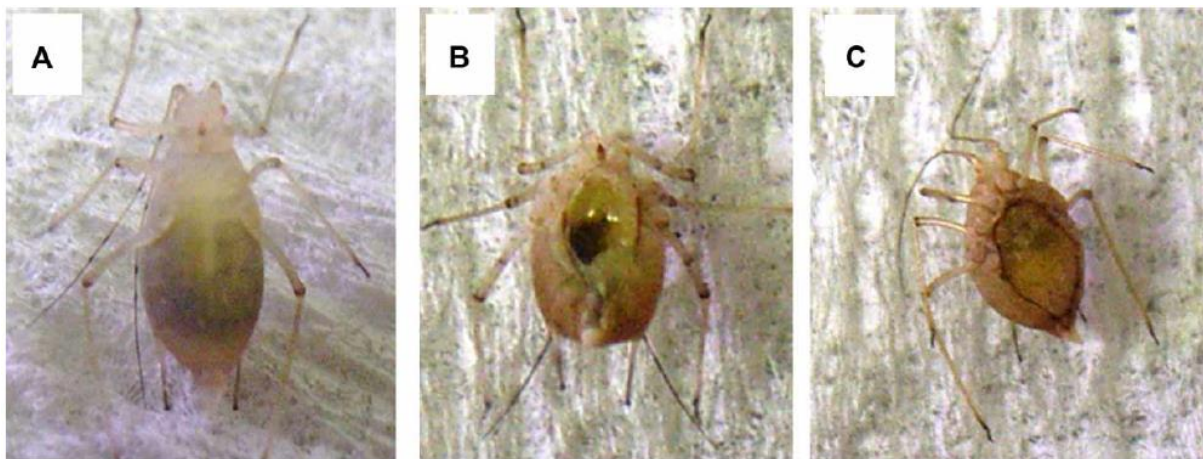


Figure 1 Momie d'*Aphidius ervi* parasitant le puceron *Acyrtosiphon pisum*, à différents stades de développement du parasitoïde (jours 9 à 11 après oviposition). **A** Jour 9 : peu après la mort du puceron. **B** Jour 10 : Ouverture ventrale dans l'exosquelette du puceron, la larve d'*A. ervi* est alors au troisième stade larvaire (Gutiérrez-Ibañez et al. 2007). **C** Jour 11 : l'ouverture ventrale est rebouchée par de la soie produite au cours de la nymphose du parasitoïde. Celui-ci termine alors son développement, avant d'émerger au jour 14 environ. Photos prises par Takemoto et al. (2011).

## Résultats

Les expériences d’olfactométrie ont confirmé qu’il existe une influence du CPH d’origine sur les préférences olfactives de la femelle *A. ervi*. Cependant, les préférences observées n’étaient pas symétriques : des femelles émergeant du CPH *ApF* préfèrent les odeurs de ce CPH, alors que des femelles émergeant du CPH *SaB* n’ont pas de préférence. Ces résultats diffèrent de ceux obtenus sur des souches chiliennes par Daza-Bustamante et al. (2002), qui avaient observé des préférences symétriques en fonction de l’origine du parasitoïde. Ces résultats suggèrent qu’il pourrait exister une variation géographique dans les réponses comportementales des parasitoïdes aux stimuli olfactifs émis par leurs ressources.

Les expériences d’EAG ont permis de confirmer qu’il existe un effet du CPH d’origine sur la sensibilité antennaire de la femelle *A. ervi* à des composés émis par des CPH différents. Ces résultats font écho à ceux de Ballesteros et al. (2017) qui avaient montré une différence dans l’expression de gènes liés à la détection antennaire des odeurs en fonction du CPH d’origine, et suggère l’existence de processus épigénétiques dans la transmission des préférences comportementales chez ce parasitoïde.

La complexité olfactive présente lors du développement larvaire et nymphal de la femelle a eu un effet sur ses préférences olfactives une fois adulte : elle était plus attirée par les odeurs du complexe *ApF*, indépendamment de son CPH d’origine.

En revanche, l’effet de l’expérience précoce (CPH d’origine et/ou complexité de l’environnement d’origine) n’ont eu que très peu d’effet sur le choix du complexe plante-hôte chez *A. ervi* : la fidélité à l’hôte n’a pas été observée. En revanche, les femelles attaquaient plus souvent *A. pisum*, et les femelles s’étant développées dans cet hôte attaquaient davantage de pucerons (indépendamment de l’espèce d’hôte choisie). Ces résultats suggèrent qu’*A. pisum* pourrait être un hôte de meilleure qualité pour *A. ervi* et tendent à valider la « *mother knows best hypothesis* » : les parasitoïdes préféreraient pondre sur l’hôte assurant la meilleure fitness à leur descendance (Gripenberg et al. 2010).

### Limites

Nos résultats d’EAG ne permettent pas de comprendre totalement les mécanismes physiologiques sous-jacents à l’induction précoce des préférences olfactives. D’une part, nous n’avons testé que quelques composés associés à chaque CPH, qui ne reflètent pas les bouquets olfactifs complexes émis par ces CPH. Dans le futur, des expériences de détection électroantennographique couplées à de la chromatographie gazeuse (GC-EAD) pourraient permettre de détecter la réponse antennaire aux différents composés présents dans le mélange olfactif émis par chaque complexe (e.g. Petersson et al. 2000). De plus, les différences de sensibilité observées au niveau périphérique ne suffisent probablement pas à expliquer totalement la plasticité comportementale induite par le CPH d’origine. En effet, l’expérience olfactive influence généralement plutôt la sensibilité du système nerveux central que celle du système nerveux périphérique (Guerrieri et al. 2012).

Les contradictions apparentes entre les résultats obtenus en olfactométrie et en expérience de choix rendent difficile l’interprétation de ces résultats d’un point de vue adaptatif et/ou écologique. Les différences observées suggèrent que d’autres signaux sont impliqués dans la sélection d’hôte chez *A. ervi*, dont l’importance dans ce processus pourrait dépendre de l’échelle spatiale. D’autres expériences comportementales seraient nécessaires pour évaluer l’importance de différents signaux à différentes échelles. De plus, certains de nos résultats indiquent que *A. pisum* pourrait être un meilleur hôte pour *A. ervi*, mais cette différence n’est pas encore avérée. Les données sur le sujet qui sont disponibles dans la littérature semblent contradictoires (Pungerl 1984, Daza-Bustamante et al. 2003, Zepeda-Paulo et al. 2013). De futures expériences seront nécessaires pour clarifier le gain en fitness conféré par chaque hôte pour le parasitoïde (ces expériences étaient initialement prévues dans le cadre de la thèse mais n’ont pas pu être réalisées pour cause de problèmes techniques).

**Ce chapitre est divisé en deux parties :**

**Paper 1 – Early olfactory environment influences antennal sensitivity and choice of the host-plant complex in a parasitoid wasp.** Cet article publié dans la revue *Insects* en mai 2019 présente et discute les résultats des expériences d'olfactométrie et d'EAG.

**Short note – Host selection patterns do not match olfactory preferences induced by early experience in *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae).** Cette courte section présente les résultats des expériences de choix, et les interprète notamment au regard des résultats acquis en olfactométrie.



Article

# Early Olfactory Environment Influences Antennal Sensitivity and Choice of the Host-Plant Complex in a Parasitoid Wasp

Martin Luquet <sup>1</sup>, Olympe Tritto <sup>1</sup>, Anne-Marie Cortesero <sup>2</sup>, Bruno Jaloux <sup>1</sup> and Sylvia Anton <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> UMR IGEPP, Agrocampus Ouest, 49054 Angers, France; [martin.luquet@agrocampus-ouest.fr](mailto:martin.luquet@agrocampus-ouest.fr) (M.L.), [tritto.olymp@gmail.com](mailto:tritto.olymp@gmail.com) (O.T.), [bruno.jaloux@agrocampus-ouest.fr](mailto:bruno.jaloux@agrocampus-ouest.fr) (B.J.)

<sup>2</sup> UMR IGEPP, Université Rennes 1, 35000 Rennes, France; [anne-marie.cortesero@univ-rennes1.fr](mailto:anne-marie.cortesero@univ-rennes1.fr)

\* Correspondence: [sylvia.anton@inra.fr](mailto:sylvia.anton@inra.fr); Tel.: +33-2-41-22-56-55

Received: 10 April 2019; Accepted: 26 April 2019; Published: 3 May 2019.

**Abstract:** Early experience of olfactory stimuli associated with their host–plant complex (HPC) is an important driver of parasitoid foraging choices, notably leading to host fidelity. Mechanisms involved, such as peripheral or central modulation, and the impact of a complex olfactory environment are unknown. Using olfactometer assays, we compared HPC preference of *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae) females originating from two different HPCs, either with the other HPC in close vicinity (complex environment) or without (simple environment). We also investigated antennal responses to volatiles differentially emitted by the two respective HPCs. In a simple environment, HPC of origin had an influence on olfactory choice, but the preferences observed were asymmetric according to parasitoid origin. Electroantennographic recordings revealed significant sensitivity differences for some of the tested individual volatiles, which are emitted differentially by the two HPCs. Besides, presence of an alternative HPC during early stages modified subsequent parasitoid preferences. We discuss how increased olfactory complexity could influence parasitoid host foraging and biological control in diversified cropping systems.

**Keywords:** *Aphidius ervi*; Braconidae; early experience; electroantennography; host choice; olfactometry

## 1. Introduction

In order to find suitable hosts, female parasitoids of phytophagous insects use a wide array of sensory cues, generally emitted directly by the hosts themselves or by the plants on which they feed [1,2]. Whereas specialist species generally rely on innate preferences [3], such innate preferences for the most suitable host in generalist species are in many cases modified by experience. The influence of experience allows this to take host availability into account [4,5]. Learning of host-related cues during larval development or just after adult emergence in generalist species can thus lead to host fidelity, i.e., the preference for the host–plant complex on which they developed [6]. This mechanism could help parasitoids to effectively forage for the most abundant species when resource availability varies over generations [7], but may also represent a first step towards speciation [8,9]. For many parasitoid species olfaction has been identified as crucial for host detection and indeed, female parasitoids have been shown to be able to learn odors associated with their hosts, either before or after emergence from the host [3]. So far, little is known about which level in the olfactory pathway is modified upon learning of

host cues in parasitoids. Modulation of the olfactory system upon associative learning in social insects seems to essentially be located within the central nervous system [10], but in a few cases modification of odor detection has been found in different insects [11,12]. Antennal odor detection has been investigated in several parasitoid species, but whether odor detection is modified by experience before or during emergence is not known.

In the parasitoid *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae), a generalist species which can develop on different host species without host-associated genetic differentiation [13], several studies have shown that females are able to learn odors from their host-plant complex (HPC) during pre-imaginal stages, both before and just upon emergence [14,15]. This mechanism leads to host fidelity in this species: When given a choice between cereal-*Sitobion avenae* (Fabricius) and legume-*Acyrtosiphon pisum* (Harris) complexes, an *A. ervi* female is more attracted by the HPC on which it developed [16]. This induction of host preference coincides with transcriptomic differences between females reared on different HPCs: Genes involved in neuronal growth and development, signaling pathways and olfactory detection are differentially expressed according to the HPC of origin [17]. Whether the differential antennal gene expression also leads to differences in antennal HPC volatile detection has not been investigated so far.

All studies revealing host fidelity have been performed with insects developing on uniform simple HPCs, although in a natural environment, different hosts and their associated plants, emitting various volatile blends, might be present in close vicinity. Whereas several studies indicate that pest insects are less efficient in localizing their host plants in a complex olfactory environment, especially if repellent plants are associated with suitable host plants [18,19], it is still debated if this complex olfactory environment also affects natural enemies such as parasitoids [20,21]. An influence of surrounding plant volatiles on host choice has been indicated in *Aphidius rhopalosiphi* females: They seem not only to learn the odor of the HPC they emerge from (*Metopolophium dirhodum* on wheat), but also the combination of HPC volatiles with volatiles of plants present in the vicinity (tomato) [22]. However, it is still unknown if parasitoid females change their host plant preference when they develop in an environment where several of its potential hosts are present.

In this study we investigated how early experience with HPC volatiles influences host preferences in *A. ervi*. We first tested the hypothesis that pre-imaginal learning of HPC odors leads to host fidelity in parasitoids reared in simple environments, with either one of two HPCs (*A. pisum* on faba bean and *S. avenae* on barley) in our populations using four-way olfactometers. Via electroantennographic recordings we examined if early experience might modify antennal detection of individual volatiles emitted by the two HPCs. We then tested the hypothesis that the presence of an alternative HPC close to the developing parasitoid alters its preferences as an adult.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Insects and Plants

Two populations of *Aphidius ervi* parasitoids were collected as mummies from two aphid species representing major hosts: *A. pisum* (collected in pure faba bean fields in Seiche sur Loire (France) in spring 2016) and *S. avenae* (collected in pure wheat fields in Saint Sulpice sur Loire (France) in June 2016). In the laboratory, *A. pisum* was reared on faba bean (*Vicia faba* L.) and *S. avenae* on barley (*Hordeum vulgare* L.), forming two HPCs, ApF and SaB respectively. Before the experiments, both populations were reared on their respective HPC for over 50 generations. Plants, aphids and parasitoids were reared under long-day conditions (16L:8D) at 22 °C (day) and 20 °C (night). Humidity conditions were 80% relative humidity (day) and 90% relative humidity (night) for aphids and 70% relative humidity for parasitoids.

#### 2.1.1. Parasitoid Conditioning

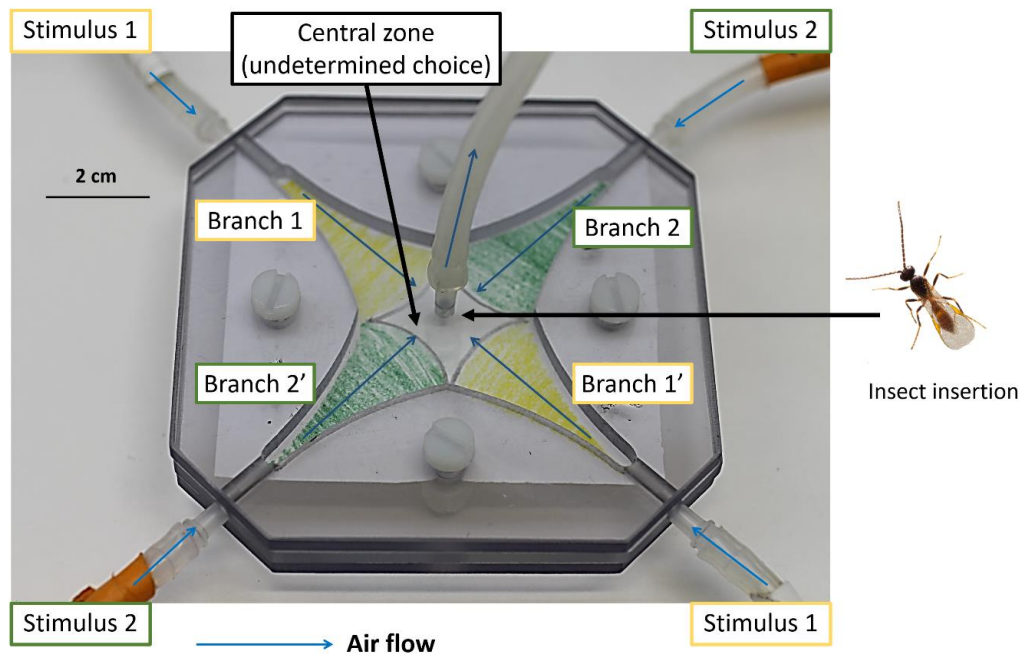
Insects from both laboratory populations (ApF-origin and SaB-origin) were divided into three rearing conditions:

- Simple environment, without host switching: Parasitoids from each population had been raised on their respective HPC for over 50 generations and were reared in two separate climatic chambers for at least two generations. Thus, females used for experiments were exposed only to the odor cues of their natal HPC during their larval and pupal development.
- Simple environment, with host switching: Females originating from each population reared in a simple environment for many generations were then allowed to oviposit on the alternative HPC, in the corresponding chamber. Females hatching from the resulting mummies were used for experiments. Thus, experimental insects originated from one HPC strain, but in the last generation developed on the alternative HPC (and were exposed only to the odor cues of this HPC).
- Complex environment: Parasitoids from each population were raised on their respective HPC in a mixed environment, i.e., they were raised on one HPC in the presence of the other HPC. Cages containing the two HPCs were placed next to each other in the same climatic chamber, resulting in a distance of only a few centimeters between mummies on their HPC and the alternative HPC and thus odor exposure to both HPCs. Females were used for experiments after at least 2 generations in their complex environment.

For each parasitoid population in each rearing condition, mummies were collected daily in rearing cages and transferred in a separate cage without aphids, so that emerging females had no oviposition experience. Each day, newly emerged females were then placed with males in another separate cage containing an un-infested plant corresponding to their HPC of origin. After 24 to 48 hours, these females were considered mated and were used for behavioral or electrophysiological experiments.

## 2.2. Behavioral Experiments

Individual females from both origins, ApF and SaB, and each rearing condition, simple environment without host switching, simple environment with host switching and complex environment, were given the choice between both HPC odors in four-way olfactometers [23,24], placed in a white wooden case illuminated from above by two fluorescent white 18 W cold light tubes. Experiments were done at  $22.5 \pm 0.9^\circ\text{C}$ ,  $38\% \pm 4\%$  relative humidity and a pressure of  $1006 \pm 6$  hPa. For stimulation, we used barley and faba bean plants of the same age, infested with 50 corresponding aphids for 48 to 72 h (stimulation HPC), placed in a glass vessel. Two outlets of each glass vessel were connected with silicon tubing to diagonal inlets of the four-way olfactometer. Stimulation HPCs were changed every day. A constant airflow of  $0.3 \text{ L min}^{-1}$  was produced by a sucking PTFE (polytetrafluoroethylene) membrane pump (KNF lab, France), connected to the central opening of the olfactometer and resulting in an air flow of  $75 \text{ mL min}^{-1}$  in each branch. The air entering the glass vessels was cleaned by an active charcoal filter and humidified by passing through a bottle filled with distilled water. A filter paper square was placed on the floor of the olfactometer and limits between the four odorant branches were drawn on it to follow parasitoid position. Because preliminary experiments had shown that parasitoid movements were very difficult to follow when they approached the center of the olfactometer, they circled too rapidly to track them reliably, we delimited a central zone with undetermined choice. The time spent in this area was not considered as a choice for either HPC (Figure 1). This central zone was designed as narrow as possible, but allowing a realistic decision on whether a parasitoid position corresponds to a choice or not. For each assay, a single parasitoid was introduced on the filter paper through the central hole of the olfactometer and its movements inside the olfactometer were recorded during 600 s, using the sequenceR interface implemented in R software [25]. Olfactometers were cleaned with detergent after each individual assay. Total times spent in each branch (HPC 1.1 + HPC 1.2, HPC 2.1 + HPC 2.2) and in the central zone were calculated. Time spent in both branches with the same stimulus was summed, and those sums were compared to evaluate relative HPC attractiveness. For each group of parasitoids (according to population origin and rearing conditions), 28 to 33 individual females were tested in the four-way olfactometer and each group of parasitoids was tested on at least three different experimental days.



**Figure 1.** Four-way olfactometer setup used for the behavioral assays. A constant air flow allows diffusion of olfactory stimuli in each branch through PTFE tubes connected to vessels with infested plants. The same colors, added for illustration only, indicate branches containing odors from the same host–plant complex (HPC). The diamond-shaped “central zone” in the center of the olfactometer is considered as zone of undetermined choice. After allowing the odors to diffuse in the device, parasitoids were inserted through a hole in the center of the olfactometer and observed during 600 s.

### 2.3. Electroantennography

In order to evaluate if antennal sensitivity to host odors depended on the HPC of origin of females, we evaluated their electroantennographic responses to volatiles that were differentially emitted by either HPC. For each HPC, we chose two commercially available volatiles that a) were not emitted in detectable amounts by the un-infested host plant, b) were emitted by the aphid–plant complex, c) were either not emitted, or emitted at negligible amounts by the alternative complex after aphid infestation [26–30]. For the *A. pisum*/faba bean complex, we selected octanal and  $\alpha$ -pinene, two host-induced plant volatiles emitted by that HPC that are also individually attractive to *A. ervi* [26], and for the *S. avenae*/barley complex, sulcatone and sulcatol that are emitted after aphid infestation in different cereal–aphid complexes and can in certain cases be individually attractive to *Aphidus* parasitoids [27,28,30]. However, the behavioral attractiveness of the chosen individual volatiles is not necessarily relevant for the investigation of differences in antennal sensitivity.

For stimulation, volatiles were diluted in decadic steps in hexane and amounts of 10 ng to 100  $\mu$ g in 10  $\mu$ L of hexane of each volatile were applied onto a piece of filter paper inserted into a Pasteur pipette. A stimulation pipette with 10  $\mu$ L of hexane on a filter paper was used as a control. To establish dose-response relationships, the five doses were tested in an ascending order and a control stimulation was applied before and after each dose-response series.

For electroantennographic (EAG) recordings, parasitoids of both populations under the first rearing conditions (simple conditioning environment, without host switching) were used. Mated 2 to 3-day-old females originating from one of the two HPC were decapitated. A glass electrode filled with Beadle-Ephrussi Ringer [31], connected to ground with a silver wire, was introduced into the cut end of the head. The tip of one antenna was then cut with fine scissors and the cut end was introduced into a second glass electrode. The electrodes were connected to an amplifier (axoclamp 2B, Molecular Devices) and the obtained signals were digitalized using an IDAC-4 device and registered using EAG Pro software (Syntech, Kirchzarten, Germany). The antenna was super-fused by a constant air stream (0.3

m/s) and odor pulses of 300 ms through the stimulating pipettes were introduced into the constant airflow using a stimulation device (Stimulus controller CS 55, Syntech, Kirchzarten, Germany). To correct for decline in EAG amplitudes over time due to antennal fatigue, EAG amplitudes were normalized in relation to the averaged responses to hexane applied before and after stimulation of the five doses of a tested volatile compound, following this formula:

$$\text{Normalized EAG response}_{(\text{volatile})} = \frac{2 \times \text{Abs.response}_{(\text{volatile})}}{\text{Abs.response}_{(\text{Hexane 1})} + \text{Abs.response}_{(\text{Hexane 2})}}$$

Where Abs.response = absolute EAG response, Hexane 1 = hexane control before dose-response, and Hexane 2 = hexane control after dose-response.

#### 2.4. Statistical Analysis

For behavioral experiments, Friedman tests were used to compare the time spent in each zone of the olfactometer (ApF HPC, SaB HPC, central zone), followed by Wilcoxon tests for multiple comparisons. Even though our main interest was to compare the time spent in each stimulus zone (ApF HPC and SaB HPC), we included the time spent in the central zone in our analysis, because individuals spent largely varying times in this zone and excluding it would have biased our analyses. All statistical tests were performed using R software (R Core Team 2018).

EAG responses to each molecule were analyzed separately using linear mixed models (LMM) using the lme4 package [32]. Standardized antennal responses were modelled according to the HPC of origin of parasitoids and stimulus amount. An interaction term was added to consider that species responses could differ only at certain doses. Individual identity was included as a random factor, nested within insect origin, to account for individual variation. Dependent variables were log-transformed to linearize dose-response relationships and fulfil the assumptions of the models. After checking the validity of the models and when main effects were found significant, origin-dependent response variation at each dose was evaluated using pairwise comparisons of least-square means (lsmeans package [33]).

### 3. Results

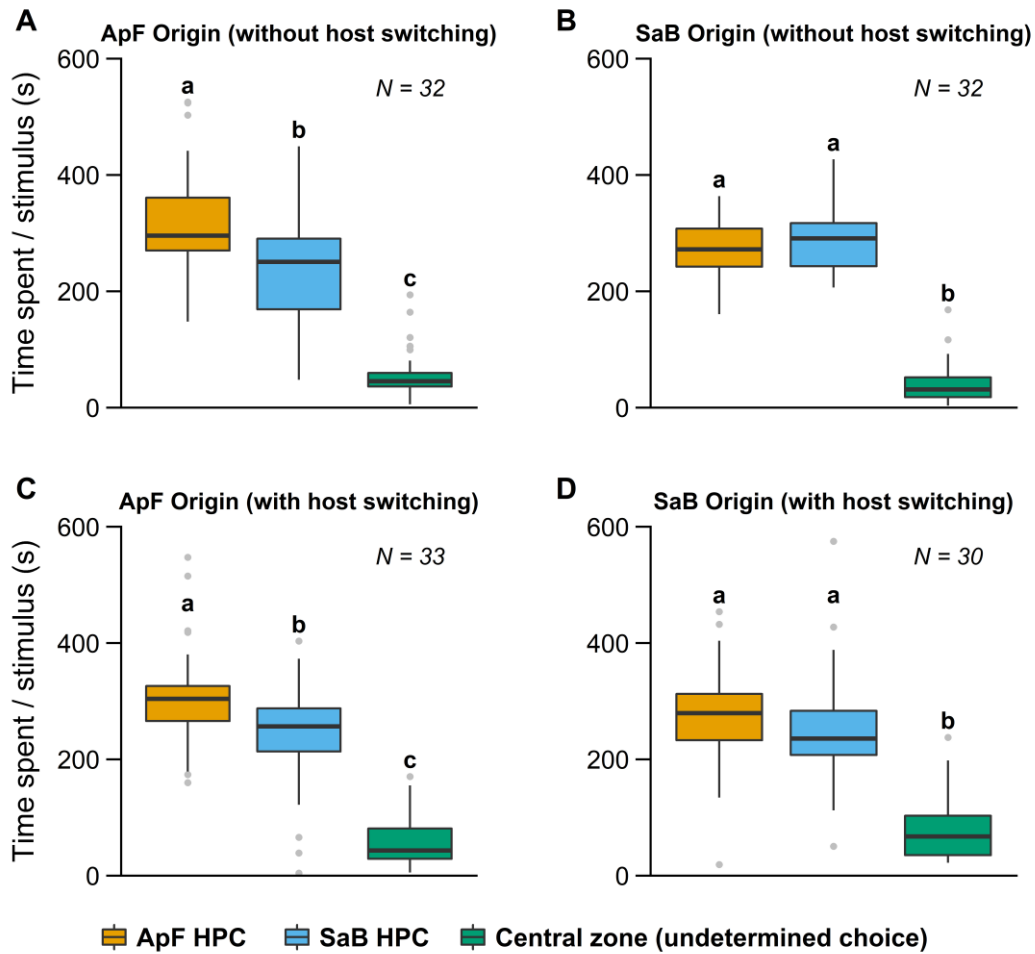
#### 3.1. Influence of Early Experience in a Simple Environment

##### 3.1.1. Influence of Early Experience on HPC Choice

In both experiments with females originating from a simple environment (with and without host switching), *A. ervi* females spent far less time in the central zone (“undetermined choice”) than in the branches containing odor stimuli (Figure 2, Table 1). Independent of their conditioning, *A. ervi* females never spent significantly more time in the branches with odors from the SaB HPC than in the branches with odors from the ApF HPC (Figure 2).

Insects reared in simple environments exhibited an asymmetric response, according to their HPC of origin. Females originating from the ApF HPC, without host switching, spent significantly more time in the olfactometer branches with odors from their HPC of origin than in the branches with the alternative HPC odors (SaB) (Figure 2A, Table 1). We obtained the same result when females were reared on the SaB HPC and switched for one generation on the ApF HPC (Figure 2C, Table 1). On the other hand, females originating from the SaB HPC spent the same amount of time in the branches with odors of either HPC, whether they had been reared long-term on SaB HPC, or reared on the ApF HPC and switched for one generation on the SaB HPC (Figure 2B,D, Table 1).





**Figure 2.** Time spent in the different branches of the olfactometer by *Aphidius ervi* females reared in simple environments. Females were reared on their respective HPC (*Acyrtosiphon pisum*/faba bean = ApF or *Sitobion avenae*/barley = SaB) (A,B) for several generations, (C,D) for one generation (host switch). Boxplot boundaries indicate the first and third quartiles and black lines within plots indicate the median for each treatment. Whiskers length equal to 1.5× interquartile range, other points are outliers. Bars with the same lower-case letters indicate no significant differences (Wilcoxon test).

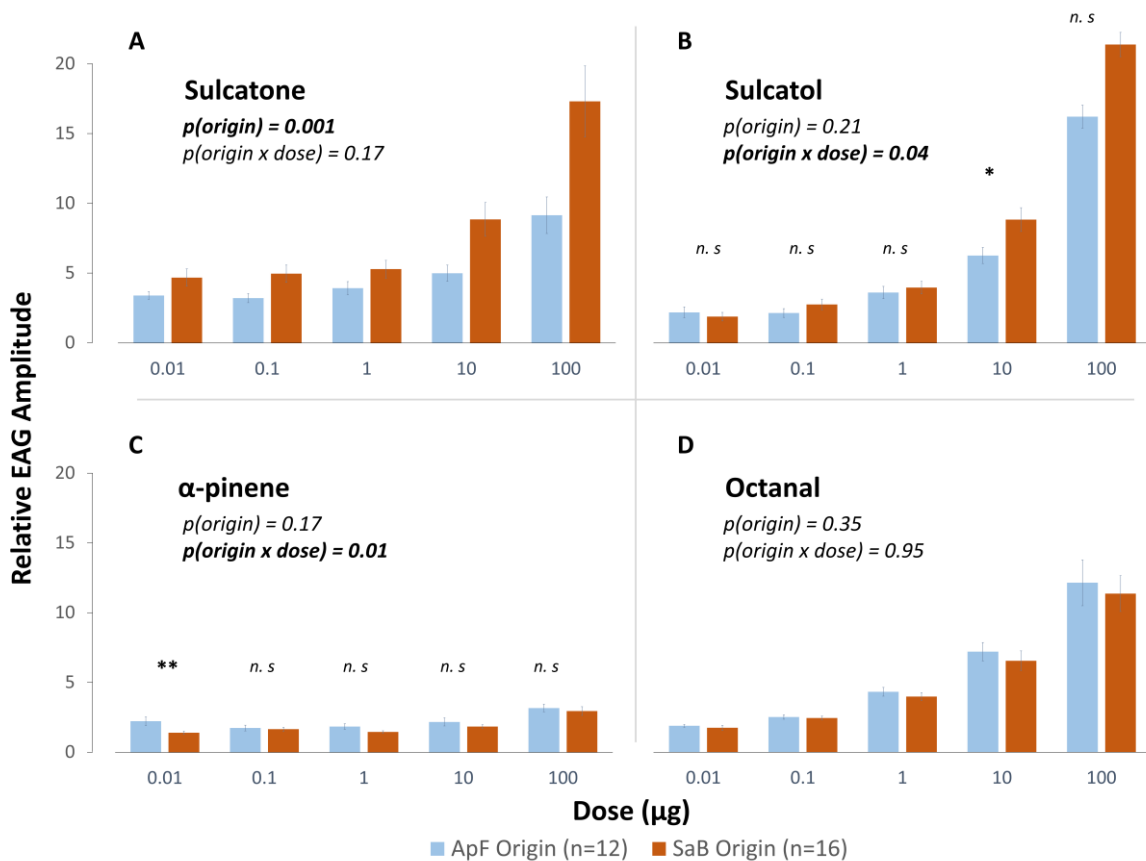
**Table 1.** Summary statistics for the behavioral experiments.

| Environment | Treatment               | Friedman’s Test (df = 2) |          | Pairwise Comparisons ( <i>p</i> -value) <sup>1</sup> |                 |                 |
|-------------|-------------------------|--------------------------|----------|--|-----------------|-----------------|
|             |                         | $\chi^2$                 | <i>p</i> | ApF vs. SaB  | ApF vs. Central | SaB vs. Central |
| Simple      | ApF (no host switching) | 44                       | <0.01    | <b>0.005</b>   | <0.01           | <0.01           |
|             | ApF (host switching)    | 46                       | <0.01    | <b>0.034</b>   | <0.01           | <0.01           |
|             | SaB (no host switching) | 48.3                     | <0.01    | 0.68   | <0.01           | <0.01           |
|             | SaB (host switching)    | 34.9                     | <0.01    | 0.22   | <0.01           | <0.01           |
| Complex     | ApF (no host switching) | 48                       | <0.01    | <b>0.011</b>   | <0.01           | <0.01           |
|             | SaB (no host switching) | 36.5                     | <0.01    | <b>0.048</b>   | <0.01           | <0.01           |

<sup>1</sup>*p*-values for pairwise comparisons were corrected with the false discovery rate method. SaB: *Sitobion avenae*/barley complex, ApF: *Acyrtosiphon pisum*/faba bean complex. Bold values indicate significant differences (*p*<0.05).

3.1.2. Influence of Early Experience on Antennal Sensitivity

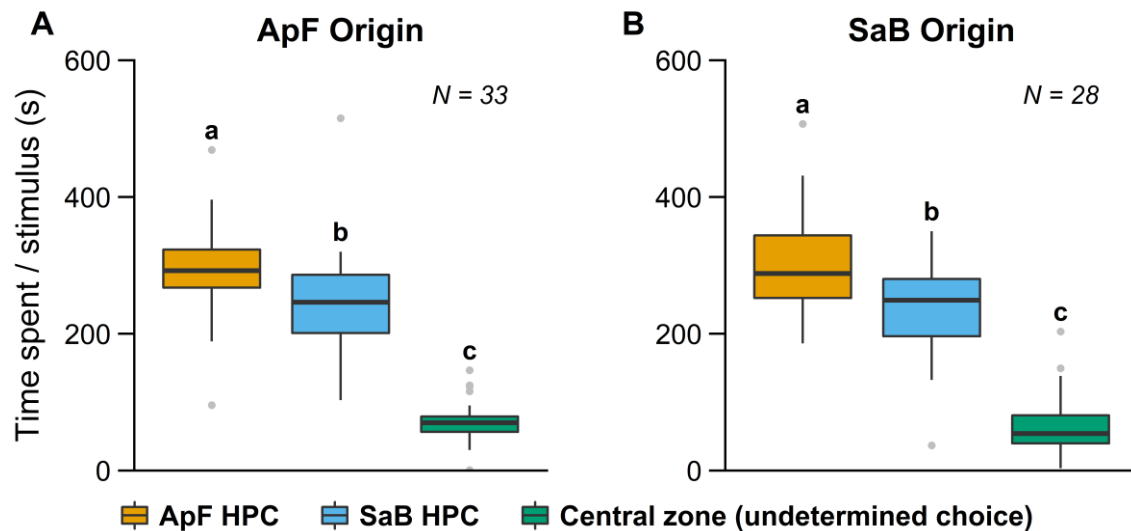
Significant dose-dependent EAG responses were obtained for all four tested compounds in females reared on both HPCs ( $p < 0.001$  for all volatiles). There was no significant effect of HPC origin on averaged EAG amplitudes for three of the four tested volatiles: Sulcatol ( $\chi^2 = 1.6, p = 0.21$ ), octanal ( $\chi^2 = 0.8, p = 0.37$ ) and  $\alpha$ -pinene ( $\chi^2 = 1.8, p = 0.17$ ) (Figure 3). For sulcatone, however, antennal responses in the population originating from the ApF HPC were significantly weaker than in the population originating from the SaB HPC ( $\chi^2 = 10.2, p = 0.001$ ) (Figure 3A). In addition, the interaction between HPC origin and dose was significant for sulcatol ( $\chi^2 = 10.2, p = 0.037$ ). For the dose 10  $\mu\text{g}$ , antennal responses in the population originating from the ApF HPC were significantly weaker than in the population originating from the SaB HPC ( $p = 0.047$ ) (Figure 3B). Another significant interaction effect was discovered for  $\alpha$ -pinene ( $\chi^2 = 13.1, p = 0.001$ ). The response amplitude at the lowest tested dose (0.01  $\mu\text{g}$ ) was significantly stronger in the population originating from the ApF HPC, than in the population originating from the SaB HPC ( $p = 0.005$ ) (Figure 3C). Note, however, that the dose-response relationship for  $\alpha$ -pinene was much less pronounced than for the other tested compounds and response amplitudes were generally small (Figure 3C).



**Figure 3.** Mean ( $\pm$  SE) relative electroantennographic (EAG) amplitudes of *A. ervi* females reared in simple environments to volatiles emitted by the *S. avenae*/barley HPC (SaB): (A) Sulcatone and (B) Sulcatol; and to volatiles emitted by the *A. pisum*/faba bean HPC (ApF): (C)  $\alpha$ -pinene and (D) octanal. Displayed  $p$ -values are associated to the “origin” term and to the interaction term between parasitoid origin and volatile dose in linear mixed models. Levels of significance for pairwise comparisons: n.s: Non-significant, \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

### 3.2. Influence of Early Experience in a Complex Environment

Compared to insects reared in a simple olfactory environment, parasitoids lost the asymmetrical response when they had been exposed to a complex environment during early stages. Females spent significantly more time in the branches with odors from the ApF HPC than in the branches with odors from the SaB HPC independently of the HPC they were reared on (Figure 4A,B, Table 1).



**Figure 4.** Time spent in the different branches of the olfactometer by *A. ervi* females reared in complex environments. Females were reared for several generations (A) on the *A. pisum*/faba bean HPC (ApF) or (B) on the *S. avenae*/barley HPC (SaB). Boxplot boundaries indicate the first and third quartiles and black lines within plots indicate the median for each treatment. Whiskers length equal to 1.5× interquartile range, other points are outliers. Bars with the same lower-case letters indicate no significant differences (Wilcoxon test).

## 4. Discussion

### 4.1. Adaptive Implications of Experience-Modulated Host Choice

A preference for the volatiles emitted by the *A. pisum*/faba bean HPC was shown in populations of *A. ervi* collected on this complex and reared on it for many generations, but also for populations collected and reared on the alternative HPC but switched on *A. pisum*/faba bean for one generation only. This result confirms that early learning is involved in olfactory HPC choice, rather than a genetic determinism due to host adaptation [13,16,34]. Parasitoid responses were asymmetrical, as rearing *A. ervi* on the *S. avenae*/barley HPC did not lead to a preference for this HPC. This result contrasts with a previous work by Daza-Bustamante et al. [16]: In this study, when given the choice between *A. pisum*/alfalfa HPC and *S. avenae*/wheat HPC, females from both origins preferred their respective HPC. This might be either due to the different host plants used, a different bioassay (wind tunnel), or to genetic differences between French and Chilean populations. Indeed, in Chile *A. ervi* has been introduced very recently [35] and is subject to a strong bottleneck effect [36].

For many parasitoids, preference modulation through early experience of host-related cues is a key mechanism leading to host fidelity: Females developing on a host will be more likely to be attracted and to oviposit on their natal host compared to an alternative host [37]. Consistent with our results, it was indeed shown that *A. ervi* reared on *A. pisum* prefers to attack its natal host [6]. The main hypothesis to explain host fidelity is that it may allow parasitoids to adjust their preference to the most common host in their nearby environment, while allowing changing this preference over generations [6,7]. However, considering this hypothesis, we would also have expected preference for the natal host to occur for females developing on *S. avenae*. The fact that the learning process is not symmetrical in our populations

may be due to differences of resource quality between aphids. Indeed, the “mother knows best” hypothesis states that when given the choice between different hosts, parasitoid females should choose the one that will maximize fitness of progeny [38,39]. Earlier studies showed variable results about suitability of both hosts for *A. ervi*, either regarding Chilean [13,40], or European strains [41,42]. However, several of these studies indicate that *A. pisum* might indeed be a better host than *S. avenae* for *A. ervi* [40,42]. This could explain why the *S. avenae*/barley complex was not found more attractive than the alternative HPC in any of our tested situations. The validity of the “mother knows best” hypothesis is, however, debated as mothers do not always choose the host that will confer the highest fitness to their descendants [39,43]. What our experiments suggest is that both host suitability and probability of finding a host may influence parasitoid female preferences, leading to asymmetrical patterns. Females born on *A. pisum* would have a high chance of finding a high-quality host in their nearby environment, leading to an olfactory preference for *A. pisum*. When born on *S. avenae*, females would have a lower chance of finding a high-quality host and a higher chance to find a lower quality host, leading to equal attractiveness of cues associated to either host. The results observed here, may thus reflect a trade-off between host quality and availability.

#### 4.2. The Effect of Experience of Antennal Sensitivity to HPC-Emitted Volatiles

EAG recordings of responses to volatiles that are differentially emitted by the two HPCs revealed a significant shift in the dose response curve to sulcatone, a compound typically emitted by cereal plants infested with cereal aphids [27,28,30]: Antennae of *A. ervi* originating from the ApF HPC exhibited a lower sensitivity for this compound than antennae of *A. ervi* originating from the SaB HPC. For the second compound, characteristic for the same HPC, sulcatol, significant differences in response amplitudes were only found for the second highest dose tested. For  $\alpha$ -pinene, a significantly higher antennal sensitivity was found for the lowest tested dose in females originating from the ApF HPC, but this difference needs to be interpreted with caution, because responses to this compound were generally low and there was no clear dose-response relationship in the EAG amplitudes. No significant difference was revealed in the EAG responses to octanal between females of the two HPCs. Our physiological data revealed at least some differences between females with experience on the different HPCs, and agree with previous data, which showed a differential expression of genes involved in odor perception in *A. ervi* according to its HPC of origin [17]. The asymmetric changes in antennal sensitivity are at least partially correlated with asymmetric behavioral differences between insects originating from the two HPCs. However, this type of correlation between behavioral preferences and antennal sensitivity is not automatic. Differential antennal sensitivities in the two populations might lead as well to an increase as to a decrease in attractiveness. In addition, it remains to be investigated whether the small differences in peripheral odor detection are at all sufficient to explain the behavioral differences between *A. ervi* females raised on the two different HPCs. To interpret our physiological data, several points have to be taken into consideration. EAG recordings, reflecting the sum of receptor potentials across the entire antenna, do not provide a high resolution to detect small differences in sensitivity. Experience-dependent modulation of antennal odor sensitivity, correlated with a behavioral response increase, has previously been shown in a male moth, along with expression changes of antennal olfactory genes, but in this case, recordings from individual pheromone-sensitive receptor neurons were performed [12]. Nevertheless, it is more common that odor experience modifies sensitivity in the central rather than in the peripheral olfactory system in insects [44]. Furthermore, we only tested a few selected molecules so far, which have been described to be differentially emitted by the two HPCs investigated [26, 28], but HPCs emit a vast number of additional molecules and central processing of complex odor blends might also be important for decision making in addition to detection of individual compounds at the peripheral level.

#### 4.3. Influence of Environment Complexity

This study, to our knowledge, is the first report of a change in HPC preference due to the perception of volatiles from a neighboring HPC by parasitoid females during early life. Previous studies in another parasitoid species had shown that volatiles from alien plants could be learned as part of the bouquet of an HPC: Females responded specifically to the blend they had experienced earlier [22]. Here, however, we show that females experiencing odors from another HPC can change their preference to this HPC as compared to the HPC they developed on, whereas they do not exhibit a preference when their experience is restricted to their own HPC. This result highlights the fact that ecological conclusions derived from host fidelity experiments must be taken with caution. Indeed, in natural settings, parasitoids often face a complex olfactory environment [45]. Detection of a wide variety of olfactory stimuli during parasitoid development could interact with host-associated odor learning and outcomes for subsequent parasitoid foraging behavior are difficult to predict. On one hand, learning alien cues could generate “noise” during the pre-imaginal learning process and disturb future host or mate selection for the adult parasitoid. On the other hand, there are situations in which learning stimuli associated with an alternative host could be adaptive, because it would provide the parasitoid with more complete information of the resources present in its environment. In our case, *A. ervi* raised on the SaB complex changed its preference to the ApF HPC when it was present in the nearby environment. If indeed *A. pisum* is a better host for *A. ervi*, our results would then support the “mother knows best” hypothesis. Identifying the presence of *A. pisum* during early stages (even if it is not the natal host) would help the future *A. ervi* mother making more adaptive foraging decisions, i.e., ovipositing on the host that will maximize progeny. The consequences of learning alien cues during developmental stages on foraging behavior and fitness remain to be investigated, however. In any case, these results suggest that the consequences of early learning not only depend on the host–plant complex but also on its environment, notably if alternative host species are present. Early learning is often presented as the initial mechanism of host speciation [9]. The modulation of host fidelity via integration of the odor of other HPCs available in the environment described in this study could counteract or at least weaken a host speciation process. The upholding of a generalist life style could be adaptive, reducing the evolutionary costs of host specificity, when the preferred host is rare in the environment [13]. This might also have implications for biological control, particularly in diversified systems. Considering our example again, intercropping systems mixing legume crops with cereals allow *A. pisum* and *S. avenae* to coexist in the same agroecosystem [46]. The presence of both HPCs could reduce host fidelity and make *A. ervi* females more prone to switch from one HPC to another. As these two aphids partially overlap phenologically in the field, this mechanism could lead to a better exploitation of both host populations and a better aphid regulation.

#### 5. Conclusions

Behavioral experiments with *A. ervi* females from our laboratory-reared populations originating from two HPCs confirmed that early experience may modulate odor preference in this species. However, we revealed an asymmetrical response to the HPCs tested. Only females reared on the ApF HPC preferred their HPC of origin, whereas females reared on the SaB HPC did not exhibit any preference. This asymmetric response was at least partially correlated with differences in the antennal sensitivity to individual volatiles that are differentially emitted by the two HPC: i.e., Antennae of *A. ervi* females reared on the ApF HPC were less sensitive to individual volatiles emitted by the SaB complex. We thus revealed a modulation of antennal sensitivity through HPC experience. More importantly, our experiments revealed that early learning by *A. ervi* could be influenced by the complexity of the olfactory environment as females reared on the SaB HPC acquired a preference for the ApF HPC when reared in an environment with both HPCs. This could have consequences for biological control in diversified agroecosystems such as legume-cereal intercrops.

**Author Contributions:** Conceptualization, M.L., A.-M.C, B.J, S.A.; formal analysis, M.L., O.T., S.A.; investigation, M.L., O.T., S.A.; writing—original draft preparation, M.L., B.J., S.A.; writing—review and editing, M.L., A.-M.C, B.J, S.A.; supervision, A.-M.C, B.J, S.A.; project administration, B.J.; funding acquisition, B.J.

**Funding:** This study was supported by the PROGRAILIVE project (Grant: RBRE160116CR0530019), funded by the Brittany Region (France) and the European Union (FEADER PEI-AGRI).

**Acknowledgments:** This work was funded by the PROGRAILIVE project supported by the European Union and the Regional council of Brittany and managed by the association “Pole Agronomique de l’Ouest.” We thank all partners associated with the project. We are also grateful to Estelle Chenu and Ferréol Braud (Agrocampus Ouest, Angers) for their help with insect rearing, as well as Joël Blochas for technical support. We also thank Christophe Gadenne for helpful suggestions and feedback on the manuscript.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Powell, W.; Pennacchio, F.; Poppy, G.; Tremblay, E. Strategies involved in the location of hosts by the parasitoid *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). *Biol. Control* **1998**, *11*, 104–112, doi:[10.1006/bcon.1997.0584](https://doi.org/10.1006/bcon.1997.0584).
2. Hare, J.D. Ecological Role of volatiles produced by plants in response to damage by herbivorous insects. *Annu. Rev. Entomol.* **2011**, *56*, 161–180, doi:[10.1146/annurev-ento-120709-144753](https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120709-144753).
3. Giunti, G.; Canale, A.; Messing, R.H.; Donati, E.; Stefanini, C.; Michaud, J.P.; Benelli, G. Parasitoid learning: Current knowledge and implications for biological control. *Biol. Control* **2015**, *90*, 208–219, doi:[10.1016/j.biocontrol.2015.06.007](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.06.007).
4. Chau, A.; Mackauer, M. Preference of the aphid parasitoid *Monoctonus paulensis* (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) for different aphid species: Female choice and offspring survival. *Biol. Control* **2001**, *20*, 30–38, doi:[10.1006/bcon.2000.0881](https://doi.org/10.1006/bcon.2000.0881).
5. Poppy, G.M.; Powell, W.; Pennacchio, F. Aphid parasitoid responses to semiochemicals—Genetic, conditioned or learnt? *Entomophaga* **1997**, *42*, 193–199, doi:[10.1007/BF02769897](https://doi.org/10.1007/BF02769897).
6. Henry, L.M.; Roitberg, B.D.; Gillespie, D.R. Host-Range Evolution in *Aphidius* Parasitoids: Fidelity, virulence and fitness trade-offs on an ancestral host. *Evolution* **2008**, *62*, 689–699, doi:[10.1111/j.1558-5646.2007.00316.x](https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2007.00316.x).
7. Raymond, L.; Plantegenest, M.; Gagic, V.; Navasse, Y.; Lavandero, B. Aphid parasitoid generalism: Development, assessment, and implications for biocontrol. *J. Pest Sci.* **2016**, *89*, 7–20, doi:[10.1007/s10340-015-0687-6](https://doi.org/10.1007/s10340-015-0687-6).
8. Stelinski, L.L.; Liburd, O.E. Behavioral evidence for host fidelity among populations of the parasitic wasp, *Diachasma alloeum* (Muesebeck). *Naturwissenschaften* **2005**, *92*, 65–68, doi:[10.1007/s00114-004-0593-x](https://doi.org/10.1007/s00114-004-0593-x).
9. König, K.; Krimmer, E.; Brose, S.; Cornelia, G.; Ines, B.; Christian, K.; Seraina, K.; Ingo, W.; Hannes, B.; Lars, K.; et al. Does early learning drive ecological divergence during speciation processes in parasitoid wasps? *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **2015**, *282*, 20141850, doi:[10.1098/rspb.2014.1850](https://doi.org/10.1098/rspb.2014.1850).
10. Menzel, R. The honeybee as a model for understanding the basis of cognition. *Nat. Rev. Neurosci.* **2012**, *13*, 758–768, doi:[10.1038/nrn3357](https://doi.org/10.1038/nrn3357).
11. Arenas, A.; Giurfa, M.; Farina, W.M.; Sandoz, J.C. Early olfactory experience modifies neural activity in the antennal lobe of a social insect at the adult stage. *Eur. J. Neurosci.* **2009**, *30*, 1498–1508, doi:[10.1111/j.1460-9568.2009.06940.x](https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06940.x).
12. Guerrieri, F.; Gemeno, C.; Monsempes, C.; Anton, S.; Jacquín-Joly, E.; Lucas, P.; Devaud, J.-M. Experience-dependent modulation of antennal sensitivity and input to antennal lobes in male moths (*Spodoptera littoralis*) pre-exposed to sex pheromone. *J. Exp. Biol.* **2012**, *215*, 2334–2341, doi:[10.1242/jeb.060988](https://doi.org/10.1242/jeb.060988).
13. Zepeda-Paulo, F.A.; Ortiz-Martínez, S.A.; Figueroa, C.C.; Lavandero, B. Adaptive evolution of a generalist parasitoid: Implications for the effectiveness of biological control agents. *Evol. Appl.* **2013**, *6*, 983–999, doi:[10.1111/eva.12081](https://doi.org/10.1111/eva.12081).

14. Gutiérrez-Ibáñez, C.; Villagra, C.A.; Niemeyer, H.M. Pre-pupation behaviour of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Haliday) and its consequences for pre-imaginal learning. *Naturwissenschaften* **2007**, *94*, 595–600, doi:[10.1007/s00114-007-0233-3](https://doi.org/10.1007/s00114-007-0233-3).
15. Takemoto, H.; Powell, W.; Pickett, J.; Kainoh, Y.; Takabayashi, J. Two-step learning involved in acquiring olfactory preferences for plant volatiles by parasitic wasps. *Anim. Behav.* **2012**, *83*, 1491–1496, doi:[10.1016/j.anbehav.2012.03.023](https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2012.03.023).
16. Daza-Bustamante, P.; Fuentes-Contreras, E.; Rodríguez, L.C.; Figueroa, C.C.; Niemeyer, H.M. Behavioural differences between *Aphidius ervi* populations from two tritrophic systems are due to phenotypic plasticity. *Entomol. Exp. Appl.* **2002**, *104*, 321–328, doi:[10.1046/j.1570-7458.2002.01018.x](https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2002.01018.x).
17. Ballesteros, G.I.; Gadau, J.; Legeai, F.; Gonzalez-Gonzalez, A.; Lavandero, B.; Simon, J.-C.; Figueroa, C.C. Expression differences in *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae) females reared on different aphid host species. *PeerJ* **2017**, *5*, e3640, doi:[10.7717/peerj.3640](https://doi.org/10.7717/peerj.3640).
18. Amarawardana, L.; Bandara, P.; Kumar, V.; Pettersson, J.; Ninkovic, V.; Glinwood, R. Olfactory response of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) to volatiles from leek and chive: Potential for intercropping with sweet pepper. *Acta Agric. Scand. Sect. B-Soil Plant Sci.* **2007**, *57*, 87–91, doi:[10.1080/09064710500487721](https://doi.org/10.1080/09064710500487721).
19. Dardouri, T.; Gautier, H.; Issa, R.B.; Costagliola, G.; Gomez, L. Repellence of *Myzus persicae* (Sulzer): Evidence of two modes of action of volatiles from selected living aromatic plants. *Pest Manag. Sci.* **2018**, doi:[10.1002/ps.5271](https://doi.org/10.1002/ps.5271).
20. Wäschke, N.; Meiners, T.; Rostás, M. Foraging strategies of parasitoids in complex chemical environments. In *Chemical Ecology of Insect Parasitoids*; John Wiley & Sons, Ltd. Hoboken, NJ, USA : 2013; pp. 37–63, ISBN 978-1-118-40958-9.
21. Aartsma, Y.; Bianchi, F.J.J.A.; van der Werf W.; Poelman, E.H.; Dicke, M. Herbivore-induced plant volatiles and tritrophic interactions across spatial scales. *New Phytol.* **2017**, *216*, 1054–1063, doi:[10.1111/nph.14475](https://doi.org/10.1111/nph.14475).
22. van Emden, H.F.; Eletherianos, I.; Rose, J.; Douloumpaka, S.; Pettersson, J. Aphid parasitoids detect that an alien plant was present nearby during their development. *Physiol. Entomol.* **2002**, *27*, 199–205, doi:[10.1046/j.1365-3032.2002.00285.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-3032.2002.00285.x).
23. Pettersson, J. An Aphid sex attractant. *Entomol. Scand.* **1970**, *1*, 63–73, doi:[10.1163/187631270X00357](https://doi.org/10.1163/187631270X00357).
24. Beyaert, I.; Wäschke, N.; Scholz, A.; Varama, M.; Reinecke, A.; Hilker, M. Relevance of resource-indicating key volatiles and habitat odour for insect orientation. *Anim. Behav.* **2010**, *79*, 1077–1086, doi:[10.1016/j.anbehav.2010.02.001](https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2010.02.001).
25. Hervé, M. sequenceR: Une Interface D’encodage de Séquences Comportementales 2013. Available online: [https://drive.google.com/file/d/1GyYmbOhGZr\\_4UyFCGN34HKEF7Sh5h6zLx/view](https://drive.google.com/file/d/1GyYmbOhGZr_4UyFCGN34HKEF7Sh5h6zLx/view) (accessed on 05/06/2018).
26. Takemoto, H.; Takabayashi, J. Parasitic wasps *Aphidius ervi* are more attracted to a blend of host-induced plant volatiles than to the independent compounds. *J. Chem. Ecol.* **2015**, *41*, 801–807, doi:[10.1007/s10886-015-0615-5](https://doi.org/10.1007/s10886-015-0615-5).
27. Quiroz, A.; Pettersson, J.; Pickett, J.A.; Wadhams, L.J.; Niemeyer, H.M. Semiochemicals mediating spacing behavior of bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* feeding on cereals. *J. Chem. Ecol.* **1997**, *23*, 2599–2607, doi:[10.1023/B:JOEC.0000006669.34845.0d](https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000006669.34845.0d).
28. Liu, Y.; Wang, W.-L.; Guo, G.-X.; Ji, X.-L. Volatile emission in wheat and parasitism by *Aphidius avenae* after exogenous application of salivary enzymes of *Sitobion avenae*. *Entomol. Exp. Appl.* **2009**, *130*, 215–221, doi:[10.1111/j.1570-7458.2008.00822.x](https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2008.00822.x).
29. Dong, L.; Hou, Y.; Li, F.; Piao, Y.; Zhang, X.; Zhang, X.; Li, C.; Zhao, C. Characterization of volatile aroma compounds in different brewing barley cultivars. *J. Sci. Food Agric.* **2015**, *95*, 915–921, doi:[10.1002/jsfa.6759](https://doi.org/10.1002/jsfa.6759).
30. Ninkovic, V.; Ahmed, E.; Glinwood, R.; Pettersson, J. Effects of two types of semiochemical on population development of the bird cherry oat aphid *Rhopalosiphum padi* in a barley crop. *Agric. For. Entomol.* **2003**, *5*, 27–34, doi:[10.1046/j.1461-9563.2003.00159.x](https://doi.org/10.1046/j.1461-9563.2003.00159.x).
31. Bjostad, L. Electrophysiological Methods. In *Methods in Chemical Ecology—Volume 1, Chemical Methods*; Kluwer Academic Publishing: Dordrecht, The Netherlands, 1998; pp. 339–375.
32. Bates, D.; Mächler, M.; Bolker, B.; Walker, S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J. Stat. Softw.* **2016**, *67*, 1–48, doi:[10.18637/jss.v067.i01](https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01).
33. Lenth, R.V. Least-Squares Means: The R Package lsmeans. *J. Stat. Softw.* **2016**, *69*, 1–33, doi:[10.18637/jss.v069.i01](https://doi.org/10.18637/jss.v069.i01).

34. Rodriguez, L.C.; Niemeyer, H.M. Fuentes-Contreras, E. Effect of innate preferences, conditioning and adult experience on the attraction of *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae) toward plant volatiles. *Eur. J. Entomol. Czech Repub.* **2002**, *99*, 285–288.
35. Starý, P.; Gerding, I.M.; Norambuena, I.H.; Remaudière, G. Environmental research on aphid parasitoid biocontrol agents in Chile (Hym., Aphidiidae; Hom., Aphidoidea). *J. Appl. Entomol.* **1993**, *115*, 292–306, doi:[10.1111/j.1439-0418.1993.tb00394.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1993.tb00394.x).
36. Zepeda-Paulo, F.; Dion, E.; Lavandero, B.; Mahéo, F.; Outreman, Y.; Simon, J.C.; Figueroa, C.C. Signatures of genetic bottleneck and differentiation after the introduction of an exotic parasitoid for classical biological control. *Biol. Invasions* **2016**, *18*, 565–581, doi:[10.1007/s10530-015-1029-6](https://doi.org/10.1007/s10530-015-1029-6).
37. Godfray, H.C.J. *Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology*; Princeton University Press: Princeton, NJ, USA, 1994; ISBN 978-0-691-00047-3.
38. Jaenike, J. On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theor. Popul. Biol.* **1978**, *14*, 350–356, doi:[10.1016/0040-5809\(78\)90012-6](https://doi.org/10.1016/0040-5809(78)90012-6).
39. Henry, L.M.; Gillespie, D.R.; Roitberg, B.D. Does mother really know best? Oviposition preference reduces reproductive performance in the generalist parasitoid *Aphidius ervi*. *Entomol. Exp. Appl.* **2005**, *116*, 167–174, doi:[10.1111/j.1570-7458.2005.00318.x](https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2005.00318.x).
40. Daza-Bustamante, P.; Fuentes-Contreras, E.; Niemeyer, H.M. Acceptance and suitability of *Acyrtosiphon pisum* and *Sitobion avenae* as hosts of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae). *EJE Eur. J. Entomol.* **2003**, *100*, 49–53, doi:[10.14411/eje.2003.010](https://doi.org/10.14411/eje.2003.010).
41. Cameron, P.J.; Powell, W.; Loxdale, H.D. Reservoirs for *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae), a polyphagous parasitoid of cereal aphids (Hemiptera: Aphididae). *Bull. Entomol. Res.* **1984**, *74*, 647–656, doi:[10.1017/S0007485300014024](https://doi.org/10.1017/S0007485300014024).
42. Pungertl, N.B. Host preferences of *Aphidius* (Hymenoptera: Aphidiidae) populations parasitising pea and cereal aphids (Hemiptera: Aphididae). *Bull. Entomol. Res.* **1984**, *74*, 153–162, doi:[10.1017/S0007485300010026](https://doi.org/10.1017/S0007485300010026).
43. Chesnais, Q.; Ameline, A.; Doury, G.; Le Roux, V.; Couty, A. Aphid parasitoid mothers don't always know best through the whole host selection process. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0135661, doi:[10.1371/journal.pone.0135661](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135661).
44. Anderson, P.; Anton, S. Experience-based modulation of behavioural responses to plant volatiles and other sensory cues in insect herbivores. *Plant Cell Environ.* **2014**, *37*, 1826–1835, doi:[10.1111/pce.12342](https://doi.org/10.1111/pce.12342).
45. Hilker, M.; McNeil, J. Chemical and behavioral ecology in insect parasitoids: How to behave optimally in a complex odorous environment. In *Behavioral Ecology of Insect Parasitoids*; Wajnberg, É., Bernstein, C., van Alphen, J., Eds.; Blackwell Publishing Ltd, Hoboken, NJ, USA.: 2008; pp. 92–112, ISBN 978-0-470-69620-0.
46. Xu, Q.; Hatt, S.; Han, Z.; Francis, F.; Chen, J. Combining E-β-farnesene and methyl salicylate release with wheat-pea intercropping enhances biological control of aphids in North China. *Biocontrol Sci. Technol.* **2018**, *28*, 883–894, doi:[10.1080/09583157.2018.1504885](https://doi.org/10.1080/09583157.2018.1504885).



© 2019 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).





---

**SHORT NOTE****Host selection patterns do not match olfactory preferences induced by early experience in *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae)**

Martin Luquet<sup>1</sup>, Clarice Moulin<sup>1</sup>, Anne-Marie Cortesero<sup>2</sup>, Sylvia Anton<sup>1</sup>, Bruno Jaloux<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>UMR IGEPP INRA/Agrocampus Ouest/Université Rennes 1, Agrocampus Ouest, Angers, France

<sup>2</sup>UMR IGEPP INRA/Agrocampus Ouest/Université Rennes 1, Université Rennes 1, Rennes, France

\*Corresponding author, E-mail: [bruno.jaloux@agrocampus-ouest.fr](mailto:bruno.jaloux@agrocampus-ouest.fr), Tel : +33 2 41 22 55 76.  
Address: Agrocampus Ouest, Centre of Angers, 2 Rue André le Nôtre, 49045 Angers, France.

**Abstract:** Early experience of host-associated olfactory stimuli during developmental stages affects subsequent foraging decisions in many parasitoid species, notably leading to host fidelity. Recent experiments have also shown that experience of odours emitted by an alien host-plant complex (HPC) during early stages may affect this learning process. However, the consequences of this early olfactory experience on parasitoid host foraging decisions has never been investigated. Here, we tested the hypothesis that olfactory preferences induced by early experience should drive their choice of a HPC and their oviposition decisions. To do so, we setup dual choice experiments in which we presented two HPCs (*Acyrtosiphon pisum*/faba bean and *Sitobion avenae*/barley) to the parasitoid *Aphidius ervi*. HPC choice, time before landing on a HPC and number of attacks were recorded. Surprisingly, we found little evidence that early experience influences any of these parameters. Regardless of their origin, parasitoids showed no preference for any HPC, but they attacked *A. pisum* more frequently once they had landed on its HPC. Besides, females emerging from the *Acyrtosiphon pisum*/faba bean HPC attacked more aphids, regardless of the host species. The olfactory complexity of the early environment had thus inconsistent effects on *A. ervi* foraging decisions. These experiments indicate that olfactory preferences induced in early stages are not sufficient to predict parasitoid oviposition decisions. Besides, our results suggest that *A. pisum* may be a more suitable host for *A. ervi*.

**Keywords:** Early experience, foraging decisions, host fidelity, host selection, olfactory complexity, parasitoid.

## INTRODUCTION

Previous works showed that the early environment influences the olfactory preferences of *Aphidius ervi* females when choosing a host-plant complex (HPC) (Daza-Bustamante et al. 2002, Luquet et al. 2019). However, it is still unknown how this early experience actually determines the host on which the female will decide to oviposit. Olfaction is a major sense that allows parasitoids to adjust their foraging decisions (Aartsma et al. 2017). Thus, we can expect that the olfactory preferences induced by the early environment should determine what HPC the female would land on and what host it would decide to exploit, when given the choice. On the other hand, olfactory stimuli are not the only ones that govern host selection in parasitoids: they may also use visual, vibrational or contact chemosensory cues (Vinson 1991, Wajnberg & Ris 2009, Iacovone et al. 2016). Thus, it is still unknown how the natal environment preference induction translates into oviposition decisions.

Results obtained in olfactometer assays suggest that we should expect an asymmetric host fidelity: *A. ervi* females originating from the *Acyrtosiphon pisum* – faba bean complex should prefer to land on this HPC and to oviposit on *A. pisum*, while females from the *Sitobion avenae* – barley complex should show no preference. In addition, we should also observe an influence of the olfactory complexity experienced during development: females that developed in an olfactory complex environment (presence of both HPC) should show a preference for the *A. pisum* – faba bean HPC even if they developed on the *Sitobion avenae* – barley complex. Here, we tested these predictions in dual-choice experiments, allowing the females to rely on different cues to locate and select their host. We hypothesized that *A. ervi* females should preferentially land on the HPC that is the most attractive in olfactory choice experiments, depending on its origin, and that they would consequently attack preferentially the aphid that is associated to this HPC.

## MATERIALS AND METHODS

Experiments were done between February and May 2019. Insects (*Aphidius ervi*, *Acyrtosiphon pisum* and *Sitobion avenae*) and plants (faba bean, *Vicia faba* and barley, *Hordeum vulgare*) used for the assays came from the rearing described in Luquet et al. (2019). *A. ervi* parasitoids were reared either on the *A. pisum*/faba bean (*ApF*) complex, or on the *S. avenae*/barley complex (*SaB*). Besides, parasitoids developed either in a simple environment (presence of only one host-plant complex) or in a complex environment (presence of both host-plant complexes). Thus, four parasitoid treatments were obtained in total (two HPCs of origin \* two complexities of the early environment). Females emerged for less than 24h were mated, sugar-fed and used subsequently in the choice experiments without previous oviposition experience.

The experimental device used consisted in transparent Plexiglas® cages (35L x 35W x 40H cm), aerated with two fine nylon mesh screens (Fig. 1). One faba bean plant and one barley plant were placed at the opposite sides of the cage, each infested with approximately 80 of their corresponding aphids (*A. pisum* and *S. avenae*), of all stages. Individual female parasitoids were introduced on a platform in the centre of the cage and were monitored during 20 minutes. The following parameters were recorded: the amount of time before the female lands on a plant, the first plant on which the female lands, the amount of time spent on each host-plant complex and the number of aphids attacked on each plant. In total, 256 females were monitored (64 per treatment).

Behavioural responses from the different treatments were analysed using Generalised Linear Models (GLM) in R software (R Core Team, 2018). Binomial GLMs were used to analyse parasitoid first choices. In a first step, we evaluated if the parasitoid treatments differed in their general response rate (*i. e.* their propensity to make a choice during the experiment period). The response of the parasitoid (choice or no choice) was modelled using the HPC of origin and the early environment complexity as explanatory variables, as well as their interaction. In a second step, we fitted another model, using only the 'responsive' insects (the ones that landed on a plant) and the same variables as fixed effects to evaluate if the parasitoid first choice of a HPC depends on its early experience. Time before first choice (*i. e.* before a female landed on a given HPC) was analysed using a gamma GLM, with the same variables as fixed effects. Finally, we used a negative-binomial GLM (MASS package, Venables & Ripley 2002) to analyse the number of aphid attacks according to the parasitoid origin. Interaction terms between explanatory variables were included in the model, to consider the hypothesis that the number of attacks on a given aphid species may depend both on the parasitoid HPC of origin and the complexity of its early environment.

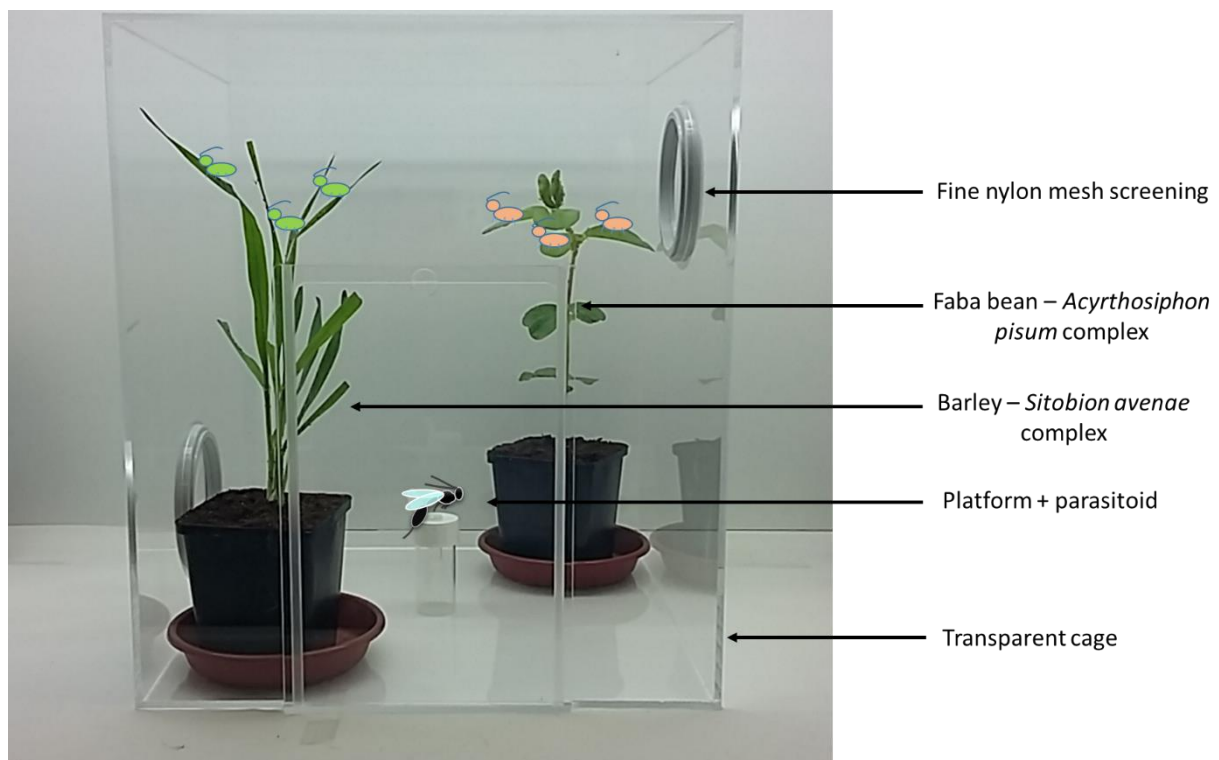


Figure 10 Experimental device used for the choice experiments.

## RESULTS

**First choice.** When pooling all treatments, more than half (61%) of the parasitoid females did not land on a host-plant complex during the experiment (Table 1). Individuals that had developed in a complex environment were significantly more responsive (50% response in a complex environment, 37% response in a simple environment -  $LR\chi^2 = 4.63$ ,  $Df = 1$ ,  $p = 0.03$ ), independently of their HPC of origin ( $HPC : LR\chi^2 = 0.79$ ,  $Df = 1$ ,  $p = 0.37$  ;  $Environment:HPC: LR\chi^2 = 0.17$ ,  $Df = 1$ ,  $p = 0.68$ ). Among the

individuals that landed on a plant, no difference in first choice was observed according to their experienced early environment (Table 1; *HPC*:  $LR\chi^2 = 1.56$ , *Df* = 1, *p* = 0.21, *Environment*:  $LR\chi^2 = 1.46$ , *Df* = 1, *p* = 0.23, *Environment:HPC*:  $LR\chi^2 = 0.76$ , *Df* = 1, *p* = 0.38). Except for one individual, all individuals that chose a HPC stayed on that complex until the end of the experiment.

Table 1 Number of parasitoids that landed on each HPC ('ApF choice', 'SaB choice') or did not land on any HPC ('No choice') during the experiment, according to their HPC of origin (ApF = *Acyrtosiphon pisum/faba bean*, SaB = *Sitobion avenae/barley*) and the olfactory complexity of their early environment. Percentages in brackets indicate the frequency of each choice for each parasitoid treatment.

| Environment of origin | HPC of origin | ApF choice | SaB choice | No choice |
|-----------------------|---------------|------------|------------|-----------|
| Simple                | ApF           | 15 (23%)   | 11 (17%)   | 38 (59%)  |
|                       | SaB           | 11 (17%)   | 10 (16%)   | 43 (67%)  |
| Complex               | ApF           | 25 (39%)   | 8 (13%)    | 31 (48%)  |
|                       | SaB           | 18 (28%)   | 13 (20%)   | 33 (52%)  |

**Time before landing on a HPC.** Parasitoid females showed very variable times before landing on a complex, but no difference was observed according to their environment of origin (Fig. 2; *HPC*:  $LR\chi^2 = 0.004$ , *Df* = 1, *p* = 0.95, *Environment*:  $LR\chi^2 = 0.31$ , *Df* = 1, *p* = 0.58, *Environment:HPC*:  $LR\chi^2 = 0.88$ , *Df* = 1, *p* = 0.35).

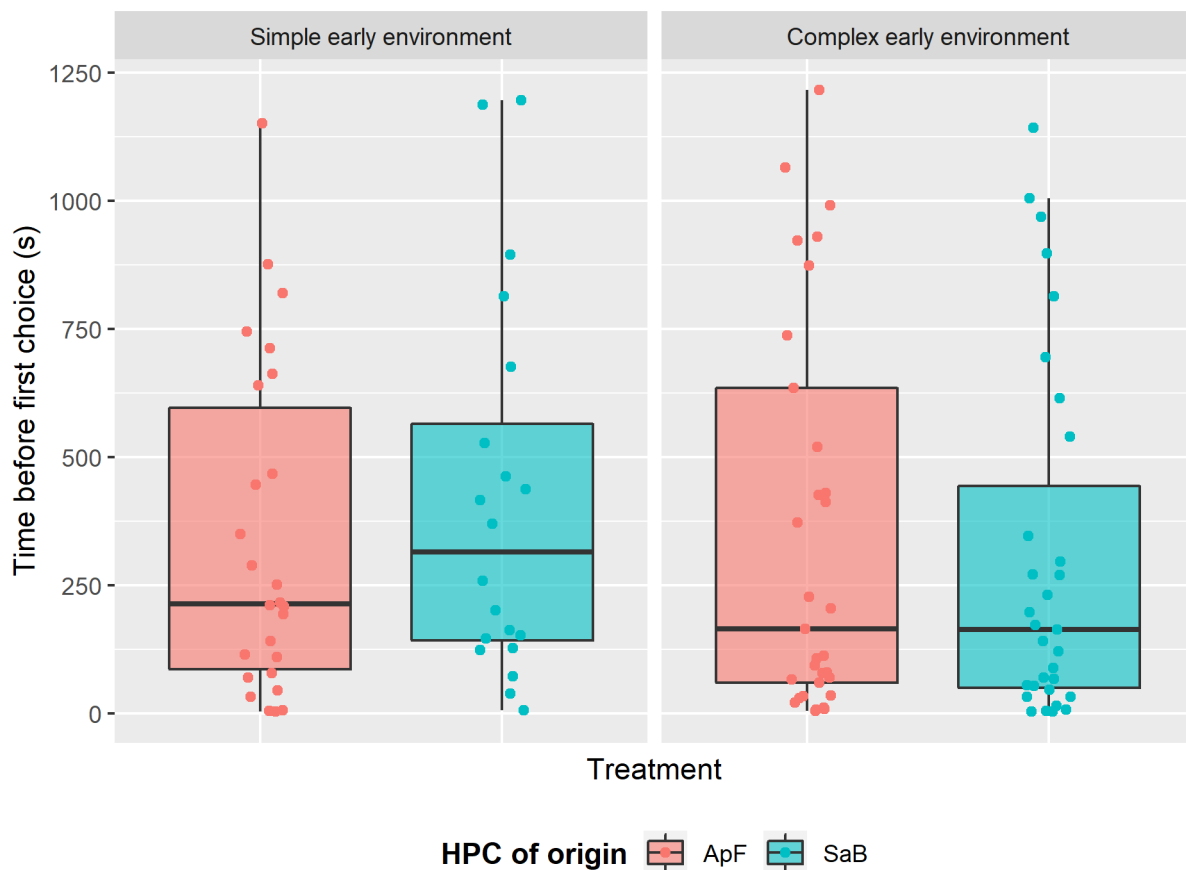


Figure 2 Time (in seconds) before *Aphidius ervi* females landed on a host-plant complex ('first choice'), according to their HPC of origin (ApF = *Acyrtosiphon pisum/faba bean*, SaB = *Sitobion avenae/barley*) and the olfactory complexity of their early environment (simple or complex).

**Number of attacks.** Here again, a lot of variability was observed in the number of parasitoid attacks on aphids (Fig. 3A). However, our model showed that *A. pisum* aphids were more attacked than *S. avenae* aphids (Fig. 3B,  $LR\chi^2 = 15.72$ ,  $Df = 1$ ,  $p < 0.001$ ), independently of the parasitoid origin. Besides, parasitoids from the *ApF* HPC tended to attack more aphids, regardless of the aphid species (Fig. 3B,  $LR\chi^2 = 4.19$ ,  $Df = 1$ ,  $p = 0.041$ ). Finally, parasitoids that had developed in a simple olfactory environment attacked more aphids than parasitoids reared in a complex environment (Fig. 3B,  $LR\chi^2 = 6.75$ ,  $Df = 1$ ,  $p = 0.009$ ). However, we did not find that the parasitoid origin increased the frequency of attacks on a given aphid species (*HPC:Aphid*:  $LR\chi^2 = 0.36$ ,  $Df = 1$ ,  $p = 0.55$ ; *Environment:Aphid*:  $LR\chi^2 = 1.12$ ,  $Df = 1$ ,  $p = 0.29$ ; *HPC:Environment*:  $LR\chi^2 = 1.12$ ,  $Df = 1$ ,  $p = 0.29$ ; *HPC:Environment:Aphid*:  $LR\chi^2 = 2.07$ ,  $Df = 1$ ,  $p = 0.15$ ).

## DISCUSSION

Surprisingly, our results in dual choice experiments did not match the observations we had previously made in olfactometer experiments (Luquet et al. 2019). Indeed, we hypothesised that the early environment experienced by *Aphidius ervi* (its HPC of origin and the odours from a neighbouring HPC) would determine its host foraging decisions. However, our data could not support this hypothesis: the early experience of the parasitoid had no influence on the HPC on which it lands, nor on the aphid species on which it decides to oviposit. On the other hand, we found that parasitoids attacked more *A. pisum* aphids once they had landed on the *A. pisum* – faba bean HPC, and that both the HPC of origin and the early olfactory environment influenced the number of attacks, regardless of the aphid species.

The fact that the foraging decisions made by *A. ervi* females did not match their olfactory preferences suggests that they have used additional stimuli to select a HPC. In addition to olfactory cues, parasitoids notably rely on visual cues to locate a habitat harbouring hosts (Vinson 1991). During the habitat location process, behavioural responses of parasitoids to different stimuli may depend on the distance of their resource (Wajnberg & Ris 2009, Aartsma et al. 2017). Thus, the fact that olfactory stimuli did not appear to determine the HPC selection may be explained by the spatial scale at which our experiments were conducted. Wäschke et al. (2013) notably suggest that olfactory signals may become less relevant for host selection at short distances, and that parasitoids should rely more on visual signals. They suggest that this should notably be the case for koinobiont parasitoids, which include *A. ervi*. Further experiments will thus be needed to understand what stimuli are involved in *A. ervi* HPC selection at different scales.

Besides, although parasitoid females did not prefer to land on a particular HPC, we observed that they attacked more frequently *A. pisum* than *S. avenae*. This difference indicates that additional factors govern host detection and/or the female decision to oviposit, once a HPC has been chosen. At this stage of the host location process, different stimuli could be involved, including visual, vibrational or contact chemosensory cues (Vinson 1991, Wajnberg & Ris 2009, Iacovone et al. 2016). Here again, we cannot disentangle what stimuli the females used to locate their hosts in our experiments. However, our results altogether indicate that preferences observed in olfactometer experiments do not suffice to predict the actual oviposition decisions made by parasitoids, and that multiple foraging scales and sensory signals should be considered.

In spite of our results contradicting at least partially previous olfactometer experiments, our results are interesting in an ecological and evolutionary perspective. First, we observed that, regardless

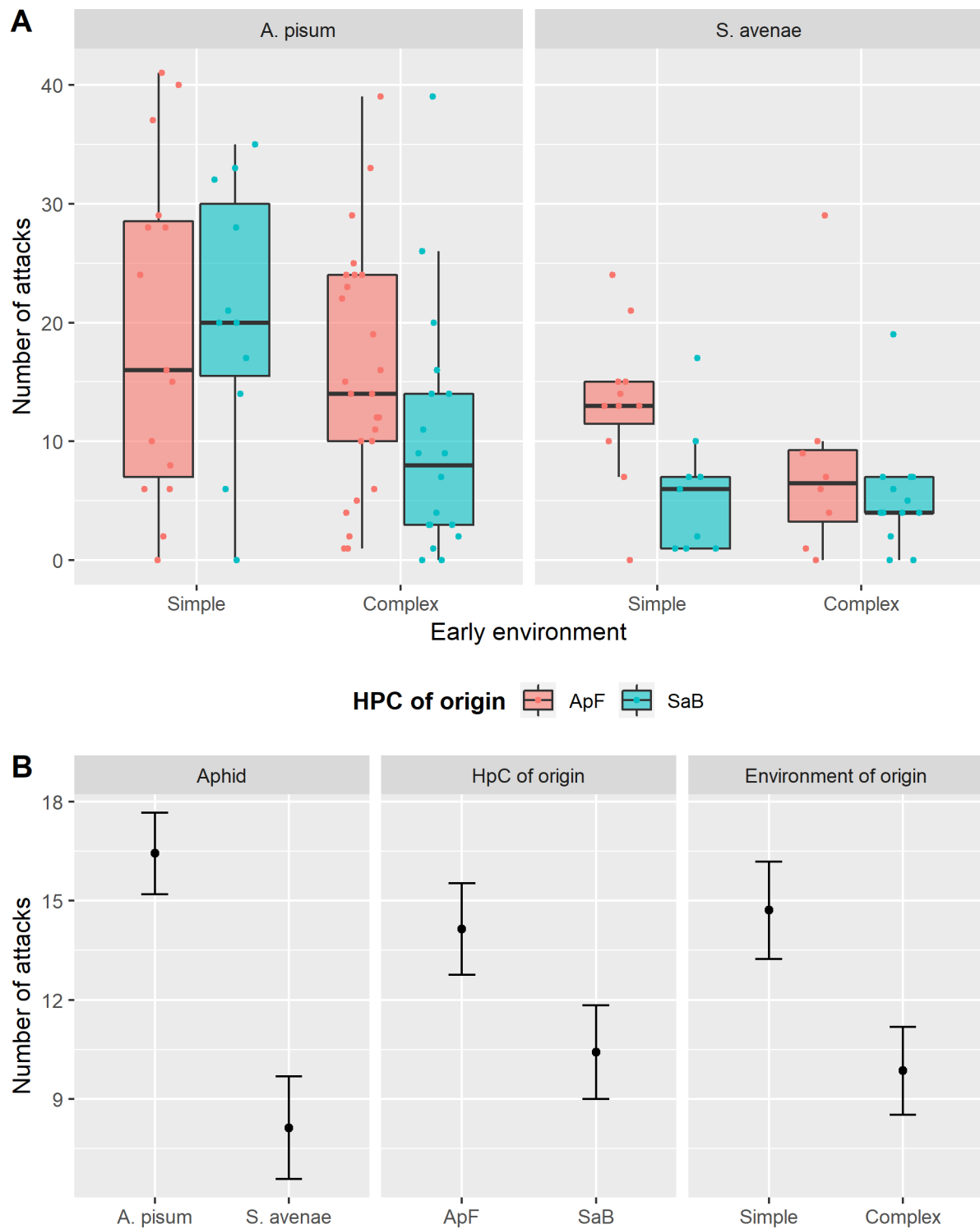


Figure 3 **A** Number of attacks from *Aphidius ervi* females recorded on aphids from each species (*Acyrtosiphon pisum* and *Sitobion avenae*) during the experiment, according to the HPC on which the parasitoids developed (ApF = *Acyrtosiphon pisum/faba bean*, SaB = *Sitobion avenae/barley*) and the olfactory complexity of their early environment (simple or complex). **B** Adjusted means ( $\pm$  SE) of the number of attacks made by *Aphidius ervi* females on aphids according to three factors: the aphid species, the HPC of origin and the olfactory complexity of their early environment. Adjusted means correspond to the mean of the response variable according to each factor, when controlling for the other factors. They were obtained from a Generalised Linear Model, using *emmeans* package (Lenth 2019).

of their origin, parasitoids attacked higher numbers of *A. pisum* aphids than *S. avenae* aphids. Even if females did not land preferentially on the *A. pisum* – faba bean complex, this suggests that there may be some host preference for *A. pisum*. In parallel, we observed that females that had developed on the *A. pisum* – faba bean HPC attacked more aphids, regardless of the species: this suggests that *A. pisum* would be a more suitable host for *A. ervi*, as its progeny would lay more eggs and thus generate more offspring. Put together, these results seem to match the ‘mother knows best hypothesis’ (Gripenberg et al. 2010, Chesnais et al. 2015), suggesting that the female parasitoid will choose to oviposit on the host that is the most suitable for the fitness of its progeny. Even though early experience did influence olfactory preference in olfactometer assays, an overall olfactory preference for *A. pisum* had already been evidenced earlier (Luquet et al. 2019). Further experiments will be needed to clarify the fitness effects of each host for *A. ervi*, which will help interpreting our results.

The effects of olfactory complexity on parasitoid foraging decisions is more difficult to interpret. Indeed, we found that parasitoids that were reared in a complex environment decided more frequently to land on a plant, which could indicate a better detection of the odours emitted by both HPCs. This could be explained by the fact that the olfactory environment they experienced in the cage is the same as the one they experienced during their early stages (which was not the case for insects reared in a simple environment). This similarity could lead to an increase of their motivation to land on a HPC. However, parasitoids that had developed in complex environments also attacked fewer aphids, again suggesting that different factors are involved in the HPC selection process, and in the host selection process once a HPC is chosen. These results are very difficult to interpret in an ecological or adaptive context, all the more so as the observed foraging decisions did not match the olfactory preferences identified in previous experiments. It remains possible that, as suggested by van Emden et al. (2002), the detection of alien odours during early development stages is an inevitable ‘noise’ that accidentally influences foraging decisions, but without any adaptive value.

## BIBLIOGRAPHY

- Aartsma, Y., Bianchi, F. J. J. A., Werf, W. van der, Poelman, E. H., & Dicke, M. (2017). Herbivore-induced plant volatiles and tritrophic interactions across spatial scales. *New Phytologist*, 216(4), 1054–1063.
- Chesnais, Q., Ameline, A., Doury, G., Le Roux, V., & Couty, A. (2015). Aphid parasitoid mothers don’t always know best through the whole host selection process. *PLOS ONE*, 10(8), e0135661.
- Daza-Bustamante, P., Fuentes-Contreras, E., Rodríguez, L. c., Figueroa, C. c., & Niemeyer, H. m. (2002). Behavioural differences between *Aphidius ervi* populations from two tritrophic systems are due to phenotypic plasticity. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 104(2–3), 321–328.
- Gripenberg, S., Mayhew, P. J., Parnell, M., & Roslin, T. (2010). A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters*, 13(3), 383–393.
- Iacovone, A., French, A. S., Tellier, F., Cusumano, A., Clément, G., Gaertner, C., ... Marion-Poll, F. (2016). The role of contact chemoreception in the host location process of an egg parasitoid. *Journal of Insect Physiology*, 91–92, 63–75.
- Lenth, R., Singmann, H., Love, J., Buerkner, P., & Herve, M. (2019). emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means (Version 1.4.1). <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>



- Luquet, M., Tritto, O., Cortesero, A.-M., Jaloux, B., & Anton, S. (2019). Early Olfactory Environment Influences Antennal Sensitivity and Choice of the Host-Plant Complex in a Parasitoid Wasp. *Insects*, 10(5), 127.
- R Core Team. (2018). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <http://www.R-project.org>
- van Emden, H. F., Eletherianos, I., Rose, J., Douloumpaka, S., & Pettersson, J. (2002). Aphid parasitoids detect that an alien plant was present nearby during their development. *Physiological Entomology*, 27(3), 199–205.
- Venables, W. N., & Ripley, B. D. (2002). *Modern Applied Statistics with S* (4th ed.). New York: Springer-Verlag.
- Vinson, S. B. (1991). Chemical signals used by parasitoids. *Redia, Geornale Zool.*, 74, 15–42.
- Wajnberg, É., & Ris, N. (2009). Parasitism and biological control. In F. Thomas, J. F. Guégan, & F. Renaud (Eds.), *Ecology & Evolution of Parasitism* (pp. 107–127). Oxford University Press.
- Wäschke, N., Meiners, T., & Rostás, M. (2013). Foraging Strategies of Parasitoids in Complex Chemical Environments. In *Chemical Ecology of Insect Parasitoids* (pp. 37–63). John Wiley & Sons, Ltd.

## CHAPITRE 2

---

### Exploitation de ressources alimentaires par les parasitoïdes *Aphidius* spp. et conséquence sur le parasitisme des pucerons en cultures pures et associées



Femelle *Aphidius ervi* se nourrissant du nectar extrafloral produit par la féverole, *Vicia faba*. Photo de Artzai Jauregui, ©.



## CHAPITRE 2

### Exploitation de ressources alimentaires par les parasitoïdes *Aphidius* spp. et conséquences sur le parasitisme des pucerons en cultures pures et associées

#### Contexte

La diversification des cultures permet d'augmenter le nombre de ressources disponibles pour les parasitoïdes dans la parcelle. Par exemple, associer une céréale (qui ne produit pas de nectar) avec une féverole (qui produit du nectar extrafloral riche et accessible aux parasitoïdes, Jamont et al. 2013) permet d'apporter des sources de nourriture complémentaires dans un système où cette ressource pourrait être limitante pour la croissance des populations de parasitoïdes (Heimpel & Jervis 2005), tels que ceux du genre *Aphidius* qui parasitent les pucerons des céréales. Selon l'hypothèse d'approvisionnement en nectar (Heimpel & Jervis 2005, Tena et al. 2015), on s'attend donc à ce que cette complémentation de ressources augmente la prise de nourriture par ces parasitoïdes (en particulier dans le centre du champ), ce qui devrait se traduire par une augmentation des taux de parasitisme des pucerons des céréales dans le champ et donc une réduction de la population de ces ravageurs. **Cependant, les différents postulats de cette hypothèse restent à démontrer dans les associations de culture céréale-légumineuse.** En particulier, les parasitoïdes ont une autre source de nourriture potentielle dans les cultures de céréale, le miellat produit par les pucerons (Hogervorst et al. 2007a) : la nourriture pourrait ne pas y être limitante. Par ailleurs, l'augmentation de la prise de nourriture ne mène pas nécessairement à une augmentation du parasitisme et/ou à une réduction des populations de ravageurs (Heimpel 2019).

Il est difficile, voire impossible d'évaluer les patrons d'alimentation des communautés de parasitoïdes par le biais d'observations directes (Jervis et al. 1992). En revanche, des méthodes récentes permettent d'inférer ces patrons à partir de données indirectes. Différentes études ont notamment permis l'émergence d'une méthode permettant d'inférer le statut nutritif des insectes à partir de leur profil glucidique (composition en sucre) (Olson et al. 2000, Wäckers et Steppuhn 2003, Hogervorst et al. 2007a). La relation entre le statut nutritif des insectes (*e.g.* non-nourri, nourri de nectar, nourri de miellat) et leurs profils glucidiques peut être établie au laboratoire. Ces données de référence permettent d'établir des règles d'inférence utilisées pour déterminer le statut nutritif d'insectes capturés sur le terrain, à partir de leurs profils glucidiques. Traditionnellement, ces règles consistent en des seuils de décision : à une valeur supérieure ou inférieure au seuil pour une variable donnée, est associée un statut nutritif particulier (Tableau 1). Généralement, les insectes assignés à chaque statut nutritif sont ensuite comptés afin d'estimer leurs proportions relatives et d'évaluer la proportion (ou la part relative) des différentes ressources utilisées (ou consommées) à l'échelle d'une population ou d'une communauté (Hogervorst et al. 2007a, Tena et al. 2015).

Cependant, cette approche a plusieurs limites. D'une part, les approches de classification basées sur des seuils de décision génèrent souvent un nombre d'erreurs important et sous-estiment les taux d'erreurs (Sivakoff et al. 2011). Par ailleurs, l'approche intuitive consistant à simplement compter les individus assignés à chaque statut nutritif entraîne des erreurs importantes dans l'estimation de leur proportion dans la communauté, et en particulier biaise les comparaisons entre différentes communautés (voir Forman (2008) pour la démonstration de ce problème dans un contexte plus général). Des algorithmes plus sophistiqués pourraient pallier ces problèmes (Breiman

2001, Fraley & Raftery 2007, Forman 2008, Liland & Indahl 2009), mais n’ont jamais été appliqués dans le contexte de l’évaluation de la prise de nourriture par les insectes. **Ainsi, les performances de la méthode classique des seuils de prédiction doivent encore être évaluées, et comparées aux performances d’autres méthodes.**

Tableau 1 Exemple de variables les plus communément utilisées pour discriminer les insectes selon leur histoire nutritive (nourri vs non-nourri) et leur source de nourriture (nectar vs miellat). Ces variables ont été déterminées dans différentes expériences en laboratoire (Steppuhn & Wäckers 2004, Lee et al. 2006, Hogervorst et al. 2007a).

| Statuts nutritifs à discriminer       | Variables utilisées  |
|---------------------------------------|--|
| Nourri vs non-nourri                  | <b>Total en sucres, ratio Glucose / (Glucose + Fructose)</b><br>(Steppuhn & Wäckers 2004, Hogervorst et al. 2007a)   |
| Nourri de nectar vs nourri de miellat | <b>Ratio Erlöse / (Erlöse + Melezitose)</b><br>(Hogervorst et al. 2007, Tena et al. 2013, 2015)<br><b>Ratio Fructose / Total en sucres</b> (Lee et al. 2006) |

### Démarche

Dans ce chapitre, notre objectif était de comparer les patrons d’exploitation de ressource (nourriture et hôtes) par les parasitoïdes dans des cultures pures de céréale (triticale) et des cultures associées triticale-féverole. Nous avons testé l’hypothèse que dans les cultures associées, les parasitoïdes se nourrissent davantage, les taux de parasitismes sont plus élevés, et les densités de pucerons des céréales sont plus faibles. Pour évaluer la prise alimentaire en conditions naturelles, nous avons besoin d’outils de prédiction robustes : dans un premier temps, nous avons évalué *in silico* la performance de la méthode de décision traditionnellement utilisée pour inférer le statut nutritif des insectes à partir de leur profil glucidique, et l’avons comparée avec des algorithmes alternatifs. Dans un second temps, en nous aidant des méthodes identifiées comme étant les plus performantes, nous avons évalué les patrons de prise de nourriture par les parasitoïdes *Aphidius* spp. dans des cultures pures et associées, que nous avons reliés aux taux de parasitisme et aux densités de pucerons observés.

La première étape a été d’assembler un jeu de données permettant d’évaluer la relation entre le statut nutritif des insectes et leur profil glucidique. Nous avons obtenu plusieurs modalités d’alimentation contrôlée de femelles *Aphidius ervi* en laboratoire : non-nourries, nourries de nectar, nourries de miellat. Les insectes ont ensuite été affamés ou non pendant des périodes plus ou moins longues, afin d’obtenir la dynamique métabolique complète des différents sucres chez cet insecte. Les profils glucidiques des parasitoïdes ont été analysés par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Les concentrations de 7 sucres majoritaires dans le métabolisme glucidique des insectes ont été mesurées.

Ce jeu de données nous a servi à construire un modèle mécaniste décrivant la dynamique du métabolisme glucidique chez les insectes, de manière très simplifiée. A partir de ce modèle, nous avons simulé une grande quantité de jeux de données « de laboratoire », variant selon leur taille, leur variance (afin de simuler des types de profils glucidiques différents) et le nombre de variables qu’ils contiennent (afin de simuler des jeux de données obtenus par des méthodes biochimiques différentes). Différents algorithmes ont été entraînés sur chacun de ces jeux de données et leurs performances pour prédire les patrons d’exploitation des insectes ont été évaluées et comparées sur des jeux de données « de terrain » simulés.

Nous avons ensuite capturé des *Aphidius* spp. dans des parcelles de triticale pure et des parcelles associées triticale-féverole (au centre et à proximité de la bordure) avant d’évaluer leur profil

glucidique. Le jeu de donnée de laboratoire constitué précédemment nous a permis d'inférer les proportions d'insectes nourris de miellat, de nectar et non nourris dans chaque modalité de culture, en utilisant l'algorithme le plus performant parmi ceux que nous avons évalués. Nous avons également évalué la densité en pucerons et le taux de parasitisme dans les mêmes parcelles.

### Résultats

Les analyses par simulation nous ont permis de montrer que tous les algorithmes testés surpassent les performances de la méthode traditionnellement utilisée, à la fois pour la classification et l'estimation des prévalences. La meilleure méthode n'était pas toujours la même selon la taille du jeu de données, la variance du profil glucidique ou la méthode biochimique employée : nous avons donc construit un outil d'aide à la décision permettant aux utilisateurs futurs de choisir facilement la meilleure méthode à employer pour un jeu de données particulier.

Les analyses par HPLC ont révélé que tous les parasitoïdes capturés sur le terrain étaient nourris. De plus, ils s'étaient majoritairement nourris de miellat, dans toutes les modalités de culture (entre 55 et 75% selon la modalité). En revanche, une fraction faible mais non négligeable de parasitoïdes s'étant nourrie de nectar en l'absence de féverole (centre des cultures pures) suggère qu'ils puissent s'être nourris sur le nectar produit par des adventices. Par ailleurs, nous n'avons pas observé d'augmentation significative de la part du nectar dans le régime alimentaire des parasitoïdes en cultures associées. Ces données semblent indiquer que la nourriture n'est pas limitante au centre des cultures de céréale pure, et que les parasitoïdes exploitent peu le nectar fourni dans les cultures associées. Par ailleurs, aucune différence n'a été observée en termes de taux de parasitisme ou de densité de pucerons dans les différentes modalités de cultures. Ces données ne permettent donc pas de valider l'hypothèse d'approvisionnement en nectar pour le parasitisme des pucerons dans les associations triticales-féverole.

### Limites

Certains défis méthodologiques doivent encore être résolus pour une estimation plus précise de l'activité alimentaire des parasitoïdes et des autres insectes en conditions naturelles. En particulier, nos modèles ne permettent pas de prédire que des insectes individuels puissent se nourrir de plusieurs ressources différentes dans un laps de temps court.

Les préférences des parasitoïdes *Aphidius* spp. pour leurs différentes ressources alimentaires en fonction de leur qualité et de leur quantité, et leurs performances suite à la consommation de chacune de ces ressources sont encore à évaluer. De telles données aideraient notamment à comprendre pourquoi les parasitoïdes n'exploitent pas davantage le nectar extrafloral quand celui-ci est disponible, alors qu'il est généralement considéré comme une meilleure ressource que le miellat (Wäckers et al. 2008). Par ailleurs, l'importance de la végétation spontanée présente dans les cultures en tant que source de nourriture pour les parasitoïdes reste à évaluer.

Enfin, d'autres facteurs que la nourriture pourraient limiter le contrôle biologique des pucerons par les parasitoïdes dans les cultures de céréale et de féverole (Gillespie et al. 2016). De plus, ces cultures hébergent d'autres ravageurs et d'autres ennemis naturels. Des travaux supplémentaires seront nécessaires pour déterminer les facteurs limitant la régulation des ravageurs dans ces cultures et identifier les aménagements possibles pour la lutte biologique par conservation.

**Ce chapitre est divisé en deux parties :****Paper 2 – Inferring insect feeding patterns from sugar profiles: a comparison of statistical methods.**

Cet article est en préparation pour être soumis prochainement dans *Methods in Ecology and Evolution*. Il présente le modèle utilisé pour simuler des profils glucidiques, les algorithmes testés et les résultats des analyses par simulation.

**Paper 3 – No evidence of increased parasitoid sugar feeding nor parasitism in legume-cereal intercrops.** Cet article est également en préparation. Il présente et discute les expériences réalisées au laboratoire et sur le terrain.

**PAPER 2****Inferring insect feeding patterns from sugar profiles: a comparison of statistical methods**

➤ **In preparation for *Methods in Ecology and Evolution***

Martin LUQUET<sup>1</sup>, Nicolas PARISEY<sup>2</sup>, Maxime HERVÉ<sup>3</sup>, Emmanuel DESOUHANT<sup>4</sup>, Anne-Marie CORTESERO<sup>3</sup>, Ainara PEÑALVER-CRUZ<sup>5</sup>, Blas LAVANDERO<sup>5</sup>, Sylvia ANTON<sup>1</sup>, and Bruno JALOUX<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Agrocampus Ouest, Centre of Angers, Institute of Genetics, Environment and Plant Protection (IGEPP—Joint Research Unit 1349), 2 Rue André le Nôtre, 49045 Angers, France

<sup>2</sup> INRA, Institute of Genetics, Environment and Plant Protection (IGEPP—Joint Research Unit 1349), Domaine de la Motte, BP 35327, 35653 Le Rheu, France

<sup>3</sup> University of Rennes 1, Institute of Genetics, Environment and Plant Protection (IGEPP—Joint Research Unit 1349), Rue du Thabor, 35000 Rennes, France

<sup>4</sup> University Claude Bernard Lyon 1, Laboratory of Biometry and Evolutionary Biology (LBBE—CRNS Joint Research Unit 5558), 43 Boulevard du 11 Novembre 2018, 69622 Villeurbanne

<sup>5</sup> University of Talca, Institute of Biological Sciences, 2 Norte 685, Talca, Chile

\*Corresponding author, E-mail: [bruno.jaloux@agrocampus-ouest.fr](mailto:bruno.jaloux@agrocampus-ouest.fr), Tel: +33 2 41 22 55 76.  
Address: Agrocampus Ouest, Centre of Angers, 2 Rue André le Nôtre, 49045 Angers, France.



**Abstract:**

1 – Ecological investigations often require the identification of animal feeding patterns in natural conditions. These include individual resource uptake, but also the relative use of different resources by different individuals in a population or community.

2 – Recent biochemical developments allow predicting resource use from sugar-feeding insects in the field. Individual feeding history and food source are inferred by comparing their sugar profiles with those of lab-controlled individuals. The relative use of different resources at the population or community scale is then derived from individual assignments. Both those steps may generate estimation error and thus require accurate prediction rules. However, traditionally used decision rules are known to induce prediction bias.

3 – We evaluate the performance of these rules and compare them to alternative methods on simulated, realistic datasets with different features. We test different methods for individual classification, but also introduce a novel method from the emerging field of prevalence estimation, whose specific purpose is to estimate the relative frequency of different classes.

4 – We show that alternative methods substantially outperform the traditional decision rules to predict both insect individual feeding status (feeding history, food source) and population class distribution (relative frequency of insects with different feeding status). We also provide a simple decision tool to choose a method according to dataset size, variance, and biochemical method used.

5 – Alternative methods should sizeably increase prediction confidence in future studies. Besides, we advocate that such approaches can easily be generalized to a wider range of questions and systems.

**Keywords:** carbohydrates, classification, feeding inference, insect feeding, nutritional ecology, prevalence estimation.

## INTRODUCTION

A central challenge of nutritional ecology and foraging studies is to bridge the gaps between information about resources in the field (*e.g.* availability or quality), animal phenotypes, and ecological processes (Raubenheimer et al. 2009, Simpson et al. 2010). Indeed, identifying how animals actually use available resources in natural conditions and how their acquisition relates to individual traits such as behaviour (Rubio et al. 2005) and performances (Lee et al. 2008) is a key step to understand the processes that shape their ecological interactions (Lihoreau et al. 2015) and fitness (Bonduriansky et al. 2016). At higher levels of biological organization, understanding feeding patterns allows linking environmental features (such as resource disposition or diversity) to population or community processes (Simpson et al. 2006, 2010), and to unravel the role of those populations and communities in ecosystem functioning (*e.g.* de Cuyper et al. 2019).

While understanding resource uptake seems essential, studies on feeding patterns in the field (*e.g.* what, where and when do animals eat) are labour-intensive and limited for many animal groups. Furthermore, direct field observations may lead to an incomplete description of animal resource uptake (Traugott et al. 2013, de Cuyper et al. 2019). Consequently, feeding patterns are often inferred using indirect evidence such as molecular data, metabolic biomarkers or isotopic signature (Traugott et al. 2013, Nielsen et al. 2018). Recently, carbohydrate-feeding insects have become a relevant model for feeding studies in the field, as methodological developments greatly improved the possibility to detect individual sugar feeding (Wäckers & Steppuhn 2003, Foray et al. 2012, Pollier et al. 2016, Lee 2019). Such methods allowed unravelling the feeding patterns of natural enemies of herbivore insects, and their relationship with dispersal (*e.g.* Lavandero et al. 2005), energetic state (*e.g.* Winkler et al. 2009) and ecosystemic services such as biological control (*e.g.* Tena et al. 2015, Rand & Lundgren 2019). Nutrient quantification through those methods also helped unravelling their nutrient dynamics and energy budgets (Casas et al. 2005, Amat et al. 2012).

A common method to infer insect feeding patterns consists in relying on their body content in different sugars, also called sugar profile (Steppuhn & Wäckers 2004, Lee 2019). Indeed, insects have contrasted sugar compositions according to their feeding history (*i.e.* if they fed recently or not) and the food source they consumed (Olson et al. 2000, Wäckers & Steppuhn 2003). Thus, a classic approach is to use laboratory-controlled insects to establish relationships between their feeding history, food sources and sugar profiles. Such information can then be used to infer feeding history and food sources from field-collected insects (Wäckers & Steppuhn 2003, Hogervorst et al. 2007). Several biochemical methods allow obtaining insect sugar profiles, including colorimetric methods (anthrone tests - van Handel 1985, Foray et al. 2012, enzymatic methods - Philipps et al. 2018), or chromatography (notably high-performance liquid chromatography, HPLC, Wäckers & Steppuhn 2003, Heimpel *et al.* 2004).

The general approach consisting in using reference data to classify new individuals is called *supervised classification*. The reference data are used to train a *classifier*, *i.e.* a procedure to assign individuals into different *classes* – for instance, different feeding histories or food sources. To predict insect feeding classes, authors have traditionally relied on decision threshold classifiers, using ecologically relevant variables. For instance, the Glucose/Fructose ratio and the total sugar amount are used to distinguish lab insects that fed recently from those that did not (Steppuhn & Wäckers 2004), while the Erlose/Melezitose ratio may discriminate honeydew-fed from nectar-fed insects (Hogervorst et al. 2007). The classifier can then be used to assign field-collected individuals into one of

three feeding classes: “nectar-fed”, “honeydew-fed” or “unfed”. It is likely, however, that this method generate some amount of error: threshold-based approaches in other contexts have been shown to generate substantial misclassification rates (Sivakoff et al. 2011, Pollier et al. 2016). Still, the performance of such a method has never been evaluated in the context of sugar-feeding insects, and more sophisticated alternatives have rarely been employed (but see Lee et al. 2006, Desouhant et al. 2010). Yet, other classifiers have proven their efficiency in various domains inside and outside ecology, including Random Forests (Breiman et al. 2001), Gaussian Mixture Models (Fraley & Raftery 2007) and Discriminant Analyses (Liland & Indahl 2009).

Most of the time, the final purpose of nutritional ecology studies is not to predict the feeding class of individual insects. Rather, they aim at estimating class distribution, *i.e.* the relative frequency of insects with different feeding history or food source in a population or community – or in different populations or communities, in order to compare them (Hogervorst et al. 2007, Winkler et al. 2009, Rand & Lundgren 2019). This task is named *prevalence estimation* or *quantification* (Forman 2008, González et al. 2017). Usually, authors have estimated insect feeding class distribution by counting the field individuals assigned to each class (Lee et al. 2006, Hogervorst et al. 2007, Tena et al. 2013). This general prevalence estimation procedure is called Classify and Count (Forman 2008). Although this method may seem straightforward, Forman (2008) has demonstrated that Classify and Count nearly always leads to misjudged class distribution – notably when field data distribution deviates from the lab data, which is likely to happen in many situations. Simple methods (e.g. Adjusted Counting) have been developed to reduce this bias (Forman 2008, Barranquero et al. 2015), but they have scarcely been considered in ecological studies (but see Beijbom et al. 2015).

To ensure the soundness of ecological conclusions, predictions on field-collected organisms need to be as accurate and robust as possible. This requires using powerful prediction algorithms. In this study, we compared different methods to infer insect feeding patterns. First, we compared the classical threshold method with three alternative algorithms - Random Forests, Gaussian Mixture Models and Discriminant Analyses - for *classification*, *i.e.* prediction of insect individual feeding status (feeding history and food source). Second, using each of these classifiers, we tested two methods of *prevalence estimation* - Classify and Count and Adjusted Counting - to estimate the relative frequency of insects with different feeding status in natural populations or communities.

To assess the performance of these methods, we used a simulation approach to detect their ability to infer insect feeding patterns on a variety of datasets. We built a biologically explicit model which we parametrized using literature and original datasets, in order to generate different types of insect sugar profiles. We then evaluated the performance of the different methods according to i/dataset size, ii/biochemical method used for sample collection and iii/insect sugar profile variance. We finally provide a decision guide to help determining the best method and sampling effort needed, according to the biological model and the questions addressed. We also provide ready-to-use R scripts.

## MATERIALS AND METHODS

To compare the performances of different classifiers and prevalence estimation methods, we first built a simplified, yet mechanistic model (inspired by Sousa et al. 2008) in order to mimic the metabolic dynamics of different sugars. An original dataset obtained on the parasitoid wasp *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae, Appendix S1<sup>5</sup>) was used to help building this model. This model was used to simulate a wide range of datasets, on each of which method performances were evaluated.

### Model construction

We built a model to predict the values of seven sugars in the organism of insects receiving different feeding treatments (unfed, nectar-fed, honeydew-fed), at different times after feeding (0h, 1h, 12h, 24h, 48h). The model was divided into two components. First, we modelled the dynamics of the ‘main’ sugars glucose, fructose and sucrose. These sugars are the most abundant in the insect organism and both their absolute and relative quantities depend on its feeding status (Steppuhn & Wäckers 2004, Hogervorst et al. 2007, Desouhant et al. 2010). Thus, three parameters were included to control the overall dynamics of the sum (Glucose + Fructose + Sucrose) and the relative proportion of each of those sugars. Second, we modelled the ‘weak’ sugars erlose, maltose, stacchyoze and melezitose individually. Values for these sugars depend on feeding history and time after feeding, but they are also often null or not detectable (Wäckers et al. 2006, Hogervorst et al. 2007, Tena et al. 2013). Multiple parameters were used to consider these phenomena. However, we minimized the number of different parameters by considering only the main sources of variation in the *A. ervi* dataset. The whole set of equations can be found in Appendix S2. Overall, simulated data from this model showed good correspondence with the *A. ervi* dataset (Appendix S3).

A common pattern in previous works is that the profiles of insects that were starved from some time look like profiles of insects that never fed (Steppuhn & Wäckers 2004, Hogervorst et al. 2007). When partitioning the data into feeding classes, insects that fed for more than a certain time are generally no more considered as fed (Desouhant et al. 2010, Tena et al. 2013). Thus, we added a ‘detection time’  $t$  parameter to the model. When simulating data from the model, individuals that fed for less than  $t$  hours were labelled according to their feeding treatment (unfed, nectar-fed or honeydew-fed); all other individuals were labelled as ‘unfed’.

### Setting parameters to simulate different sugar profiles

In the literature, sugar profile variation concerned mainly glucose, fructose, glucose/fructose ( $GF$ ) ratio and total sugar amount. Those variables are usually the most important to discriminate feeding classes (Steppuhn & Wäckers 2004, Hogervorst et al. 2007, Desouhant et al. 2010) and correspond to the more mechanistic part of our model. Thus, only parameters corresponding to these variables were altered for the simulation analysis, while the others were estimated from the *A. ervi* dataset and kept constant. Model parameters were altered to modulate *within-class variance*, which

---

<sup>5</sup> All available appendices for all papers can be found at the end of the dissertation.

quantifies how much the individuals of a given class are similar to each other, and *between-class variance*, which quantifies how much individuals from different classes are different from each other (see Appendix S4 for the whole list of parameters). Both variance components determine the degree of overlap between the different feeding classes. Nine variance treatments were simulated in total, which allowed covering variation patterns found in previous studies and our datasets (Table 1). Visual representations confirmed that simulated datasets were similar to real examples of datasets (Appendix S4). For most treatments, we set the ‘detection time’ parameter as 12h, which seemed like a realistic threshold (Hogervorst et al. 2007). However, with this detection time it was difficult to obtain a set of parameters to simulate consistent datasets with high between-class variance. Thus, detection time was set as 1h for those treatments.

Table 1 Simulated variance of sugar profiles, with corresponding examples from literature and our own datasets.

| Between-class variance | Within-class variance | Corresponding example   |
|------------------------|-----------------------|---|
| High                   | Low                   | /   |
|                        | Medium                | <i>Episyrphus balteatus</i> (Hogervorst et al. 2007)                                      |
|                        | High                  | <i>Venturia canescens</i> (Desouhant et al. 2010)   |
| Medium                 | Low                   | <i>Microplitis mediator</i> (Steppuhn & Wäckers 2004)                                     |
|                        | Medium                | <i>Chrysoperla carnea</i> (Hogervorst et al. 2007)  |
|                        | High                  | <i>Aphytis melinus</i> (Tena et al. 2015)   |
| Low                    | Low                   | <i>Cotesia glomerata</i> (Steppuhn & Wäckers 2004)<br><i>Aphelinus mali</i> (Appendix S1) |
|                        | Medium                | <i>Aphidius ervi</i> (Hogervorst et al. 2007)   |
|                        | High                  | <i>Aphidius ervi</i> (Appendix S1)  |

## Simulation experiment

For each variance treatment, we simulated ‘lab’ datasets of nine different sizes regularly distributed from 27 to 270 individuals. They corresponded to datasets obtained either using HPLC or anthrone, thus containing a different set of sugar variables for prediction (3 for anthrone, 9 for HPLC, Appendix S4). Fifty datasets were simulated for each biochemical analysis, size and variance treatment, which resulted in 8100 datasets. The composition of all lab datasets was 1/3 unfed, 1/3 honeydew-fed and 1/3 nectar-fed (after setting detection time). Individuals were evenly distributed into the different time treatments: 0h, 1h, 12h, 24h and 48h. For a detection time of 12h, this means that the ‘unfed’ class contained unfed individuals as well as individuals starved for more than 12h, and that ‘fed’ individuals contained individuals fed then starved for 0, 1 and 12h. Four classifiers were trained on each dataset (see ‘classifiers’ section below): Threshold, Random Forests (RF), Gaussian Mixture Models (GMM) and Discriminant Analyses (DA).

Every classifier was then tested on twelve simulated ‘field’ datasets containing 450 samples each. To test for the robustness of the different methods to prevalence variation, those datasets had contrasted class distributions (Table 2). Prevalence on each test dataset was estimated for each classifier, using both Classify and Count and Adjusted Counting (see ‘prevalence estimation methods’ section below). The combination of classifier and prevalence estimation method used are reported as RF-Unadjusted (Classify and Count), RF-Adjusted (Adjusted Counting), etc.

Table 2 Composition of the test 'field' datasets. H = Honeydew-fed insects, N = Nectar-fed insects, U = Unfed insects

|   | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8    | 9    | 10 | 11 | 12 |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|----|----|----|
| H | 1/3 | 1/4 | 1/4 | 2/3 | 1/3 | 1/3 | 2/3 | 1/10 | 8/10 | 0  | 1  | 0  |
| N | 1/3 | 1/4 | 1/2 | 1/3 | 0   | 2/3 | 0   | 1/10 | 1/10 | 0  | 0  | 1  |
| U | 1/3 | 1/2 | 1/4 | 0   | 2/3 | 0   | 1/3 | 8/10 | 1/10 | 1  | 0  | 0  |

All analyses were performed using R software (R Core Team, 2019). Packages used to train the classifiers were *randomForest* (Liaw & Wiener 2002), *RVAideMemoire* (Hervé 2019) and *mclust* (Scrucca et al. 2016). All other scripts and functions used are in Appendix S5.

### Classifiers

The following classifiers were trained on each lab dataset:

*Decision thresholds (classical approach).* We applied the most common threshold approach found in the literature, based on relevant variables according to the biochemical method (Steppuhn & Wäckers 2004, Hogervorst et al. 2007, Desouhant et al. 2010, Tena et al. 2013). A combination of two variables was used to distinguish 'unfed' insects from other insects. Those variables were a) the total sugar amount (HPLC datasets) and b) the ratio Glucose / (Glucose + Fructose) or *GF Ratio* (HPLC datasets), or the ratio Glucose/Residual Sugars (anthrone datasets). A second threshold was then designed to distinguish 'nectar-fed' from 'honeydew-fed' insects, among individuals that were not classified as 'unfed'. The Fructose/Total Sugar ratio was used to design this threshold on anthrone datasets (Lee et al. 2006). Given the high number of null values for melezitose, we did not use the Erllose/Melezitose ratio (Hogervorst et al. 2007, Tena et al. 2013) as a food source marker for HPLC datasets. Instead, we computed the ratio (Maltose + Erllose + Melezitose)/Total Sugar, which gave better performance in preliminary tests. This was chosen because those sugars are more abundant in honeydew than in other resources (Wäckers & Steppuhn 2003, Wäckers et al. 2006, Hogervorst et al. 2007).

*Random forests (RF).* Random forests (Breiman 2001) are a machine learning method based on the aggregation of many decision trees – here, classification trees (Breiman et al. 1984). Classification trees consist in automatically and iteratively dividing the data in binary splits ("nodes") along the relevant dimensions (e.g. GF ratio, total sugar amount, etc.), to obtain groups of individuals sharing the same class. In random forests, many different trees (here, 1000) are produced on bootstrap subsamples of the initial dataset, and tree nodes split the data using only a subset of randomly chosen predictive variables. The final prediction of the algorithm for a particular individual is the class that was most "voted" by the trees ensemble. For instance, if a majority of trees predicts an individual to be 'nectar-fed', it is assigned as 'nectar-fed'.

*Gaussian Mixture Models (GMM).* In Gaussian Mixture Models (Fraley and Raftery, 2007), each individual (each insect's sugar profile) of a certain class (e.g. « nectar-fed ») can be considered as drawn from one multivariate Gaussian distribution with as many dimensions as measured sugars. As a

supervised classification, the goal is then to estimate the Gaussian distribution parameters, given the observed data. The term “Mixture” means, in that context, that many Gaussian distributions may be allowed for one particular class (instead of only one), hence describing a more complex phenomenon. For a given set of data and some reasonable constraints (e.g. equal volume but different shape for the Gaussians), GMM parameters are readily estimated and procedure for model selection, to find the best model among candidates (e.g. differing in term of number of Gaussians per class), is straightforward. Thereafter, GMM being probabilistic in nature, a probability of belonging to a certain class given the underlying parametrized Gaussians is estimated for any new individual. Conventionally, an individual was assigned to the class with highest probability.

*Discriminant analyses (DA).* Discriminant analyses are a family of statistical methods that build linear combinations of variables allowing the best discrimination of two or more groups of individuals. Optionally, they can also classify naive individuals. Here, we combined two complementary discriminant analyses: Powered Partial Least Squares - Discriminant Analysis (PPLS-DA) and Linear Discriminant Analysis (LDA). PPLS-DA (Liland & Indahl 2009) is well suited to discriminate feeding groups based on compounds that are as or more numerous than samples, and that are multicollinear. However, it is not a classification method since it lacks an objective rule to assign naive samples to a given group (Indahl et al. 2007). LDA (Fisher 1936) have opposite properties: it is not suited when variables are in equal or greater number than individuals and when these variables are multicollinear, but it is a classification method (Indahl et al. 2007). The combination we used here consisted in a first step performing discrimination and reduction of the chemical information to few, uncorrelated components (using PPLS-DA); then a second step performing classification based on sample coordinates on the components previously computed (using LDA). To increase prediction robustness, we used cross-model validation (2CV, Westerhuis et al. 2008), which resulted in 6 slightly different couples of PPLS-DA/LDA models. The whole 2CV procedure was repeated 10 times, resulting in 60 couples of models of which predictions were averaged.

### **Prevalence estimation methods**

Once a classifier was applied, ‘field’ class distribution was estimated in two ways:

*Classify and Count (CC).* Individuals assigned to each class were counted. The proportion of individuals labelled in a given class was estimated as the prevalence of that class.

*Adjusted Counting (AC)* consists in correcting for errors that were likely made when assigning individuals to each class (Forman 2008, Esuli & Sebastiani 2015): e.g. honeydew-fed insects that were classified as nectar-fed, etc. Indeed, it can be estimated from the lab dataset at what rate such errors occur, for each combination of classes. AC thus relies in counting how many individuals are labelled in each class by the classifier, and then adjusting those results thanks to the error rates estimated on the lab data. AC was however not always computable, notably when one class prevalence was estimated as 0 in the lab dataset. It also sometimes returned values outside the [0,1] range: when this was the case, we scaled the results to make them fall within that range, following Forman’s suggestion (2008).

### **Performance evaluation**

Classifier performance for individual classification were measured for each test set by computing their accuracy, which corresponds to the fraction of true positives (*i.e.* correctly classified insects) over all classified insects. Prevalence estimation performances were estimated by computing the Kullback-Leibler Divergence (*KLD*), which is a usual metrics for quantification performance (Forman 2008, González et al. 2017), and the Bray-Curtis Dissimilarity (*BC*), which is notably used in ecology to compare species distribution between different sites (*e.g.* Beijbom et al. 2015).

### **Methodological decision tool**

For each kind of biochemical analysis, a heatmap was constructed to identify which method gives the best prevalence estimation for each situation (*i.e.* dataset size and insect profile). To do so, we applied the following rules:

1. A lowest mean KLD and BC was associated with a better prevalence estimation.
2. A lowest variance in KLD and BC was also associated with a better performance. Indeed, it was considered that reduced variance is associated with an increased confidence in expected performance values.
3. If a method gave both the best KLD and BC for a given situation (mean and variance), it was generally chosen as the best method for that situation.
4. However, we remained parsimonious. If for a situation *X*, a method *M1* gave the best performance, but a second method *M2* was the best for all ‘close’ situations (*i.e.* the surrounding cells on the heatmap), and this method *M2* gave similar performance to *M1* for situation *X*, *M2* was selected as the best method for *X*.
5. If two methods gave similar performances (in terms of mean of variance) over a wide range of situations, they were both selected as best methods.
6. In some situations, two different methods gave the best KLD and best BC. In that case, both methods were chosen as alternative ‘best’ methods.

To order dataset treatments on the heatmaps, we computed a ‘noise index’ for each of them that reflects the level of uncertainty that can be expected *a priori* when predicting a given dataset. To do so, we estimated the part of dataset variance that is not explained by the different classes (Appendix S6). This was done by computing the proportion of unconstrained inertia using Redundancy Analyses (RDA, *vegan* package, Oksanen et al. 2018).

## **RESULTS**

### **Method relative performance depends on lab dataset size and biochemical method**

Some consistent patterns were observed when looking at method performance according to the lab dataset size, for all insect variance treatments and test dataset distributions (Fig. 1).

Regardless of the biochemical method used for data acquisition, classifier accuracy globally followed the same decreasing order. Random Forest always gave the best performance (highest



accuracy), followed by Discriminant Analysis, Gaussian Mixture Models, and Threshold (Fig. 1A). The only situation for which Threshold was not the worst classifier was on small HPLC datasets (< 30 sample size). There was almost no relationship between classifier accuracy and dataset size in anthrone tests, while increasing dataset size allowed better accuracy in HPLC for GMM, DA and RF. On the other hand, Threshold mean accuracy was higher on small datasets (anthrone and HPLC).

The relative performance of tested methods followed the same trend in terms of prevalence estimation (Fig. 1B). When looking at BC and KLD obtained with the Classify and Count method (CC), classifier relative performance followed the same order as for accuracy, regardless of the metrics or biochemical method: RF had the best performance (lowest BC and KLD), followed by DA, GMM and Threshold. Adjusted Counting allowed outperforming Classify and Count in many situations, but results were more contrasted according to the biochemical analysis and metrics considered. In HPLC, both RF-Adjusted and DA-Adjusted gave better performance than the unadjusted RF, in terms of BC and KLD, but only when datasets reached a certain size (60 for BC, 90 for KLD). On anthrone datasets, RF-Adjusted outperformed all other methods when looking at BC when dataset size exceeded 60. However, RF-Unadjusted gave the lowest KLD when dataset size was <150, while GMM-Adjusted gave the lowest KLD when size was > 150. Besides, prevalence estimation *via* AC was almost always computable for RF, DA and GMM (>99% times), while for the threshold method it was computable only in 85% of cases (anthrone datasets) and in 35% of cases (HPLC datasets) (Appendix S7).

In addition, performance variance differed according to the method employed. Methods' variance was highly and negatively correlated to their mean performance: higher performance was most of the time associated to reduced variance (Appendix S7). However, both on HPLC and anthrone datasets and for most classifiers, KLD variance using AC became lower than KLD variance using CC only when dataset sample size was at least 150. Threshold performance showed much higher variation than any other method, both for classification and prevalence estimation (Appendix S7).

## Method relative performance depends on the variance in sugar profiles

Although general patterns were observed, method performances were contrasted according to the variance of insect profiles. As an example, Fig. 2 shows the size-performance relationships in terms of BC for each variance treatment on anthrone datasets.

As expected, method performance was higher on datasets with low between-class variance and high within-class variance. On those datasets, GMM, RF and DA gave sensibly similar results (BC very close to 0), either using CC or AC. When dataset noise increased (higher within-class variance or lower between-class variance), BC values became higher, and classifier relative performance became more and more contrasted. Differences between AC and CC methods also increased along with dataset noise. Consequently, inter-profile contrasts were not the same depending on the method considered. For instance, on large datasets (size=270), there was a 0.5 BC difference between 'high between-low within' and 'low between-high within' variance treatments using the Threshold-Unadjusted method (as an example, this corresponds to estimate a 0.33/0.33/0.33 class distribution as 0.1/0.005/0.85); while this difference was 0.1 with RF-Adjusted (0.25/0.4/0.35 estimation). In most cases, classifier relative performance was the same as in Fig. 1 for most variance treatments.

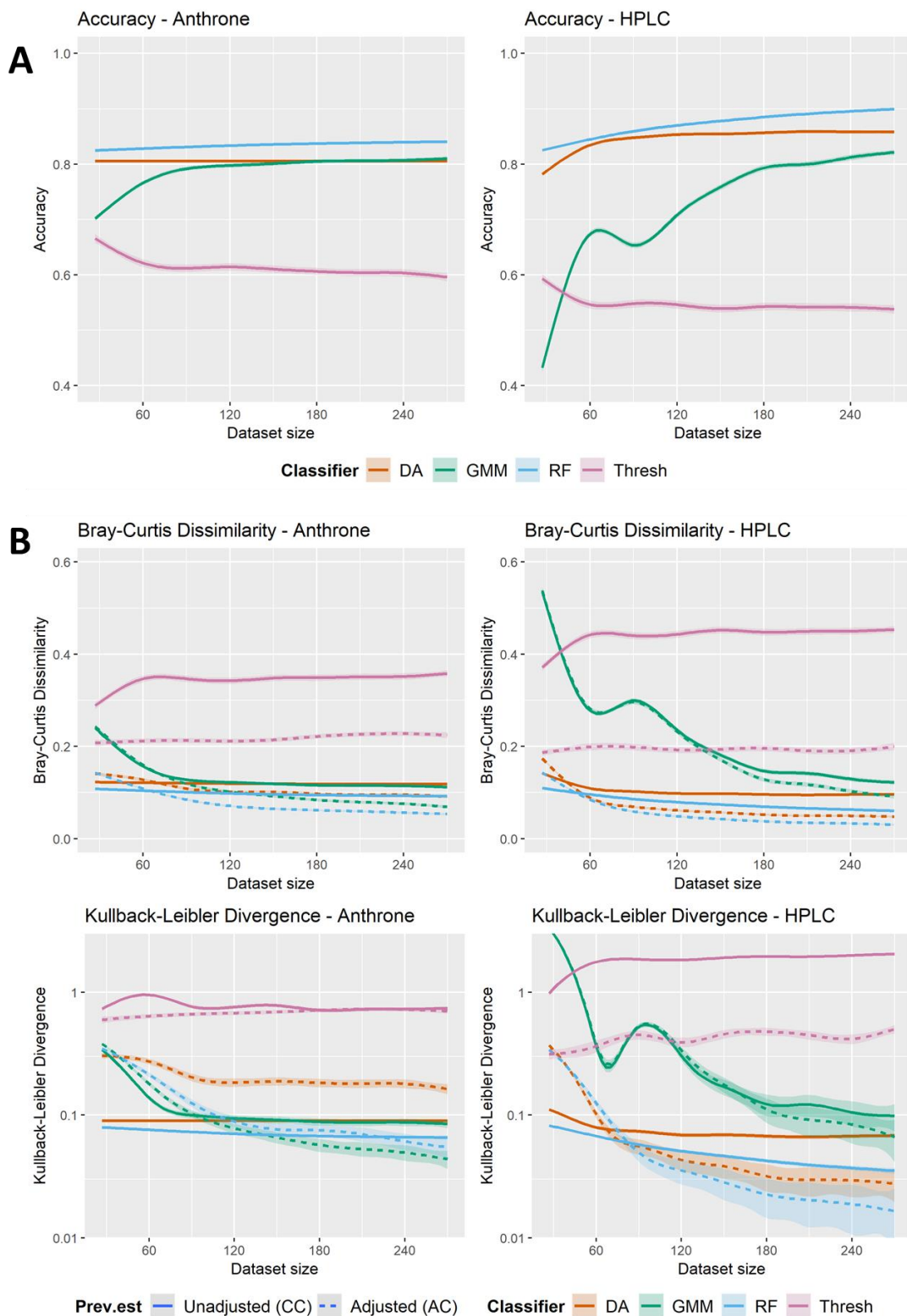


Figure 1 Method performance according to dataset size for anthrone and HPLC datasets. Curves represent smoothed conditional means + 95IC (GAM smoother estimation, mgcv package, Wood 2006). A) Accuracy performance. DA= Discriminant Analysis, GMM = Gaussian Mixture Model, RF = Random Forest, Thresh = Threshold. B) Prevalence estimation performance, measured using Bray-Curtis Dissimilarity and Kullback-Leibler Divergence. Values are displayed on the log scale for Kullback-Leibler Divergence (thus, apparent increasing of confidence intervals is only a visual effect) Prev.est = Prevalence estimation, CC = Classify and Count, AC = Adjusted Counting.

Overall, the same trends were found for the other metrics and biochemical method (Appendix S8). In terms of accuracy, RF always gave the same performance, sometimes equalled by DA and GMM on datasets with low within-class variance or high between-class variance. In terms of prevalence estimation, method relative performance trends were the same as in Fig. 1, though results were more contrasted for KLD on anthrone datasets because of high variation of ‘AC’ methods (Appendix S8).

Again, there was a strong negative correlation between method average performance and variance: more performant methods were associated with reduced variance for all insect sugar profiles (Appendix S8). However, GMM had less variance than RF on anthrone datasets. Threshold performance variance was particularly higher than other methods, though GMM performance variance was also high on HPLC datasets.

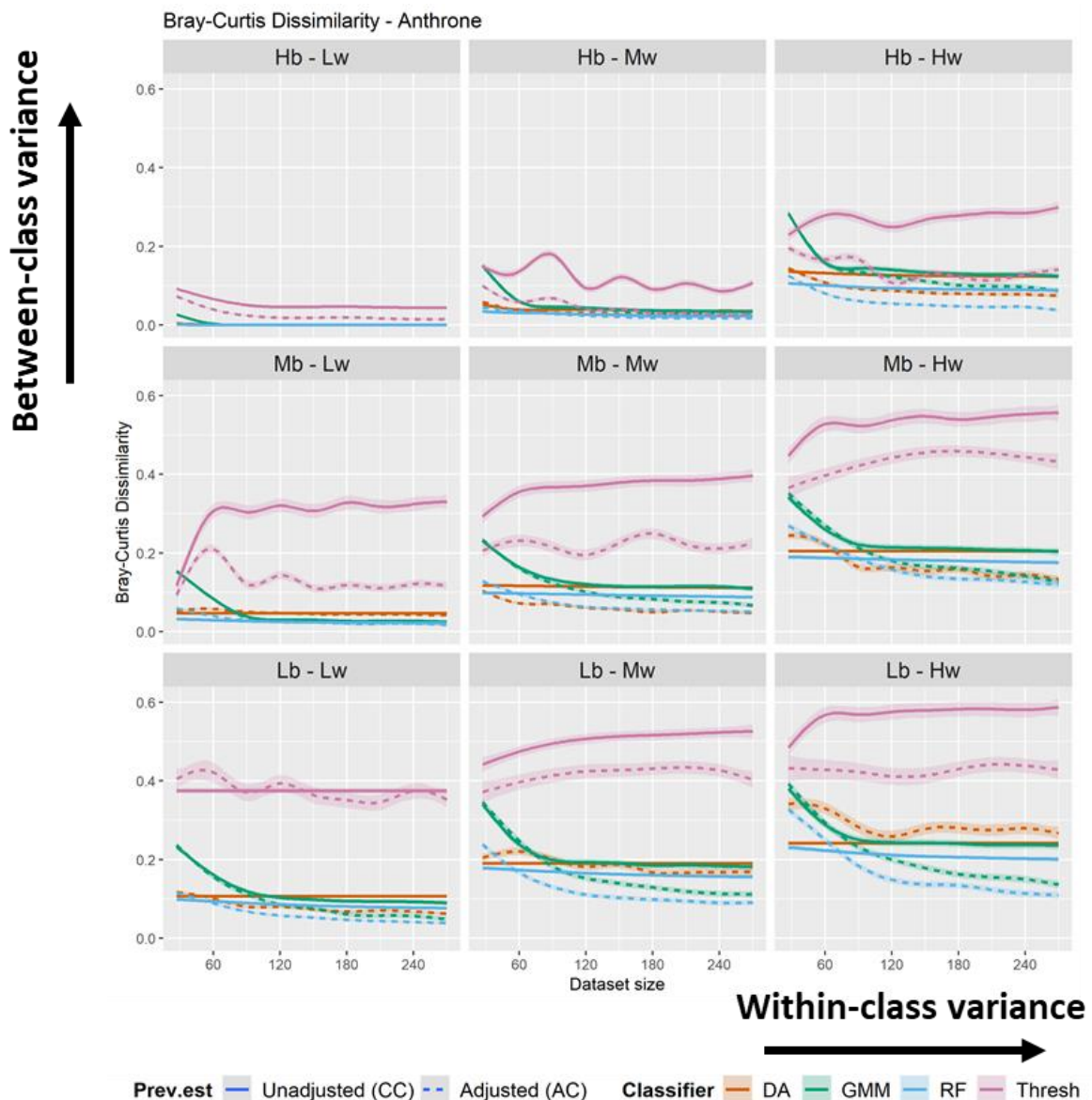


Figure 2 Average Bray-Curtis Dissimilarity obtained for each insect profile as a function of dataset size, on anthrone datasets. Curves represent smoothed conditional means + 95IC. Labels correspond to the different variance treatments: “Hb” = High between-class variance, “Lw” = Low within-class variance, “Mb” = Medium between-class variance, etc. DA= Discriminant Analysis, GMM = Gaussian Mixture Model, RF = Random Forest, Thresh = Threshold. Prev.est = Prevalence estimation, CC = Classify and Count, AC = Adjusted Counting.

### New method performances depend less on the field data

For any insect variance treatment and dataset size, performance varied according to the test dataset (= ‘field’ data) class distribution. It was notably true for the Threshold procedure, for which in certain situations, this method led to almost perfect or almost entirely false classification or prevalence estimation depending on the test dataset (Appendix S9). Other methods were less sensitive to shifts in field data distribution, but differences could be observed between CC and AC methods for prevalence estimation. Indeed, test class distribution explained a lot of BC and KLD variance when applying CC methods, while there was hardly any relationship between test class distribution and performance when using AC methods (Fig. 3 for an example), though it was clearer for BC than for KLD (Appendix S9). In other words, CC methods gave sensibly different estimations of prevalence depending on the simulated ‘field’ data composition, while this was less the case for AC methods.

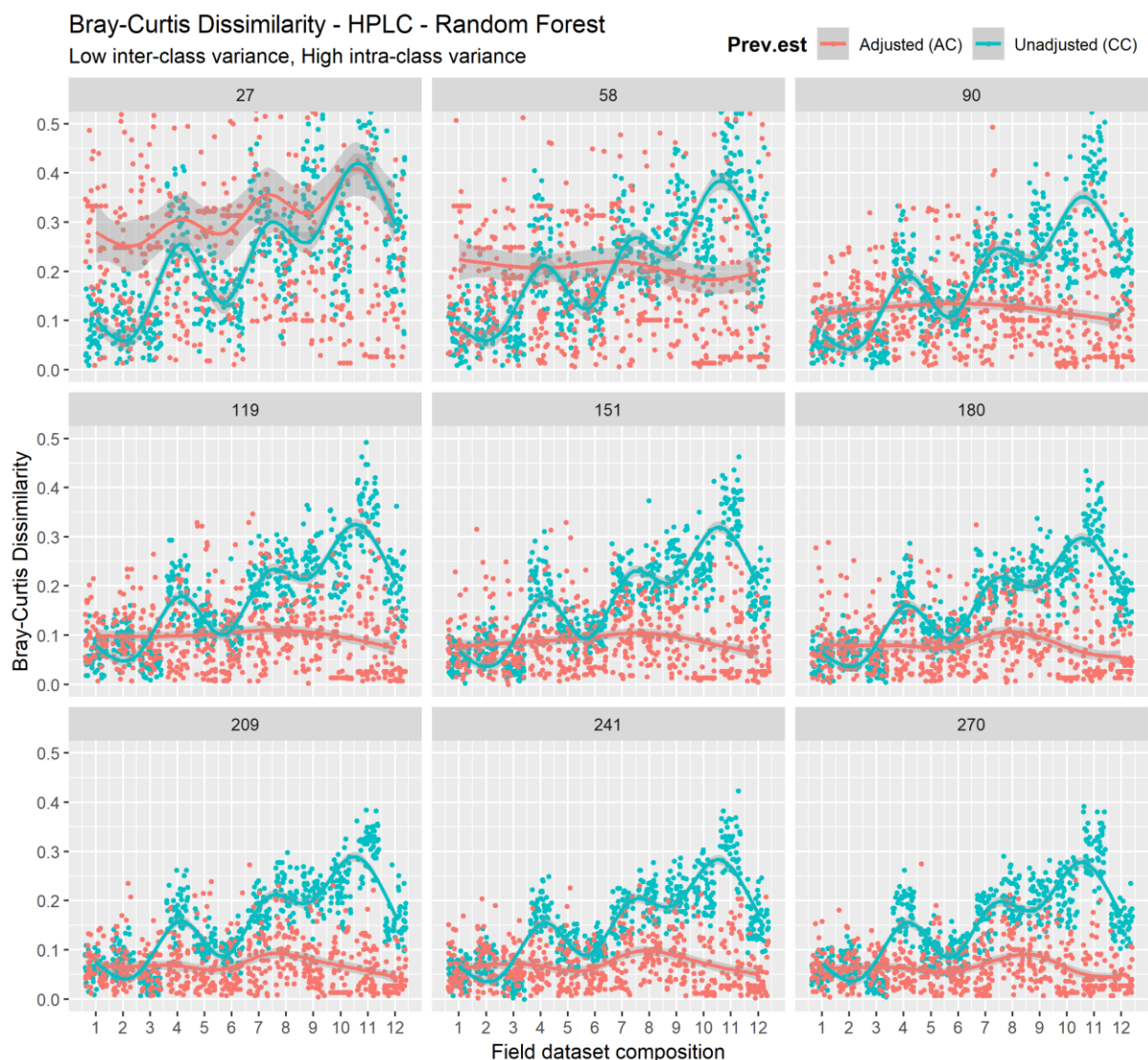


Figure 3 Bray-Curtis dissimilarity measured on twelve simulated ‘field’ datasets with different class distribution (see Table 2 for dataset composition details), using Random Forests (adjusted or not), trained on HPLC datasets with different sample sizes (indicated above each graph), for one insect variance treatment (Low between-class variance, High within-class variance). Prev.est = Prevalence estimation, CC = Classify and Count, AC = Adjusted Counting. Only the 0 to 0.5 scale is shown on the y-axis and a smoother was added for each dataset size and prevalence estimation method, for visualisation purposes.

### Methodological decision tool

Consistent patterns were observed when choosing the best method for each situation (Fig. 4 - exact BC and KLD values for each situation are presented in Appendix S10). RF-Unadjusted was always selected as the best method for small dataset sizes. However, the size and ‘noise’ thresholds for which alternative methods became more performant depended on the biochemical method used. Overall, HPLC gave better prevalence estimation than anthrone tests, notably on ‘noisy’ profiles and when dataset size increased. Regarding classification accuracy, Random Forest was always the most performant method (Appendix S10).

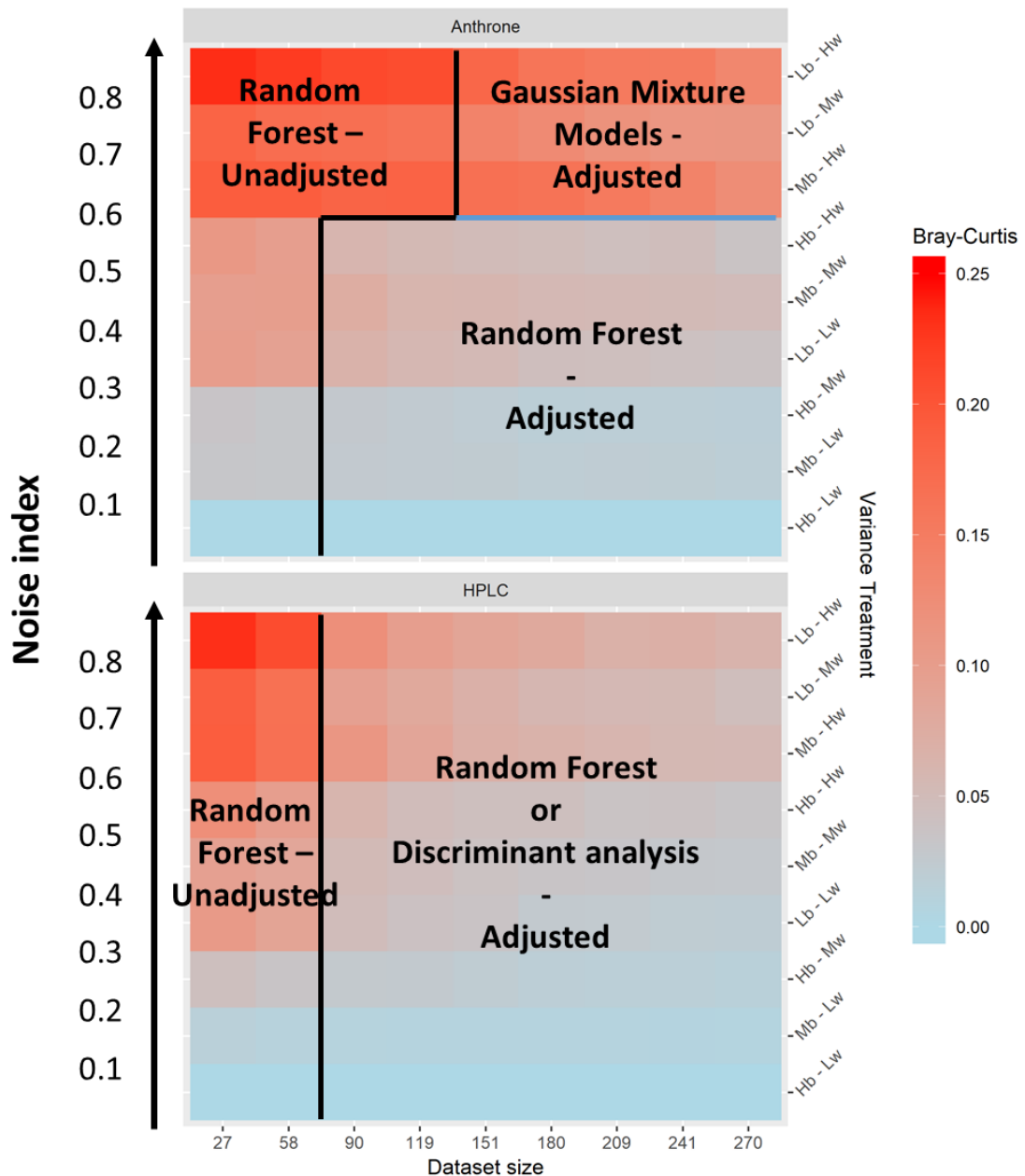


Figure 4 Heatmap showing the mean Bray-Curtis Dissimilarity (BC) value obtained for each dataset size (x-axis) and insect variance treatment (right y-axis), using for each situation the method that was identified as the most performant. Correspondence between colour and BC is described on the bar on the right. Insect treatments were ordered according to their estimated ‘noise index’ (left y-axis, Appendix S6). Hb” = High between-class variance, “Lw” = Low within-class variance, “Mb” = Medium between-class variance, etc.

## DISCUSSION

Our aim was to compare the performances of different methods to infer insect sugar feeding patterns, both for classification (estimation of individual feeding history and food source) and prevalence estimation (estimation of the relative frequency of insects with different feeding histories and food sources in a population or community). Our results indicate that alternative approaches can sizeably outperform the classical approach to predict those feeding patterns, both for classification and prevalence estimation. For classification, random forests always were the best method and led to substantial improvement (1.3 to 1.6-fold accuracy increase). For prevalence estimation, method relative performances depended on the lab dataset size, variance, and chemical method used. However, in any situation, one of the new methods outperformed the classical approach (as displayed on the heatmap), often with a large effect size (notably on ‘noisy’ datasets). These methods also not only increased mean performance, but also reduced prediction variance. When using the classical approach, performance varied a lot from one lab dataset to another, and was very dependent on the field dataset composition. These results are consistent with previous limits shown in other contexts for threshold methods (Sivakoff et al. 2011) and the Classify and Count method (Forman 2008, Gonzalez et al. 2017). The use of new classifiers allowed reducing variance among different lab datasets, while the use of Adjusted Counting reduced prediction variability across different field datasets.

These results imply that using these methods greatly increase the level of confidence that can be expected when inferring insect feeding patterns, whatever the field dataset on which the method is applied. Insect feeding studies often aim at comparing the class distribution of populations or communities between different sites (Hogervorst et al. 2007, Tena et al. 2015) or different periods (Tena et al. 2013). Estimating the prevalence for each condition more accurately will allow a better evaluation of the magnitude of the differences between such conditions (Forman 2008), and thus increase confidence in ecological inferences (*e. g.* reducing the risk to detect an effect when there is none, and vice-versa). Insect feeding studies have focused less on individual classification tasks: however, our results suggest that the methods we employed can deliver high levels of accuracy in some situations (>0.9) and could be used to target questions at the individual level. Another advantage of the methods we employed is that they include features that allow a robust estimation of classification error directly on the lab dataset (Breiman et al. 2001, Westerhuis et al. 2008).

Some general patterns were observed when evaluating the best prevalence estimation methods. AC usually worked poorly when lab datasets were small, which is most likely due to the high uncertainty in the estimation of error rates (Forman 2008). Besides, though RF usually gave the best performance, it was outperformed by GMM on ‘noisy’ datasets obtained with anthrone tests (notably through reduced prediction variance), indicating that this latter method may handle better such noisy datasets when few variables are available. Despite this variation, patterns were consistent enough so that it was possible to build a simple decision tool to choose a method in various situations. This decision tool can be used for several purposes: a) choosing a method according to the features of a given lab dataset and estimating expected performances; b) choosing in advance the needed dataset size to attain a certain performance; c) choosing an adequate biological model for a given question (for instance, if one has prior information on data noise for a particular species). Though only mean values are displayed on the heatmap, we also provide standard deviations (Appendix S10): these can be used

as estimations to quantify uncertainty when assessing class distribution (and thus the level of confidence that can be expected when making inferences). In complement to that tool, we provide a script so that authors can estimate the ‘noise index’ of their own dataset before choosing a method (Appendix S11).

We simulated many situations so that our results can be generalized to a wide variety of datasets. However, it must be emphasised that this tool is indicative, as displayed values are only estimations restricted to our modelling framework. We limited our study to three feeding classes, and we did not cover all the variation that can occur in insect sugar profiles. For instance, different species have different capacities for synthesis and retention of erlose and melezitose (Wäckers 2006, Hogervorst et al. 2007), which conditions the importance of these variables for further predictions. Still, observed patterns are consistent enough so that we can be confident in generalizing this tool at least as a general guideline to choose a method. However, method choice may also depend on the exact goal of future users. Indeed, one apparently contradictory result was observed when measuring performances: sometimes, one method gave the lowest BC (Random Forest), while another method gave the lowest KLD (GMM). This is because these two metrics give different weights to the estimation of abundant and rare classes (McCune & Grace 2002). KLD notably appeared to be sensitive to the estimation of rare classes, returning high values when a non-null class was estimated as 0 (Appendix S9). If the purpose of future users is to have a general picture of the distribution shape, they may rely on BC values displayed on the heatmap. If they want to be sure not to miss a class, they may instead rely on KLD values (Appendix S10).

Another limit of all approaches we used (the classical one and the alternative methods) is that they assign individuals to one feeding class only: at present, they cannot be used to evaluate individual mixed diets. Thus, they are mainly useful to detect recent feeding (the time span that “recent” covers being dependent on the biological model). In future developments, assigning multiple food sources to an individual should be possible using *multi-label classifiers* (Tsoumakas & Katakis 2007, Read et al. 2011). Some attempts have also been made for *multi-class prevalence estimation* (Forman 2008, Esuli & Sebastiani 2015), but have for now scarcely been evaluated. As advocated by Nielsen et al. (2018), thoroughly controlled experiments where animals are fed with various proportions of different resources, then subsequently analysed with diet tracing methods should give great insight on the value of such methods to reveal mixed, complex diets.

Despite the promise for higher performance and the simple decision tool, methods we presented here may at first glance seem technically challenging for the reader, who may feel discouraged to use them. They are actually simple to implement: their application on a particular dataset requires only a few lines of code, which can be found in the scripts we provided (appendix S11). Classifiers we used require very few tuning: the reader can readily use our scripts without changing any value. Regarding prevalence estimation, we chose to restrict to the AC method, which is easy both to understand and to implement, while still improving results. It must be acknowledged however that recent developments showed that more theoretically grounded methods could improve prevalence estimation (Barranquero et al. 2015), but they are more complex and, for now, not implementable for every situation (Gonzalez et al. 2017). In our experiments, AC worked in most situations when using appropriate classifiers, but it must be noted that this method performs poorly if the training dataset is particularly imbalanced (Barranquero 2015). If future users aim at using AC, they should balance their lab dataset as much as possible, *i.e.* having roughly the same number of

individuals for each feeding treatment. If, still, the lab dataset is highly imbalanced, it is probably better to use CC (Forman 2008).

In addition to better performance and ease of use, an advantage of the methods presented here is their high flexibility. Here, we considered a three-class problem (unfed, honeydew-fed, nectar-fed), using a small set of sugar variables as predictors. However, these approaches are not limited in the number of classes they can predict (more feeding treatments can be added), and they can deal with a high number of predictive variables. Such variables could be for instance, other metabolites such as lipids, proteins or glycogen, which can easily be measured on insect organisms (Foray et al. 2012, Lee 2019). Other variables such as isotopic signature may also be used complementarily to metabolic data: integration of multiple diet tracing methods often provides new insights to reveal feeding interactions (Hambäck et al. 2016, Kainz et al. 2017, Nielsen et al. 2018). All methods we presented are well suited to deal with various kinds of predictor variables (Fraley & Raftery 2007, Geurts et al. 2009, Hervé et al. 2018). Thus, such approaches may be applied to various kinds of food sources, and probably biological models. In principle, they can be used for any organism for which reference data can be obtained about feeding-related parameters – even if the data is noisy and that class profiles overlap. This may be particularly useful when identified “signature” markers for particular resources are unavailable, for practical or biological reasons (Phillips et al. 2014, Nielsen et al. 2018). All the advantages of the methods we presented (performance, ease of use, generalisability) should thus facilitate and extend the use of such approaches to tackle various biological questions.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work was funded by the PROGRAILIVE project supported by the European Union and the Regional council of Brittany and managed by the association “Pôle Agronomique de l’Ouest”. We thank all partners associated with the project. We are also grateful to Pascale Satour (IRHS, Angers) for her central implication in the data collection.

## AUTHORS’ CONTRIBUTIONS

All authors conceived the ideas; ML, NP, ED and MH designed methodology; ML and APC collected the data; ML analysed the data and led the writing of the manuscript. All authors contributed critically to the drafts and gave final approval for publication.

## SUPPLEMENTARY INFORMATION

Appendices S1 to S4 can be found at the end of this dissertation, p.173. Other appendices (tables containing lots of numbers, figures and scripts) will be stored online with the paper.



## BIBLIOGRAPHY

- Amat, I., Besnard, S., Foray, V., Pelosse, P., Bernstein, C., & Desouhant, E. (2012). Fuelling flight in a parasitic wasp: which energetic substrate to use? *Ecological Entomology*, 37(6), 480–489.
- Barranquero, J., Díez, J., & José del Coz, J. (2015). Quantification-oriented learning based on reliable classifiers. *Pattern Recognition*, 48(2), 591–604.
- Beijbom, O., Hoffman, J., Yao, E., Darrell, T., Rodriguez-Ramirez, A., Gonzalez-Rivero, M., & Guldberg, O. H.. (2015). Quantification in-the-wild: data-sets and baselines. *ArXiv:1510.04811 [Cs]*.
- Bonduriansky, R., Runagall-McNaull, A., & Crean, A. J. (2016). The nutritional geometry of parental effects: maternal and paternal macronutrient consumption and offspring phenotype in a neriid fly. *Functional Ecology*, 30(10), 1675–1686.
- Breiman, L. (2001). Random Forests. *Machine Learning*, 45(1), 5–32.
- Breiman, L., Friedman, J., Stone, C. J., & Olshen, R. A. (1984). *Classification and Regression Trees*. Taylor & Francis.
- Casas, J., Pincebourde, S., Mandon, N., Vannier, F., Poujol, R., & Giron, D. (2005). Lifetime Nutrient Dynamics Reveal Simultaneous Capital and Income Breeding in a Parasitoid. *Ecology*, 86(3), 545–554.
- de Cuyper, A., Clauss, M., Carbone, C., Codron, D., Cools, A., Hesta, M., & Janssens, G. P. J. (2019). Predator size and prey size–gut capacity ratios determine kill frequency and carcass production in terrestrial carnivorous mammals. *Oikos*, 128(1), 13–22.
- Desouhant, E., Lucchetta, P., Giron, D., & Bernstein, C. (2010). Feeding activity pattern in a parasitic wasp when foraging in the field. *Ecological Research*, 25(2), 419–428.
- Esuli, A., & Sebastiani, F. (2015). Optimizing Text Quantifiers for Multivariate Loss Functions. *ACM Transactions on Knowledge Discovery from Data*, 9(4), 1–27.
- Fisher, R. A. (1936). The Use of Multiple Measurements in Taxonomic Problems. *Annals of Eugenics*, 7(2), 179–188.
- Foray, V., Pelisson, P.-F., Bel-Venner, M.-C., Desouhant, E., Venner, S., Menu, F., ... Rey, B. (2012). A handbook for uncovering the complete energetic budget in insects: the van Handel's method (1985) revisited. *Physiological Entomology*, 37(3), 295–302.
- Forman, G. (2008). Quantifying counts and costs via classification. *Data Mining and Knowledge Discovery*, 17(2), 164–206.
- Fraley, C., & Raftery, A. (2007). Model-based Methods of Classification: Using the **mclust** Software in Chemometrics. *Journal of Statistical Software*, 18(6).
- González, P., Díez, J., Chawla, N., & del Coz, J. J. (2017). Why is quantification an interesting learning problem? *Progress in Artificial Intelligence*, 6(1), 53–58.

- Hambäck, P. A., Weingartner, E., Dalén, L., Wirta, H., & Roslin, T. (2016). Spatial subsidies in spider diets vary with shoreline structure: Complementary evidence from molecular diet analysis and stable isotopes. *Ecology and Evolution*, *6*(23), 8431–8439.
- Heimpel, G., Lee, J., Wu, Z., Weiser, L., Wäckers, F., & Jervis, M. (2004). Gut sugar analysis in field-caught parasitoids: Adapting methods originally developed for biting flies. *International Journal of Pest Management*, *50*(3), 193–198.
- Hervé, M. (2019). RVAideMemoire: Testing and Plotting Procedures for Biostatistics. R package version 0.9-73. <https://CRAN.R-project.org/package=RVAideMemoire> (Version 0.9-73).
- Hervé, M. R., Nicolè, F., & Cao, K.-A. L. (2018). Multivariate Analysis of Multiple Datasets: a Practical Guide for Chemical Ecology. *Journal of Chemical Ecology*, 1–20.
- Hogervorst, P. a. M., Wäckers, F. L., & Romeis, J. (2007). Detecting nutritional state and food source use in field-collected insects that synthesize honeydew oligosaccharides. *Functional Ecology*, *21*(5), 936–946.
- Indahl, U. G., Martens, H., & Næs, T. (2007). From dummy regression to prior probabilities in PLS-DA. *Journal of Chemometrics*, *21*(12), 529–536.
- Kainz, M. J., Hager, H. H., Rasconi, S., Kahilainen, K. K., Amundsen, P.-A., & Hayden, B. (2017). Polyunsaturated fatty acids in fishes increase with total lipids irrespective of feeding sources and trophic position. *Ecosphere*, *8*(4), e01753.
- Lavandero, B., Wratten, S., Shishehbor, P., & Worner, S. (2005). Enhancing the effectiveness of the parasitoid *Diadegma semiclausum* (Helen): Movement after use of nectar in the field. *Biological Control*, *34*(2), 152–158.
- Lee, J. C. (2019). What We Can Learn From the Energetic Levels of Insects: A Guide and Review. *Annals of the Entomological Society of America*, *7*.
- Lee, J. C., Andow, D. A., & Heimpel, G. E. (2006). Influence of floral resources on sugar feeding and nutrient dynamics of a parasitoid in the field. *Ecological Entomology*, *31*(5), 470–480.
- Lee, K. P., Simpson, S. J., Clissold, F. J., Brooks, R., Ballard, J. W. O., Taylor, P. W., ... Raubenheimer, D. (2008). Lifespan and reproduction in *Drosophila*: New insights from nutritional geometry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(7), 2498–2503.
- Liaw, A., & Wiener, M. (2002). Classification and Regression by randomForest. *R News*, *2*(3), 18–22.
- Lihoreau, M., Buhl, J., Charleston, M. A., Sword, G. A., Raubenheimer, D., & Simpson, S. J. (2015). Nutritional ecology beyond the individual: a conceptual framework for integrating nutrition and social interactions. *Ecology Letters*, *18*(3), 273–286.
- Liland, K. H., & Indahl, U. G. (2009). Powered partial least squares discriminant analysis. *Journal of Chemometrics*, *23*(1), 7–18.
- McCune, B., & Grace, J. B. (2002). *Analysis of Ecological Communities* (Vol. 28). MjM Software Design.
- Nielsen, J. M., Clare, E. L., Hayden, B., Brett, M. T., & Kratina, P. (2018). Diet tracing in ecology: Method comparison and selection. *Methods in Ecology and Evolution*, *9*(2), 278–291.

- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., ... Wagner, H. (2019). vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-3. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan> (Version 2.5-6).
- Olson, D. a. W. N. M., Fadamiro, H., Lundgren, J. O. nathan G., & Heimpel, G. E. (2000). Effects of sugar feeding on carbohydrate and lipid metabolism in a parasitoid wasp. *Physiological Entomology*, *25*(1), 17–26.
- Phillips, C. B., Hiszyczynska-Sawicka, E., Iline, I. I., Novoselov, M., Jiao, J., Richards, N. K., & Hardwick, S. (2018). A modified enzymatic method for measuring insect sugars and the effect of storing samples in ethanol on subsequent trehalose measurements. *Biological Control*, *126*, 127–135.
- Phillips, D. L., Inger, R., Bearhop, S., Jackson, A. L., Moore, J. W., Parnell, A. C., ... Ward, E. J. (2014). Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. *Canadian Journal of Zoology*, *92*(10), 823–835.
- Pollier, A., Dosdat, S., Tricault, Y., Bischoff, A., Plantegenest, M., & Jaloux, B. (2016). Using the stable isotope marker  $^{13}\text{C}$  to study extrafloral nectar uptake by parasitoids under controlled conditions and in the field. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *161*(2), 131–140.
- Rand, T. A., & Lundgren, J. G. (2019). Quantifying Temporal Variation in the Benefits of Aphid Honeydew for Biological Control of Alfalfa Weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology*, *48*(1), 141–146.
- Raubenheimer, D., Simpson, S. J., & Mayntz, D. (2009). Nutrition, ecology and nutritional ecology: toward an integrated framework. *Functional Ecology*, *23*(1), 4–16.
- Read, J., Pfahringer, B., Holmes, G., & Frank, E. (2011). Classifier chains for multi-label classification. *Machine Learning*, *85*(3), 333.
- Rubio, V. C., Sánchez-Vázquez, F. J., & Madrid, J. A. (2005). Fish macronutrient selection through post-ingestive signals: Effect of selective macronutrient deprivation. *Physiology & Behavior*, *84*(4), 651–657.
- Scrucca, L., Fop, M., Murphy, T., Brendan, & Raftery, A., E. (2016). mclust 5: Clustering, Classification and Density Estimation Using Gaussian Finite Mixture Models. *The R Journal*, *8*(1), 289.
- Simpson, S. J., Raubenheimer, D., Charleston, M. A., & Clissold, F. J. (2010). Modelling nutritional interactions: from individuals to communities. *Trends in Ecology & Evolution*, *25*(1), 53–60.
- Simpson, S. J., Sword, G. A., Lorch, P. D., & Couzin, I. D. (2006). Cannibal crickets on a forced march for protein and salt. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(11), 4152–4156.
- Sivakoff, F. S., Rosenheim, J. A., & Hagler, J. R. (2011). Threshold choice and the analysis of protein marking data in long-distance dispersal studies: *Threshold choice for protein marking data. Methods in Ecology and Evolution*, *2*(1), 77–85.
- Sousa, T., Domingos, T., & Kooijman, S. a. I. m. (2008). From empirical patterns to theory: a formal metabolic theory of life. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *363*(1502), 2453–2464.
- Steppuhn, A., & Wäckers, F. L. (2004). HPLC sugar analysis reveals the nutritional state and the feeding history of parasitoids. *Functional Ecology*, *18*(6), 812–819

- Tena, A., Pekas, A., Cano, D., Wäckers, F. L., & Urbaneja, A. (2015). Sugar provisioning maximizes the biocontrol service of parasitoids. *Journal of Applied Ecology*, 52(3), 795–804.
- Tena, A., Pekas, A., Wäckers, F. L., & Urbaneja, A. (2013). Energy reserves of parasitoids depend on honeydew from non-hosts. *Ecological Entomology*, 38(3), 278–289.
- Traugott, M., Kamenova, S., Ruess, L., Seeber, J., & Plantegenest, M. (2013). Empirically Characterising Trophic Networks. In *Advances in Ecological Research* (Vol. 49, pp. 177–224). Elsevier.
- Tsoumakas, G., & Katakis, I. (2007). Multi-Label Classification: An Overview. *International Journal of Data Warehousing and Mining (IJDWM)*, 3(3), 1–13.
- Van Handel, E. (1985). Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1(3), 299–301.
- Wäckers, F. L., Lee, J. C., Heimpel, G. E., Winkler, K., & Wagenaar, R. (2006). Hymenopteran parasitoids synthesize 'honeydew-specific' oligosaccharides. *Functional Ecology*, 20(5), 790–798.
- Wäckers, F. L., & Steppuhn, A. (2003). Characterizing nutritional state and food source use of parasitoids collected in fields with high and low nectar availability. *IOBC WPRS Bulletin*, 26(4), 203–208.
- Westerhuis, J. A., Hoefsloot, H. C. J., Smit, S., Vis, D. J., Smilde, A. K., van Velzen, E. J. J., ... van Dorsten, F. A. (2008). Assessment of PLSDA cross validation. *Metabolomics*, 4(1), 81–89.
- Winkler, K., Wäckers, F., & Pinto, D. M. (2009). Nectar-providing plants enhance the energetic state of herbivores as well as their parasitoids under field conditions. *Ecological Entomology*, 34(2), 221–227.



## PAPER 3

**No evidence of increased parasitoid sugar feeding nor parasitism in legume-cereal intercrops**

LUQUET Martin<sup>1</sup>, PEÑALVER-CRUZ Ainara<sup>2</sup>, SATOUR Pascale<sup>3</sup>, ANTON Sylvia<sup>1</sup>, CORTESERO Anne-Marie<sup>4</sup>, LAVANDERO Blas<sup>2</sup> and JALOUX Bruno<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> UMR IGEPP INRA/Agrocampus Ouest/Université Rennes 1, Agrocampus Ouest, 2 Rue André le Nôtre, 49045 Angers, France

<sup>2</sup> University of Talca, Institute of Biological Sciences, 2 Norte 685, Talca, Chile

<sup>3</sup> UMR IRHS, INRA/Agrocampus Ouest/Université d'Angers, Université d'Angers, SFR Quasav 490710, 42 Rue Georges Morel, 49071 Beaucouzé, France

<sup>4</sup> UMR IGEPP INRA/Agrocampus Ouest/Université Rennes 1, Université Rennes1, Rue du Thabor, 35000 Rennes, France

\*Corresponding author, E-mail: [bruno.jaloux@agrocampus-ouest.fr](mailto:bruno.jaloux@agrocampus-ouest.fr), Tel: +33 2 41 22 55 76.  
Address: Agrocampus Ouest, Centre of Angers, 2 Rue André le Nôtre, 49045 Angers, France.

**Abstract:** The nectar provision hypothesis predicts that the introduction of nectar-producing plants in agroecosystems boosts parasitoid populations in the field and enhances biological control. Intercropping is a common crop diversification scheme that may add complementary nectar sources for parasitoids and increase herbivore pest control. For instance, intercropping cereals with faba bean introduces nectar sources in usually sugar-devoid systems. However, the nectar provision hypothesis has never been evaluated in such cropping systems. To test this hypothesis, we evaluated if sugar is a limiting factor for *Aphidius* parasitoids in single triticale crops and if their nectar feeding activity increases in faba bean-triticale intercrops, compared to triticale pure crops. *Aphidius* feeding patterns were evaluated from their sugar profiles, using high-performance liquid chromatography (HPLC). In parallel, aphid density and parasitism rates were estimated at the edge and in the centre of single crops and intercrops. Sugar analyses revealed that honeydew was always the main sugar source for parasitoids, and although a significant proportion of parasitoid populations were recorded to feed on nectar, this proportion did not increase in intercrops. Besides, parasitism rates did not increase in intercrops, nor were aphid populations reduced. Thus, our results do not support the nectar provision hypothesis, but rather suggest that though nectar provision benefits parasitoid populations in some systems, its effects on biological control are highly context-dependent. They also confirm that honeydew can be a major food source for parasitoids.

**Keywords:** *Aphidius*, biological control, intercropping, nectar provision hypothesis, nutritional ecology.

## INTRODUCTION

Biodiversity provides a wide range of ecosystemic services in agroecosystems, one of which being pest regulation (Altieri et al. 1999, Bommarco et al. 2013). Particularly, the diversification of cropping systems is thought to increase biological control, *i.e.* the top-down regulation of pest populations by their natural enemies (Root 1973, Landis et al. 2000, Heimpel & Mills 2017). Indeed, several meta-analyses suggest that increased plant diversity is generally associated to higher populations of pest natural enemies (predators and parasitoids), and/or higher parasitism or predation rates (Bommarco & Banks 2003, Chaplin-Kramer et al. 2011, Letourneau et al. 2011). Despite this general relationship between biodiversity and pest regulation, attempts to increase biological control in agroecosystems through habitat manipulation have shown variable and inconsistent results (Heimpel & Jervis 2005, Heimpel 2019). Understanding the underlying ecological processes is required to predict the responses of natural enemies to diversification and to implement successful conservation biological control programmes.

The main mechanism mentioned to explain why cropping system diversification is expected to benefit natural enemies is that it allows providing them with additional resources (Root 1973, Landis et al. 2000). In particular, diversification of cultivated areas may provide plant-produced sugar for natural enemies, such as floral or extrafloral nectar (Wilkinson & Landis 2005, Jones et al. 2017). Such resources are essential for biological control agents that feed on pests as larvae, but rely on sugar sources during their adult stage for metabolic maintain, survival and dispersion (Wäckers & van Rijn, 2005). These 'life-history omnivores' include some predators such as syrphids and lacewings, and most parasitoids (Wäckers & van Rijn 2005, Hogervorst et al. 2007a). Many conventional monocultures are nectar-depleted: in such systems, food is likely to be limiting for these organisms (Heimpel & Jervis 2005). Providing complementary food sources should thus allow increasing natural enemy performances, as well as their attraction and retention (*e.g.* reduced emigration) (Kean et al. 2003, van Rijn & Sabelis 2005). Consequently, nectar provision *via* crop diversification should support higher natural enemy populations, resulting in enhanced biological pest control. Heimpel & Jervis (2005) proposed the *nectar provision hypothesis* to formalize this idea and to list the conditions required for its expression.

A few studies have provided elements in favour of the nectar provision hypothesis. Notably, significant effort has been made to evaluate the potential of field margins surrounding crops to provide sugar subsidies for natural enemies, mainly parasitoids. Several studies have established that these field margins may serve as a food reservoir for parasitoids (Olson & Wäckers 2007, Lee & Heimpel 2008, Winkler et al. 2009, Kishinievsy et al. 2018), and that the presence of resource subsidies in such margins is correlated with increased parasitoid populations and parasitism rates (Tylianakis et al. 2004, Lavandero et al. 2005). However, these effects are often restricted to the field border: parasitoid populations and parasitism usually decrease exponentially when moving away from the field edge towards the centre of the field (Tylianakis et al. 2004, Bianchi & Wäckers 2008, Pollier et al. 2018). Indeed, parasitoid foraging distances are usually small, and commuting between resources is both costly and risky. Thus, it has been suggested that within-field diversification should be a more efficient way to improve biological control, through a more regularly distributed parasitism within fields (Mills & Wajnberg 2008). Indeed, simulation experiments conducted by Vollhardt *et al.* (2010a) suggest that

the effects of nectar provision on parasitoid feeding patterns and parasitism rates were a lot greater when flowers are randomly distributed in the field than when they are restricted to the field borders.

Even though the provision of food sources directly in the field seems very promising for biological control, its effects on parasitoid resource exploitation patterns have scarcely been evaluated. Experiments in semi-natural conditions have shown that providing extrafloral nectar close to host patches may favour attraction and retention of parasitoids into the field (Jamont et al. 2014). Some studies have also evidenced that artificial sugar food resources in the field are effectively consumed by parasitoids and lead to increased parasitoid fitness, population abundance and parasitism rate (Winkler et al. 2006, Lee & Heimpel 2008, Tena et al. 2015). However, up to now, no study has fully tested the nectar provision hypothesis in diversified crops. Indeed, its unambiguous evaluation requires demonstrating several elements. First, it has to be demonstrated that sugar food is actually a limiting factor for biological control in undiversified crops. This may not always be the case as even in simplified systems, parasitoids may find alternative resources such as honeydew (Heimpel & Jervis 2005, Lee et al. 2006, Hogervorst et al. 2007a). Thus, a first step is to determine if diversification leads to higher nectar consumption by parasitoids. Then, this higher consumption should increase parasitism rates, and ultimately reduce the density of pest populations (Heimpel & Jervis 2005, Heimpel & Mills 2017). This does not follow automatically as enhanced biological control is not the only possible outcome of increased nectar consumption: nectar feeding could also stimulate parasitoid emigration from the field, as hypothesized by Heimpel (2019).

Intercropping is an ancestral agricultural practice that consists in simultaneously growing several crops in the same field (Vandermeer 1989). These cropping systems offer multiple ecosystemic services, including increased production, enhanced stability of yield and higher competition over weeds (Bedoussac et al. 2015). As they exhibit higher diversity within the field, intercrops could also benefit biological control. In particular, pests attacking a crop that does not produce nectar could be better regulated if their natural enemies are complemented with sugar produced by a second crop. Previous work tends to show that intercrops are one of several diversification schemes that affect natural enemies the most (Letourneau et al. 2011). However, the processes by which they affect parasitoid resource use and their consequences on ecological interactions are largely unknown. It has been suggested that the difficulty to elucidate these processes comes from methodological challenges (Heimpel & Mills 2017): however, recent methodological developments make it much easier to quantify resource use by parasitoids in the field (Wäckers & Steppuhn 2003, Lavandero et al. 2005, Hogervorst et al. 2007a, Luquet et al., *in prep.*).

An example of systems varying in the food sources available for parasitoids are cereal monocrops and legume-cereal intercrops, which are a common intercropping scheme in many regions of the world (Malézieux et al. 2009, Bedoussac et al. 2015). Cereal crops are notably attacked by several aphid species, such as *Sitobion avenae*, *Metopolophium dirhodum* and *Rhopalosiphum padi*, which all are regulated by parasitoids belonging to the *Aphidius* genus. These cereal crops do not produce nectar, and parasitoids could thus be food limited, especially in the centre of the field. They may still feed on aphid honeydew (Hogervorst et al. 2007a), but this food source is sometimes limiting as a sole food source (Tena et al. 2015), and often of an inferior quality than nectar (Wäckers et al. 2008). Intercropping a cereal with a nectar producing plant may give parasitoids access to high-quality food in the whole field. In particular, legumes such as faba bean (*Vicia faba* L) produce a sugar-rich extrafloral nectar, highly accessible and suitable for parasitoids (Jamont et al. 2013, 2014). Faba bean may be a particularly interesting crop for biological control, as it produces extrafloral nectar early and



during most of the growing season, and may thus provide high quality food for parasitoids during expanded periods (Lu et al. 2014, Jones et al. 2017).

In this study, we tested the nectar provision hypothesis in faba bean-triticale intercrops. We evaluated if i/ sugar use by parasitoids is limited in pure cereal crops, especially in the centre of fields, ii/ intercropping the cereal with a legume leads to increased nectar consumption by parasitoids, resulting in iii/ higher rates of nectar feeding and, iv/ reduced pest populations. To do so, we compared the feeding patterns and parasitism rates by *Aphidius* spp. parasitoids, as well as aphid densities, in single triticale crops and triticale-faba bean intercrops.

## MATERIALS AND METHODS

To evaluate parasitoid sugar feeding patterns in the field, we used an inferential approach based on sugar profiles developed in previous studies (Wäckers & Steppuhn 2003, Heimpel et al. 2004, Hogervorst et al. 2007a, Luquet et al., *in prep.*). First, we set up a laboratory experiment to evaluate the relationships between parasitoid sugar profiles and their feeding history (*i.e.* if they had fed recently or not) and food source (nectar or honeydew). These data were used as a reference baseline to evaluate the feeding status of insects captured in different field treatments (in the centre and close to the edge of single and mixed crop fields). Feeding patterns observed in the field were then analysed in relation to observed parasitism rates and aphid densities.

### Lab experiment – Reference sugar profiles

#### *Biological material*

All insects and plants used to define the reference sugar profiles were collected from our laboratory rearing. Plants used for extrafloral nectar collection were faba bean (*Vicia faba* L.) var. Divine. As spontaneous vetch (*Vicia sativa* L.) producing high amounts of extrafloral nectar was commonly encountered in the fields we investigated, we also reared *V. sativa* var. Pépite plants for nectar sampling. *Acyrtosiphon pisum* aphids came from the LSR1 lineage (The International Aphid Genomics Consortium, 2010) and were reared on faba bean. *Sitobion avenae* were collected on wheat crops around Angers (France) in May 2016 and were reared on barley (*Hordeum vulgare* L. var. Prestige). *Aphis fabae* aphids were collected on faba bean crops around Angers (France) in May 2018 and were reared on faba bean. *Aphidius ervi* parasitoids were collected as mummies from *A. pisum* and *S. avenae* in faba bean and wheat fields around Angers (France) in 2016. In the laboratory, these two lineages were reared separately, respectively on the *A. pisum*-faba bean complex and *S. avenae*-barley complex, for over 50 generations before being used in the experiments. Plants, aphids and parasitoids were reared under long-day conditions (16L:8D) at 22 °C (day) and 20 °C (night). Humidity conditions were 80% relative humidity (RH) during the day and 90% RH (night) for aphids, and 70% RH for parasitoids.

### *Sugar food collection*

Honeydew samples were collected from *A. pisum*, *A. fabae* and *S. avenae* aphids, which were the most abundant honeydew producers in the field. Samples were collected between December 2017 and January 2018 (*A. pisum*, *S. avenae*) and in August 2018 (*A. fabae*). To collect honeydew, Parafilm® cages were placed during 24h around aphid colonies, on their respective plants. Cages were then removed and honeydew droplets were collected directly from the Parafilm®, using micropipettes with capillary 2 µL tips. Droplets from the same colony were pooled to obtain 2 µL samples. Extrafloral nectar samples were collected from *V. faba* plants between December 2017 and January 2018 and from *V. sativa* plants between February and Mars 2019. Droplets were collected directly from the plant nectaries, using a micropipette. Droplets from the same plant were pooled to obtain 2µL samples.

Samples from each food source were stored at -20°C and used in the following 48h for feeding experiments. Other samples were prepared for sugar analysis (15 samples each for *A. pisum* and *S. avenae* honeydew, 8 samples for *A. fabae* honeydew, 12 samples for each extrafloral nectar). These samples were diluted 50 times in 80% methanol (MeOH), and the solution obtained was diluted 4000 times in Milli-Q® ultra-pure water. 100 µL of this final solution were extracted for HPLC analysis.

### *Feeding experiment*

Within 1 day after emergence, unfed *A. ervi* females reared on *A. pisum* or *S. avenae* were individually placed in 2 mL Eppendorf® tubes. Females were then given a feeding treatment following the experimental procedure described by Tian et al. (2016). About two hours after being placed in the tube, they were given water during 30 min and were then put in another tube containing one of the following feeding treatments: extrafloral nectar (*V. faba* or *V. sativa*), honeydew (*A. pisum*, *S. avenae* or *A. fabae*), or no food source (unfed insects). Females were observed for at least three minutes, to ensure that they had fed continuously at least for 5 seconds. After feeding, they were either frozen immediately, or kept starving for 1, 12, 24 or 48h before being frozen, in order to follow their sugar metabolic dynamics. Starved females were placed in 200 mL plastic tubes where they were able to fly. After being frozen, insects were kept at -80°C for further HPLC analysis. 278 individuals were obtained in total.

### *HPLC Analysis of sugar profiles*

Sampled females were lyophilized, weighed, crushed and the powder obtained was diluted in 80% methanol. After a 15 min incubation period, methanol was evaporated in a speed-vac and samples were diluted in 500 µl Milli-Q water. They were then centrifuged to isolate the supernatant containing all soluble sugars, and water was evaporated. Finally, samples were saved in a final volume of 100 µl of Milli-Q water for HPLC analysis. Eighty µl of each diluted sample were injected in a DIONEX ICS 3000 system (Dionex Corp., Sunnyvale, CA, USA) equipped with a CarboPac PA1 column for the HPLC analysis. The column was eluted with 100mM NAOH and kept at 20°C. Every ten samples a standard was run to check for deviation from the calibrated values. The sugar content of each individual was analyzed using the Chromeleon™ Chromatography Data System. The standards used for these analyses were glucose (2.5 mg/l), fructose (2.5 mg/l), sucrose (5 mg/l), raffinose (10 mg/l), stachyose (10 mg/l),

melezitose (10 mg/l), erlose (10 mg/l) and maltose (40 mg/l). Food samples (nectar, honeydew) were analysed the same way, using the same standards.

## Field experiment

### *Study sites*

The study sites were located in the Maine-et-Loire department (West of France), in the municipalities of Beaucouzé, Bouchemaine, Savennières and La Possonnière. Six pure triticale fields and six triticale-faba bean intercrop fields from three farmers were investigated (see Appendix S1 for coordinates). All fields were organically managed and received no pesticide or biopesticide treatment. They were all surrounded by woody field margins containing a lot of spontaneous vegetation (grasses, flowers), including nectar-producing flowers (plants from the Apiaceae family were predominant). Experiments were carried out between weeks 17 (24<sup>th</sup> April) and 24 (14<sup>th</sup> June) in 2018. Temperature during the experiments ranged from 21.8°C to 30.8°C and humidity ranged from 47% to 81% RH.

### *Insect sampling and surveys*

Two 20-m transects were established in each field: one at 5 m from the field edge and one at 50 m from the field edge. Along each transect, insect samplings and surveys were repeated at six dates, covering most of the aphid and parasitoid presence period (weeks 17, 18, 19, 21, 22, 24).

*Insect sampling:* Along each transect, insects were captured using a STIHL® SH 86C shredder vac. A net bag was installed inside the vac pipe to collect the insects without damaging them. The capture was done by vacuuming each plant from the bottom to the top along the transect. After sampling, collected insects were placed in a freezer bag and immediately transferred to a portable freezer at -20°C. Bags from seven fields (3 intercrops, 4 single crops) were then opened in the laboratory and insects were sorted on a plate in an ice box to retrieve Aphidiinae parasitoids. These insects were then quickly identified and sexed under a magnifying glass. All *Aphidius* females were then stored at -80°C before being prepared for sugar extraction and HPLC analysis as described above.

*Insect surveys:* At each sampling date, 50 triticale tillers were randomly chosen along each transect in each field, in a row distant of >5m from the one where the aspirations were made. Aphids and mummies were counted on each tiller. Aphids were identified at the species level and mummy shape and colour were used to identify the parasitoid genus (Praslicka et al. 2003). Parasitism rates at each date, for each field and distance from the edge were estimated by dividing the total number of mummies counted on a transect by the sum of aphids and mummies on this transect.

## Data analysis

### *Feeding pattern predictions from HPLC data*

To evaluate insect feeding patterns in the field, we referred to the method developed by Luquet et al. (*in prep.*). The lab dataset, containing the sugar profiles of insects with known feeding history and food source, was used as a *training dataset* to learn a *classifier*, i.e. a procedure to predict

an insect feeding status from its sugar profile. This classifier allowed inferring feeding history and food sources from field-collected insects. In particular, we used it to perform *prevalence estimation*, *i.e.* estimating the relative proportion of insects with different feeding histories and food sources in each field treatment.

*Defining feeding classes:* In order for comparisons to be meaningful, we evaluated a maximum time after a feeding event, which would define an insect as « fed ». This ‘detection time’ was set to 12 h, which corresponds to the average rate of feeding by *Aphidius ervi* (Azzouz et al. 2004, Lérault et al., unpublished data). This choice was reinforced by the fact that a significant shift can be observed in the sugar profiles of insects that have last fed for more than 12 hours, in our own data and in previously published datasets (Hogervorst et al. 2007a). Thus, insects were assigned to one of the three following classes: “nectar-fed” (insects fed from nectar within less than 12 hours), “honeydew-fed” (insects fed from honeydew for less than 12 hours) and “unfed” (insects that never fed or that were starved for more than 12 hours).

*Training dataset construction:* To ensure the quality of predictions, we subsampled our lab data to obtain a balanced training dataset (Barranquero et al. 2015, Chicco et al. 2017). We randomly selected data to obtain a 183-sample training dataset that contained about the same number of samples from each class. In addition, we balanced the data as much as possible between the different time treatments (*i.e.* the periods for which insects had been fed), parasitoid origin (*A. pisum*, *S. avenae*), and the different food sources (*i.e.* different honeydews, different nectars).

*Choice of predictor variables:* We used all individual sugars detected in parasitoids as variables to predict their feeding class. We also included the ratio Glucose/(Glucose + Fructose) or ‘GF Ratio’ as a potential predictor, which is known to be a key marker of insect feeding (Steppuhn & Wäckers 2004, Hogervorst et al. 2007a, Tena et al. 2013). Given the high number of null values for melezitose, we did not use the Erlose/Melezitose ratio (Hogervorst et al. 2007a, Tena et al. 2013) as a food source marker. Instead, we computed the ratio (Maltose + Erlose + Melezitose)/Total Sugar (Luquet et al., *in prep.*). We named this variable the ‘H Ratio’.

*Method choice and prevalence estimation:* We used the heatmap suggested by Luquet et al. (*in prep.*) to choose the most appropriate method for prediction. From the ‘noise index’ (0.58) and the size (183) of our dataset, it appeared that the best approach for prevalence estimation was to use a Random Forest classifier (Breiman, 2001) coupled with an Adjusted Counting correction method (Forman, 2008). These methods were used to predict the relative frequency of insects from each class in each field type (Pure crop, Intercrop) and distance from the field edge (5m, 50m). The algorithm was trained and used on R software version 3.5.2 (R Core Team, 2018) with the help of the *randomForest* package (Liaw & Wiener 2002).

### *Comparison between field treatments*

*Lab data:* The overall sugar levels of different food sources, as well as insects receiving different feeding treatments, were compared using generalised linear models (GLM) with a Gamma error structure. To estimate how much variation in insect sugar profiles is due to their feeding treatment, we applied a redundancy analysis using the *vegan* package (Oksanen et al. 2018).

*Field data:* To evaluate the differences between the feeding patterns of insects in each field type and distance from the field edge, we compared the relative frequency of insects from each feeding class by using chi-squared tests. In addition, we used GLM with a Gamma distribution to compare their mean overall sugar levels. To analyse aphid densities and parasitism rates according to field type and distance, we fitted generalized linear mixed models to the data (GLMM), using *lme4* package on R (Bates et al. 2015). Aphid density and parasitism rates were setup as response variables, while field type, field distance and the interaction between them were included as fixed explanatory variables. The field in which measures were done was included as a random variable, to account for site effects. The week at which measures were done was added as a second random variable, to account both for temporal sources of variation (e.g. climatic fluctuations) and temporal autocorrelation. The model for aphid density was fitted using a negative-binomial error structure and log link, while the model for parasitism rates was fitted using a binomial error structure and logit link. Appropriate checks were done to assess sufficient model validity (Zuur et al. 2016).

## RESULTS

### Lab experiment

#### *Sugar spectrum of food sources*

Fructose, glucose, sucrose and melezitose were the only sugars found in the analysed nectars and honeydews. Melezitose was found only in *Aphis fabae* honeydew. The different food sources varied both in their relative and absolute amounts of sugars (Table 1). *A. pisum* honeydew, *S. avenae* honeydew and *V. faba* nectar were dominated by glucose, while *A. fabae* honeydew was dominated by melezitose and *V. sativa* nectar was dominated by sucrose. Overall, sugar concentration in extrafloral nectar was about ten times higher than in honeydew (Table 1).

#### *Parasitoid sugar profiles*

Fructose, glucose, sucrose, melezitose, erlose, stacchiose and maltose were found in all feeding treatments. Sugar profiles were dominated by glucose (>50 % of total sugars for all treatments, except for insects fed on *V. sativa* nectar) (Table 1).

Both qualitative and quantitative differences were observed between insects that had just emerged and insects that had just fed from different food sources. All 'just-fed' insects had a higher total sugar level than unfed emerging insects (GLM, *Feeding treatment effect*: LR  $\chi^2 = 204.8$ , df = 5,  $P < 1e^{-16}$ ), except insects fed with *S. avenae* honeydew (Table 1). Besides, insects feeding on more sugar-rich sources also exhibited higher sugar levels (Table 1). Some correspondences were observed between the relative sugar composition of insects and the sugar spectrum of the food sources they fed on: for instance, insects fed on *V. sativa* nectar had the highest relative sucrose concentration and insects fed on *A. fabae* honeydew had the highest relative melezitose concentration (Fig.1, Table 1).

Insect sugar profiles varied quickly after emergence and/or after feeding. Sugar metabolic dynamics followed the same trend for all feeding treatments (Fig. 2, Appendix S2). A quick decrease in the total sugar level was observed in the first hour after a feeding event, followed by a stable period (Fig. 2). After 12h, sugar amounts decreased continuously and 48h after feeding, honeydew-fed insects

had the same sugar levels as insects that never fed. However, after 48h insects fed with *V. faba* nectar still had higher amounts of sugars than unfed insects (Fig. 2). Globally, the trend observed for the total sugar amount was the same for the individual sugars (Appendix S2). However, sugar amounts did not change following the same rate: sugar profiles of fed insects became more glucose-dominated with time after feeding (Appendix S2). Besides, parasitoid origin (*A. pisum* or *S. avenae*) did not appear to influence sugar profiles (permutation tests for RDA, 1000 permutations, Df = 1, F = 1.1, P = 0.3).

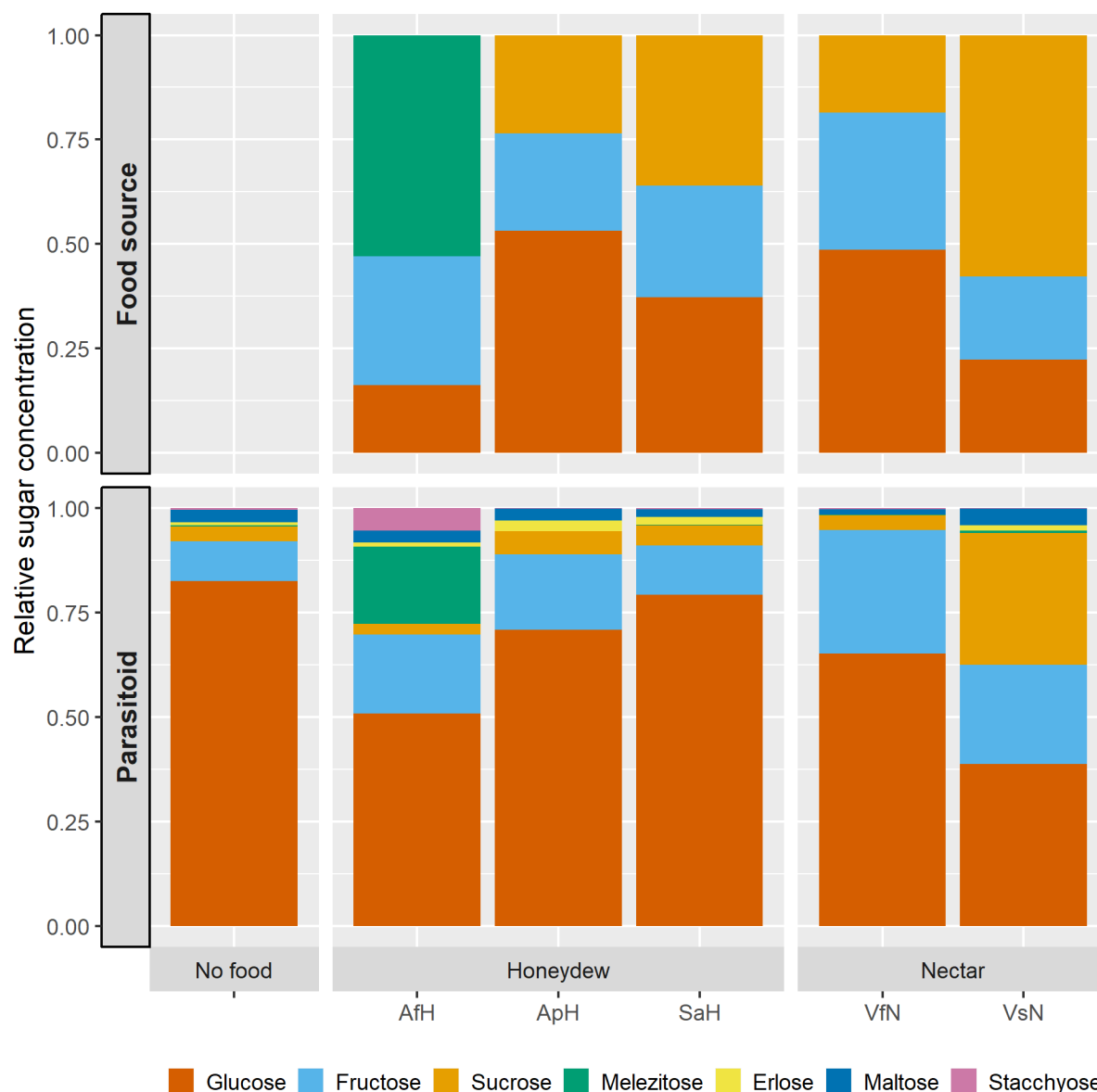


Figure 11 Relative sugar concentrations of sugar food sources (top) and *Aphidius ervi* females that have just fed on these resources (bottom), as well as emerging unfed insects ('no food'). AfH = *Aphis fabae* honeydew, ApH = *Acyrtosiphon pisum* honeydew, SaH = *Sitobion avenae* honeydew, VfN = *Vicia faba* extrafloral nectar, VsN = *Vicia sativa* extrafloral nectar. Bars represent standard errors.

Table 1 Average HPLC sugar spectrum of **A** Food sources (honeydews and nectars) and **B** Female parasitoids that just emerged ('emerging') or that just fed from different food sources. ApH = Acyrthosiphon pisum honeydew, AfH = Aphis fabae honeydew, SaH = Sitobion avenae honeydew, VfN = Vicia faba extrafloral nectar, VsN = Vicia sativa extrafloral nectar. Average values for all sugars are displayed, along with standard errors in brackets. Mean total sugar amounts and their standard errors are also displayed for all food sources and insect feeding treatments. Same letters indicate no significant difference (alpha = 0.05).

|                                      | Food source | n        | Glucose | Fructose          | Sucrose          | Melezitose        | Erlose          | Maltose       | Stacchiose    | Raffinose      | Total    |                                      |
|--------------------------------------|-------------|----------|---------|-------------------|------------------|-------------------|-----------------|---------------|---------------|----------------|----------|--------------------------------------|
| <b>A. Food source (µg/µl)</b>        | Honeydew    | ApH      | 15      | 130.9<br>(36.8)   | 57.1<br>(19.6)   | 58.0<br>(16.1)    | 0<br>(0)        | 0<br>(0)      | 0<br>(0)      | 0<br>(0)       | 0<br>(0) | <b>246.0<sup>a</sup></b><br>(82.1)   |
|                                      |             | AfH      | 8       | 48.9<br>(6.9)     | 92.9<br>(9.9)    | 0<br>(0)          | 159.2<br>(53.4) | 0<br>(0)      | 0<br>(0)      | 0<br>(0)       | 0<br>(0) | <b>301.1<sup>a</sup></b><br>(52.0)   |
|                                      |             | SaH      | 15      | 34.0<br>(4.9)     | 24.3<br>(4.8)    | 32.9<br>(16.1)    | 0<br>(0)        | 0<br>(0)      | 0<br>(0)      | 0<br>(0)       | 0<br>(0) | <b>91.1<sup>a</sup></b><br>(21.0)    |
|                                      | Nectar      | VfN      | 12      | 1021.0<br>(162.7) | 690.4<br>(117.6) | 390.5<br>(248.2)  | 0<br>(0)        | 0<br>(0)      | 0<br>(0)      | 0<br>(0)       | 0<br>(0) | <b>2101.9<sup>b</sup></b><br>(459.6) |
|                                      |             | VsN      | 12      | 523.6<br>(76.8)   | 467.9<br>(55.2)  | 1354.8<br>(232.8) | 0<br>(0)        | 0<br>(0)      | 0<br>(0)      | 0<br>(0)       | 0<br>(0) | <b>2346.3<sup>b</sup></b><br>(296.0) |
| <b>B. Parasitoids (µg/µg insect)</b> | /           | Emerging | 31      | 20.3<br>(2.2)     | 2.73<br>(0.7)    | 0.83<br>(0.3)     | 0.07<br>(0.02)  | 0.3<br>(0.2)  | 0.99<br>(0.3) | 0.13<br>(0.04) | 0<br>(0) | <b>25.4<sup>a</sup></b><br>(3.0)     |
|                                      | Honeydew    | ApH      | 19      | 28.7<br>(3.1)     | 10.6<br>(2.2)    | 3.3<br>(0.7)      | 0.1<br>(0.02)   | 1.7<br>(0.6)  | 1.7<br>(0.4)  | 0.1<br>(0.03)  | 0<br>(0) | <b>46.1<sup>b</sup></b><br>(5.9)     |
|                                      |             | AfH      | 10      | 32.5<br>(8.1)     | 12.1<br>(3.8)    | 1.6<br>(0.5)      | 11.8<br>(4.6)   | 0.6<br>(0.3)  | 1.8<br>(0.9)  | 3.4<br>(1.7)   | 0<br>(0) | <b>63.9<sup>c</sup></b><br>(15.9)    |
|                                      |             | SaH      | 21      | 19.2<br>(2.1)     | 4.6<br>(1.6)     | 1.7<br>(0.8)      | 0.1<br>(0.02)   | 1.1<br>(0.5)  | 0.7<br>(0.2)  | 0.1<br>(0.04)  | 0<br>(0) | <b>27.5<sup>ab</sup></b><br>(4.3)    |
|                                      | Nectar      | VfN      | 20      | 66.0<br>(7.1)     | 35.9<br>(5.2)    | 4.6<br>(1.3)      | 0.1<br>(0.03)   | 0.1<br>(0.05) | 1.3<br>(0.2)  | 0.3<br>(0.07)  | 0<br>(0) | <b>103.3<sup>c</sup></b><br>(13.0)   |
|                                      |             | VsN      | 20      | 75.5<br>(3.8)     | 46.3<br>(2.8)    | 61.4<br>(8.9)     | 1.1<br>(0.1)    | 2.6<br>(0.4)  | 7.6<br>(0.7)  | 0.3<br>(0.1)   | 0<br>(0) | <b>194.9<sup>d</sup></b><br>(13.5)   |

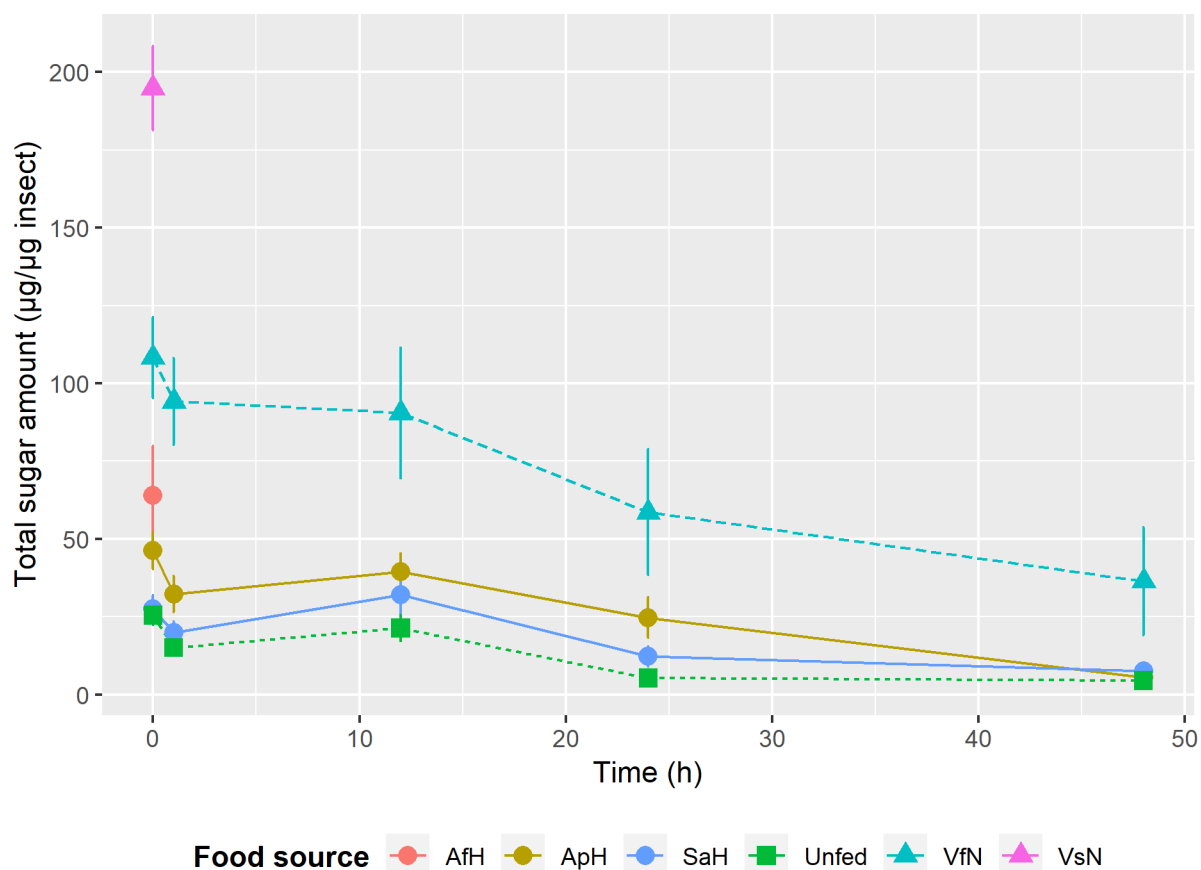


Figure 2 Overall sugar metabolic dynamics of *Aphidius ervi* females after receiving a feeding treatment. Triangles represent nectar-fed insects, circles represent honeydew-fed insects and squares represent unfed insects. Colours correspond to the different feeding treatments. AfH = *Aphis fabae* honeydew, ApH = *Acyrtosiphon pisum* honeydew, SaH = *Sitobion avenae* honeydew, VfN = *Vicia faba* extrafloral nectar, VsN = *Vicia sativa* extrafloral nectar. Bars represent standard errors.

### Model training

Some general patterns of variation could be observed when plotting the data according to the chosen predictive variables, such as the fructose amount and the Glucose-Fructose Ratio (Fig. 3). However, a sizeable degree of overlap was observed for all combinations of variables. This was partly due to the fact that many honeydew-fed insects had similar profiles as unfed insects (even after applying a 12h detection time), and that some nectar-fed insects still had high levels of sugars after 24 or 48h (Appendix S3). According to the redundancy analysis, 42% of the lab dataset sugar profile variation was explained by the insect feeding treatment ('noise index' = 58%).

The classification error was estimated as 35% when predicting the lab data with a Random Forest (*out-of bag-error*, Table 2). Errors were mainly confusions between unfed and honeydew-fed insects, due to the high similarity between the sugar profiles of these classes (Table 2). However, the size of the dataset justified using the 'Adjusted Counting' method, to temperate these prediction errors. According to the classifier, variable relative importance was by decreasing order: Fructose, Glucose, GF Ratio, Sucrose, H ratio, Stachyose, Maltose, Melezitose and Erlose.



Table 2 Confusion matrix from the Random Forest classification (based on out-of-bag error as described in Breiman, 2001). Values correspond to the actual versus predicted feeding class of parasitoids from the lab data. Percentages indicate what fraction of individuals from each class was predicted to belong to each class.

| Actual \ Predicted | Honeydew | Nectar   | Unfed    |
|--------------------|----------|----------|----------|
| Honeydew           | 36 (60%) | 3 (5%)   | 21 (35%) |
| Nectar             | 3 (5%)   | 50 (83%) | 7 (12%)  |
| Unfed              | 23 (37%) | 7 (11%)  | 33 (52%) |

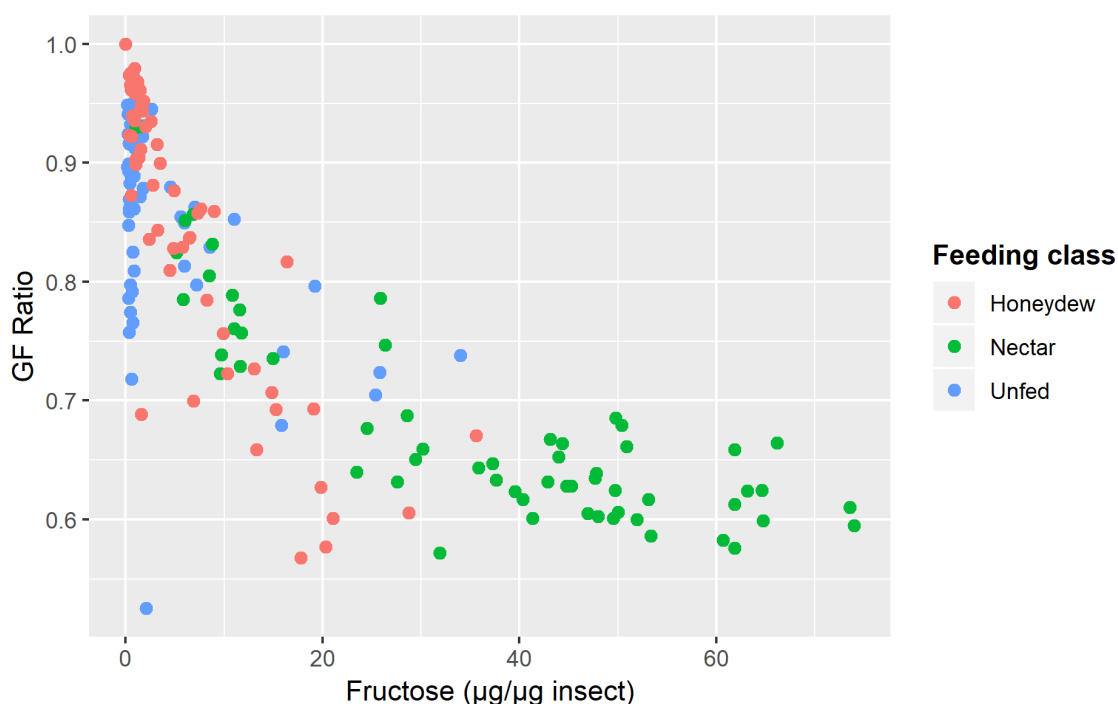


Figure 3 Two dimensional representation of the lab dataset, according to the Fructose content of *Aphidius ervi* females ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$  insect) vs the Glucose/(Glucose + Fructose) Ratio (GF Ratio). Colours refer to the different feeding classes. These classes were assigned to insects after setting a 12h ‘detection time’: insects that have last fed for more than 12 hours are labelled as ‘unfed’.

### Field experiment

#### Feeding patterns in single crop and intercrop fields

Our prediction algorithm (‘Random Forest coupled with Adjusted Counting’) revealed that all *Aphidius* spp. females captured had recently fed from honeydew or nectar (Fig. 4). Honeydew was the most common food source in all field treatments (type and distance from the edge). The treatment in which the most nectar-fed females were captured was in intercrops at 50m (45%, *i.e.* 17 of 38 individuals), while the treatment with the fewest nectar-fed females was single crops at 50m (26%, *i.e.* 17 of 68 individuals). However, observed differences were not statistically significant ( $\chi^2 = 4.6$  df = 3,  $p = 0.2$ ). Besides, no difference was observed in the overall sugar levels of females in the different field treatments (Fig. 5) (GLM, *Field distance*: LR  $\chi^2 = 0.2$ , df = 1,  $P = 0.6$ , *Field type*: LR  $\chi^2 = 2.6$ , df = 1,  $P = 0.1$ , *Field distance* \* *Field type*: LR  $\chi^2 = 0.8$ , df = 1,  $P = 0.4$ ).

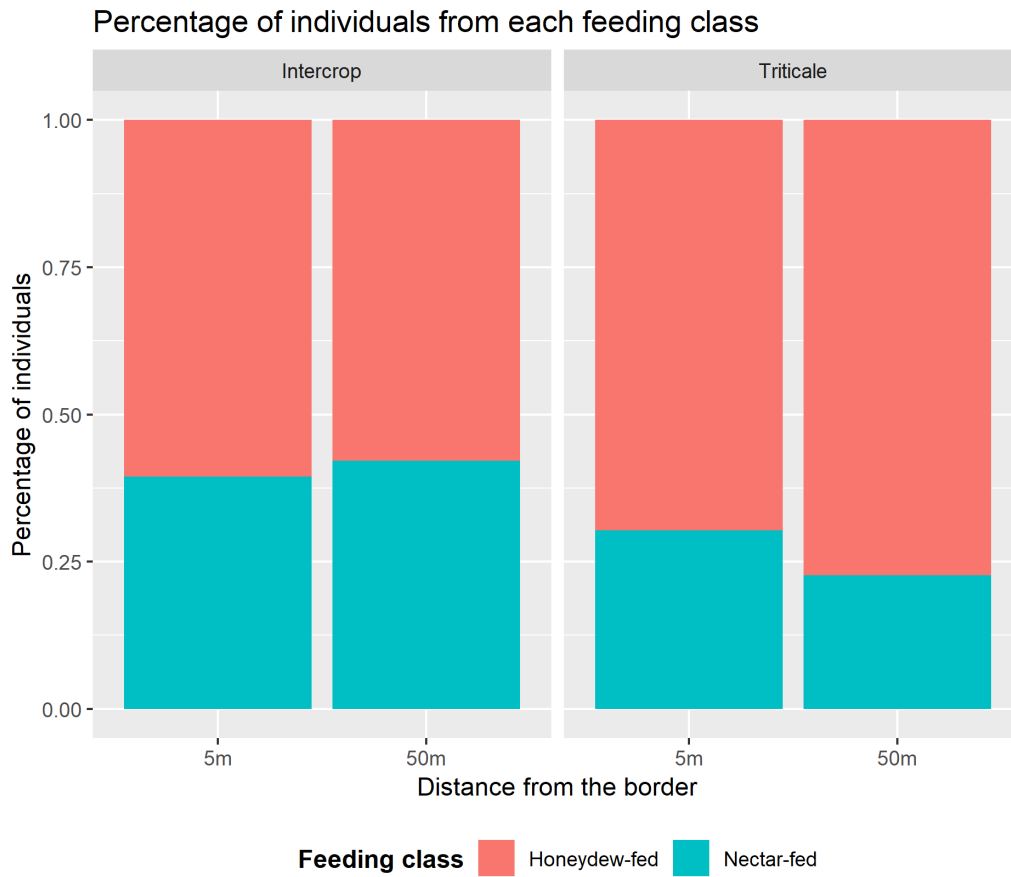


Figure 4 Estimated relative frequencies of *Aphidius* spp. females from each feeding class in intercrops and in single crops, at 5m and 50m from the border. These frequencies were computed by classifying field-caught individuals using a Random Forest algorithm, followed by the Adjusted Counting prevalence estimation method.

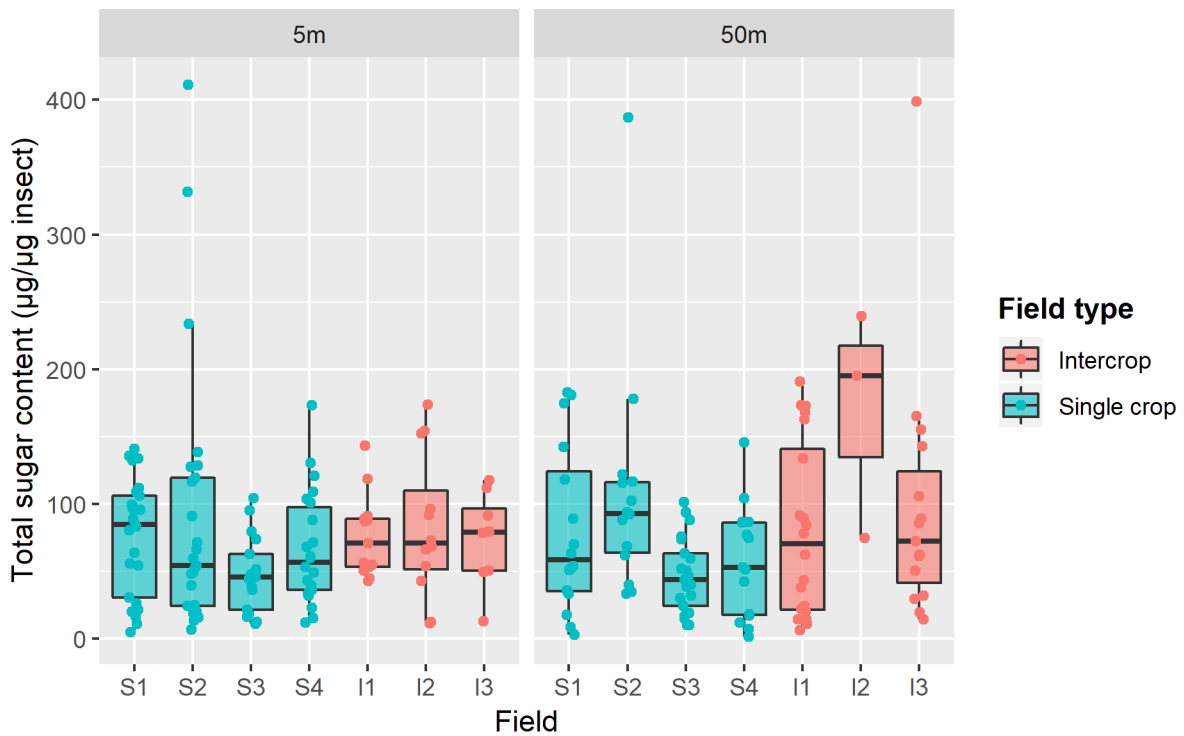


Figure 5 Total sugar content ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$  insect) of *Aphidius* spp. females captured in each field, at 5m and 50m from the border. S1, S2, S3, S4 correspond to single crop triticale fields and I1, I2, I3 correspond to faba bean-triticale intercrop fields. Colours represent field type (see legend). Boxplot labels represent the different fields investigated.

## Aphid density and parasitism rates in single crop and intercrop fields

Out of the 1758 aphids counted in total, 1616 were identified as *S. avenae* (92%), 98 as *M. dirhodum* (5%) and 44 as *R. padi* (3%). The total number of aphids observed in the different field types and distances from the field edge ranged from 0 to 110, with a lot of variation according to the week and the field. The same dynamics was observed in all field treatments: populations increased until weeks 21 and 22, and then decreased quickly until week 24 (Fig. 6). Overall, no difference in aphid numbers was found according to field type ( $\chi^2 = 0.1$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.8$ ), position ( $\chi^2 = 0.8$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.4$ ), or the interaction between them ( $\chi^2 = 0.02$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.9$ ).

A total of 298 mummies were observed in all the surveyed fields. They were mainly mummies from *Aphidius* parasitoids (254, 92%), but we also observed 23 *Ephedrus* mummies (only at the end of the season, weeks 22 and 24) and 1 *Praon* mummy. Weekly aphid parasitism rates by *Aphidius* parasitoids ranged from 0% to 100% and varied a lot between the different fields, particularly in the centre of the field (Fig. 7). For all field treatments, the highest parasitism rates were observed at the end of the season (week 24, Fig. 7). Overall, no difference in parasitism rates was found according to field type ( $\chi^2 = 0.1$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.7$ ), position ( $\chi^2 = 2.1$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.15$ ), or the interaction between them ( $\chi^2 = 0.1$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.8$ ).

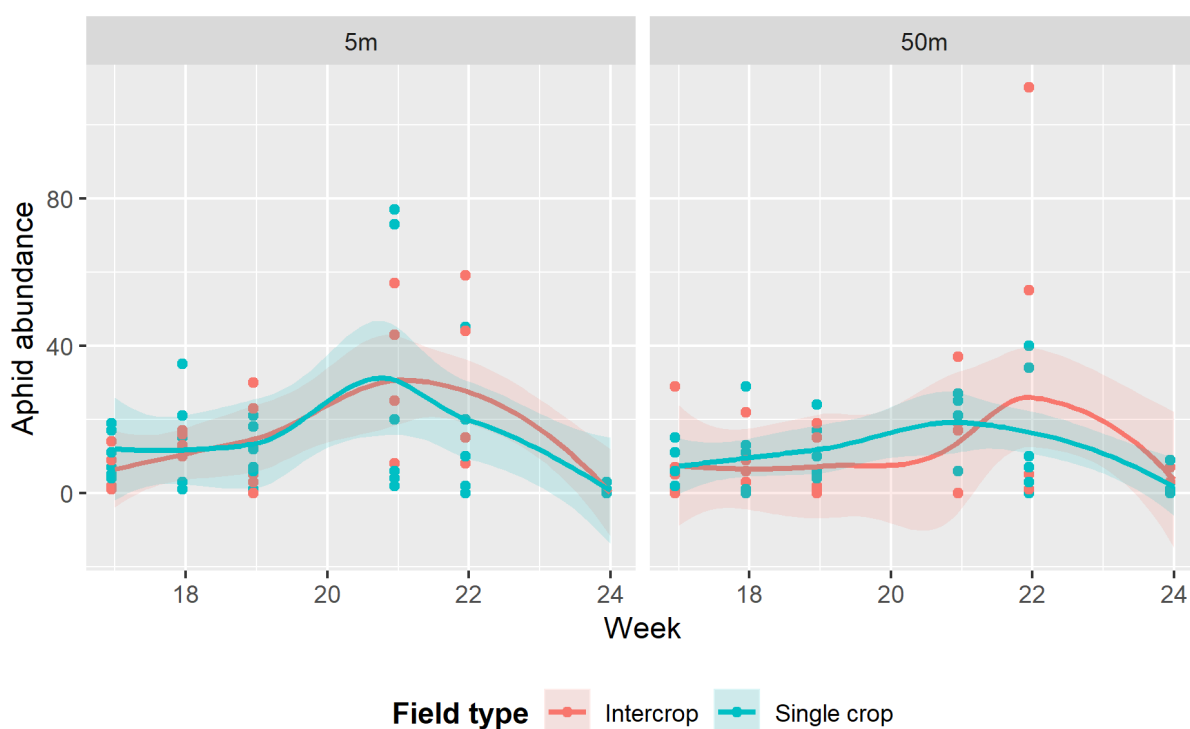


Figure 6 Aphid abundance estimated at different sampling dates in pure crops (blue) and intercrops (red). The curves correspond to LOESS smoothers ( $\pm 1$  IC95), fitted to better visualise the general trend of each aphid population dynamics.

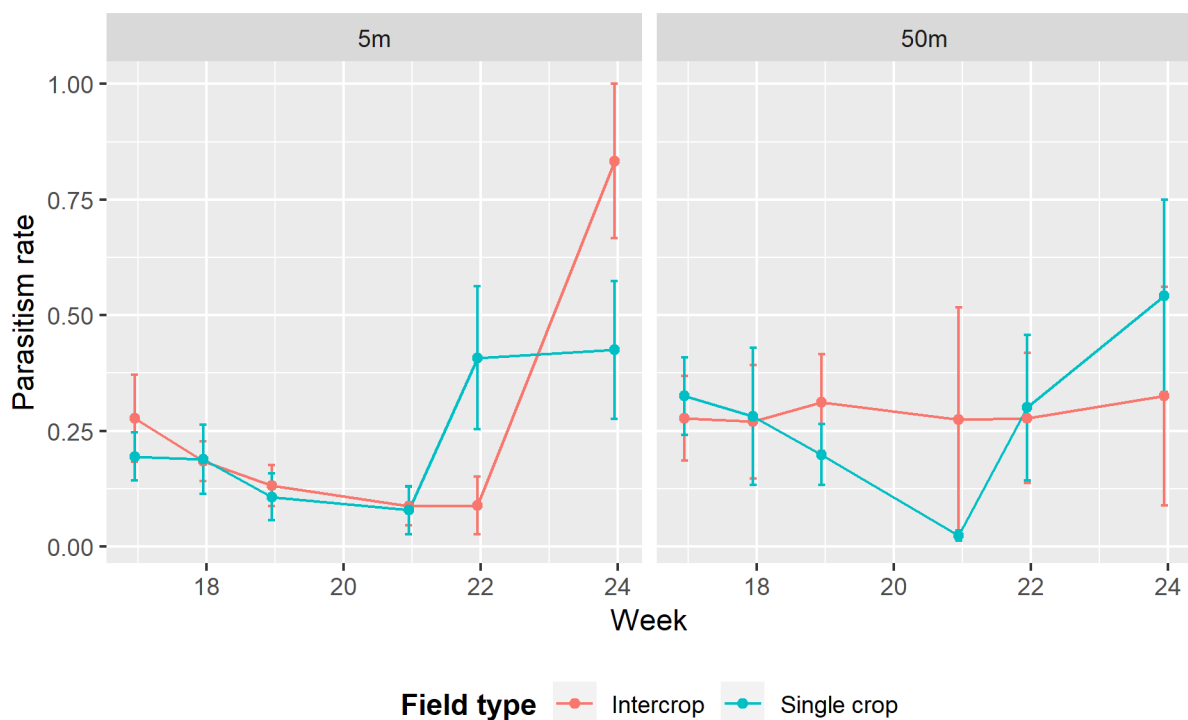


Figure 7 Mean aphid parasitism rate ( $\pm$  SE) by *Aphidius* spp. parasitoids estimated at different sampling dates in pure crops (blue) and intercrops (red). Parasitism rate was computed as the number of mummies counted on 50 triticale tillers, divided by the sum of mummies and aphids found on the same tillers.

## DISCUSSION

To evaluate rigorously the effects of sugar complementation on biological control in agroecosystems, Heimpel & Jervis (2005) have formalized the nectar provision hypothesis, which proposes a set of premises that must be addressed together. Here, we tested the nectar provision hypothesis in triticale-faba bean intercrops. However, no evidence was found for any of its premises: we did not show increased nectar feeding in intercrops, nor increased aphid parasitism rates by *Aphidius* parasitoids, neither reduced aphid density. These results raise new questions for evaluating the potential of diversified systems to enhance biological control.

### *Sugar profile variability: implications for feeding detection*

A large variability was found in the sugar spectrum of food sources, in our laboratory experiment. Both the absolute concentration and relative composition of honeydew sugars were highly dependent on the honeydew producer, as already evidenced by Hogervorst et al. (2007b). Extrafloral nectar sugar composition also showed important variation, both between different plants of the same species and between two phylogenetically close nectar-producing Fabaceae. This supports previous results showing that nectar composition is highly variable (Koptur 1994, Wäckers 2005). This variability in food sugar composition resulted in high variability in the sugar profiles of insects from different feeding treatments. These results have several implications for feeding detection methods

using metabolic data. In particular, variability between insects feeding on different resources of the same type (*e.g.* different honeydews) indicate that an insect feeding on a given resource may not be representative of all insects feeding on similar but different resources. For instance, the sugar profile of an insect feeding on honeydew A will poorly predict the food source of an insect feeding on honeydew B. These results underline the fact that for predictions to be trustworthy, important attention should be given to the composition of the reference lab dataset: this includes considering insects feeding on different resources of the same type. They also justify the use of powerful supervised learning algorithms that deal efficiently with different sources of variability (Luquet et al., *in prep.*).

#### *Sugar limitation in single crops*

All parasitoid females that we captured were found to be fed in triticale single crops, both near the field edge and in the field centre. These results suggest that food may not be limiting in such crops. This contradicts the first premise of the nectar provision hypothesis, which states that sugar should be a limiting resource for parasitoids in nectar-depleted systems. However, this is not the first time that such an observation is made: Lee et al. (2006) had already shown that flower resources do not increase sugar feeding by *Diadegma insulare* in cabbage fields, and suggested that sugar resource is not limited in such fields neither. In our case, HPLC results showed that females mainly fed from honeydew (> 70% of captured insects), suggesting that this food source alone may be sufficient to support parasitoid populations in triticale fields. These results are consistent with previous studies that showed that honeydew is an important food source for parasitoids (Lee et al. 2006, Wäckers et al. 2008, Tena et al. 2016), including in cereal fields (Hogervorst et al. 2007a). In other contexts, however, honeydew alone has been shown to be limiting for parasitoid population growth (Tena et al. 2013, 2015). It is thus likely that the capacity of nectar-deprived systems to support parasitoid populations is highly context-dependent, *i.e.* depending on the community of honeydew producers present in the system (Tena et al. 2016), but also on seasonal variations (Segoli & Rosenheim 2013, Tena et al. 2013). Besides, even if our field data indicated that the prevalence of nectar-fed females was the lowest in the centre of single crop fields, we still found that one quarter of the females caught in the centre had recently fed on nectar, despite the expected absence of nectar sources at this location. This result can be explained in two ways. First, despite their limited dispersal abilities, it is possible that some parasitoids still manage to exploit the nectar sources present in field margins, and then forage at the centre. Results from several studies suggest that when sugar resources are scarce, parasitoids are able to travel several tenths of meters to find food (Lavandero et al. 2005, Lee et al. 2006). Second, the centre of the field may not have been completely depleted in nectar sources. Indeed, it is rare that agroecosystems are completely devoid of weeds notably in extensively managed and/or organic crops (Petit et al. 2011). Such spontaneous vegetation can provide high-quality, accessible nectar for parasitoids (Wäckers 2004, Araj et al. 2019). Although they were much less abundant than faba bean plants in intercrops, we observed the presence of vetch in many of our investigated fields, which grew during the season. Carbohydrate analysis revealed that this weed produces a particularly sugar-rich extrafloral nectar: it is likely that such spontaneous nectar-producing plants are exploited by parasitoids in the field. Several works have shown previously that vetch extrafloral nectar increases the lifespan and fecundity of several parasitoid species (Géneau et al. 2012, Irvin et al. 2014), and the presence of this plant in field

borders may lead to higher parasitism rates (Pollier et al. 2018). Further work will be needed to quantify to what extent nectar-producing weeds may support parasitoid populations.

#### *Parasitoid feeding patterns in intercrops vs single crops*

Feeding patterns in intercrops were overall the same as what we observed in single crops, either at the field edge or in the centre: all parasitoid females were fed, and more than half of them (55%) had fed from honeydew. Besides, their sugar levels were sensibly the same as in single crops. Thus, contrarily to the predictions of the nectar provision hypothesis, we did not find clear evidence that nectar feeding increases in intercrops, compared to single crops. This result is surprising as nectar is generally a higher quality food source than honeydew (Wäckers 2000, Wäckers et al. 2008). Consequently, even if honeydew is not limiting, parasitoids are expected to forage for nectar rather than honeydew when given the choice (Vollhardt et al. 2010b). However, recent results tend to challenge this idea. Lenaerts et al. (2016) notably showed that *Aphidius ervi* prefers to feed on sugars that are over-represented in honeydew rather than nectar-related sugars. Thus, there may be some level of gustatory preference for honeydew in *Aphidius* parasitoids, which should be evaluated in further research. Charles & Paine (2016) also showed that extrafloral nectar may sometimes be an inferior food source compared to honeydew: in their experiments, *Aphidius colemani* parasitoids survived longer on *Aphis gossypii* honeydew than on zucchini extrafloral nectar. However, this is unlikely in our case as nectar food sources showed considerably higher sugar levels than all tested honeydews. The fact that we did not observe increased nectar feeding in intercrop fields may also be due to the relative quantity of available resources. Indeed, simulations run by Vollhardt et al. (2010a) showed that above a certain aphid density, nectar-feeding may become marginal compared to honeydew-feeding. In intercrop fields, aphid densities were particularly dense as we observed huge colonies of *Aphis fabae* on faba bean plants. This usually ant-attended aphid can continuously produce high amounts of honeydew (Fischer et al. 2005). Thus, given the potential massive honeydew production in intercrop fields, parasitoids may have fed on honeydew as main sugar source because it is the most abundant, suggesting that they are not able to discriminate food sources according to their quality, or even that they have learnt to feed on the most available resource. Finally, it has to be taken into account that we may have missed nectar feeding events because some insects have fed on both sugar sources. In such a case, it is difficult to tell how insects were labelled by our algorithm.

#### *Implications for biological control*

We did not find any effect of intercropping on the parasitism rates nor the density of triticale aphids, suggesting that the aphid biological control service provided by parasitoids remained unchanged compared to single crops. These results do not support the hypothesis that nectar providing enhances pest regulation in cereal agroecosystems. This refutation is consistent with our observations of parasitoid feeding activity: as sugar food appeared to be non-limiting in single crops, parasitoid feeding patterns and sugar levels did not change in intercrops, leading to no consequence on their parasitism activity. This non-limiting condition of sugar resources in our system could explain why we got results different from Tena et al. (2015), who found both that sugar is limiting in orchard systems for parasitoid populations and that parasitism increases after providing sugar sources. Taken together, these results suggest that the outcome of sugar complementation on parasitism patterns is

highly context-dependent (Jones et al. 2017), depending on the initial potential of un-diversified systems to support parasitoid populations. In the future, biochemical analyses using tools such as HPLC will be useful to quantify to what extent food may be limited in various systems, and thus to estimate the potential for biological control improvement through nectar complementation for parasitoid populations (Heimpel & Mills 2017).

The possibility remains that we have missed an effect of intercropping on parasitoid nectar feeding patterns, because of the unavoidable uncertainty of our methods (Luquet et al, in prep.). Even if this is the case, different issues may explain why we still do not observe enhanced biological control. First, it is possible that more parasitoids benefited from nectar in intercrops, but that they quickly emigrated from the field. Heimpel (2019) has indeed suggested that patch-leaving decisions after nectar feeding may often be adaptive, *e.g.* because of risks of self-superparasitism or to avoid inbreeding depression. Second, we did not consider the fourth trophic level, which may also benefit from field diversification (Araj et al. 2009). In the same system as ours (legume-cereal intercrops), a very recent study has found that the ratio between hyperparasitoids and primary parasitoids increases in intercrops, suggesting that hyperparasitoids may benefit more from diversification than primary parasitoids (Jeavons et al., *in prep.*). Thus, even if parasitoids have benefited from diversification, this effect may have been counterbalanced by increased top-down regulation by hyperparasitoids. This result calls for a better integration of trophic networks to better understand the effects of diversification schemes on ecosystemic services.

Our study is not the first to find no evidence that nectar providing increases biological control. In 2005, Heimpel & Jervis reviewed published and unpublished studies that compared parasitism levels and pest densities in control plots vs nectar-enhanced plots. They showed that only 7 out of 20 studies had found increased parasitism rates, and only one of these found decreased pest density. These results, along with ours, tend to demonstrate that presence of sugar food may often not be the key factor that limits biological control in agroecosystems. Parasitoids and other biological control agents actually have many other requirements to maintain their populations and ensure high levels of pest regulation: these include alternative hosts or preys, overwintering habitats or refuges (Gillespie et al. 2016). Further research will be needed to precisely evaluate what actually limits the population growth and pest suppression by natural enemies in particular contexts, in order to setup adapted management for conservation biological control.

## SUPPLEMENTARY INFORMATION

Appendices S1, S2 and S3 can be found at the end of the dissertation, p. 191.

## BIBLIOGRAPHY

- Altieri, M. A. (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 74(1), 19–31.
- Araj, S.-E., Wratten, S., Lister, A., & Buckley, H. (2009). Adding floral nectar resources to improve biological control: Potential pitfalls of the fourth trophic level. *Basic and Applied Ecology*, 10(6), 554–562.
- Araj, S.-E., Shields, M. W., & Wratten, S. D. (2019). Weed floral resources and commonly used insectary plants to increase the efficacy of a whitefly parasitoid. *BioControl*, 64(5), 553–561.
- Azzouz, H., Giordanengo, P., Wäckers, F. L., & Kaiser, L. (2004). Effects of feeding frequency and sugar concentration on behavior and longevity of the adult aphid parasitoid: *Aphidius ervi* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, 31(3), 445–452.
- Barranquero, J., Díez, J., & José del Coz, J. (2015). Quantification-oriented learning based on reliable classifiers. *Pattern Recognition*, 48(2), 591–604.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1–48.
- Bedoussac, L., Journet, E.-P., Hauggaard-Nielsen, H., Naudin, C., Corre-Hellou, G., Jensen, E. S., ... Justes, E. (2015). Ecological principles underlying the increase of productivity achieved by cereal-grain legume intercrops in organic farming. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(3), 911–935.
- Bianchi, F. J. J. A., & Wäckers, F. L. (2008). Effects of flower attractiveness and nectar availability in field margins on biological control by parasitoids. *Biological Control*, 46(3), 400–408.
- Bommarco, R., Kleijn, D., & Potts, S. G. (2013). Ecological intensification: harnessing ecosystem services for food security. *Trends in Ecology & Evolution*, 28(4), 230–238.
- Breiman, L. (2001). Random Forests. *Machine Learning*, 45(1), 5–32.
- Chaplin-Kramer, R., O'Rourke, M. E., Blitzer, E. J., & Kremen, C. (2011). A meta-analysis of crop pest and natural enemy response to landscape complexity. *Ecology Letters*, 14(9), 922–932.
- Charles, J. J., & Paine, T. D. (2016). Fitness Effects of Food Resources on the Polyphagous Aphid Parasitoid, *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). *PLOS ONE*, 11(1), e0147551.
- Chicco, D. (2017). Ten quick tips for machine learning in computational biology. *BioData Mining*, 10(1).
- Fischer, M. K., Völkl, W., & Hoffmann, K. H. (2005). Honeydew production and honeydew sugar composition of polyphagous black bean aphid, *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae) on various host plants and implications for ant-attendance. *EJE*, 102(2), 155–160.
- Forman, G. (2008). Quantifying counts and costs via classification. *Data Mining and Knowledge Discovery*, 17(2), 164–206.
- Géneau, C. E., Wäckers, F. L., Luka, H., Daniel, C., & Balmer, O. (2012). Selective flowers to enhance biological control of cabbage pests by parasitoids. *Basic and Applied Ecology*, 13(1), 85–93.



- Gillespie, M. A. K., Gurr, G. M., & Wratten, S. D. (2016). Beyond nectar provision: the other resource requirements of parasitoid biological control agents. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *159*(2), 207–221.
- Heimpel, G. E. (2019). Linking parasitoid nectar feeding and dispersal in conservation biological control. *Biological Control*, *132*, 36–41.
- Heimpel, G. E., & Jervis, M. A. (2005). Does floral nectar improve biological control by parasitoids? In F. L. Wackers, P. C. J. van Rijn, & J. Bruin (Eds.), *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects* (pp. 267–304). Cambridge: Cambridge University Press.
- Heimpel, G. E., & Mills, N. J. (2017, April). Conservation Biological Control I: Facilitating Natural Control through Habitat Manipulation.
- Heimpel, G., Lee, J., Wu, Z., Weiser, L., Wäckers, F., & Jervis, M. (2004). Gut sugar analysis in field-caught parasitoids: Adapting methods originally developed for biting flies. *International Journal of Pest Management*, *50*(3), 193–198.
- Hogervorst, P. a. M., Wäckers, F. L., & Romeis, J. (2007a). Detecting nutritional state and food source use in field-collected insects that synthesize honeydew oligosaccharides. *Functional Ecology*, *21*(5), 936–946.
- Hogervorst, P. A. M., Wäckers, F. L., & Romeis, J. (2007b). Effects of honeydew sugar composition on the longevity of *Aphidius ervi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *122*(3), 223–232.
- Irvin, N. A., Pinckard, T. R., Perring, T. M., & Hoddle, M. S. (2014). Evaluating the potential of buckwheat and cahaba vetch as nectar producing cover crops for enhancing biological control of *Homalodisca vitripennis* in California vineyards. *Biological Control*, *76*, 10–18.
- Jamont, M., Crépellière, S., & Jaloux, B. (2013). Effect of extrafloral nectar provisioning on the performance of the adult parasitoid *Diaeretiella rapae*. *Biological Control*, *65*(2), 271–277.
- Jamont, M., Dubois-Pot, C., & Jaloux, B. (2014). Nectar provisioning close to host patches increases parasitoid recruitment, retention and host parasitism. *Basic and Applied Ecology*, *15*(2), 151–160.
- Jeavons, E., van Baaren, J., Ferrand, M., Le Ralec, A., & Le Lann, C. When complementary resources fail to increase top down control: an answer in trophic food webs? In preparation.
- Jones, I. M., Koptur, S., & von Wettberg, E. J. (2017). The use of extrafloral nectar in pest management: overcoming context dependence. *Journal of Applied Ecology*, *54*(2), 489–499.
- Kean, J., Wratten, S., Tyljanakis, J., & Barlow, N. (2003). The population consequences of natural enemy enhancement, and implications for conservation biological control. *Ecology Letters*, *6*(7), 604–612.
- Kishinevsky, M., Cohen, N., Chiel, E., Wajnberg, E., & Keasar, T. (2018). Sugar feeding of parasitoids in an agroecosystem: effects of community composition, habitat and vegetation. *Insect Conservation and Diversity*, *11*(1), 50–57.
- Koptur, S. (1994). Floral and Extrafloral Nectars of Costa Rican Inga Trees: A Comparison of their Constituents and Composition. *Biotropica*, *26*(3), 276–284.
- Landis, D. A., Wratten, S. D., & Gurr, G. M. (2000). Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology*, *45*(1), 175–201.

- Lavandero, B., Wratten, S., Shishehbor, P., & Worner, S. (2005). Enhancing the effectiveness of the parasitoid *Diadegma semiclausum* (Helen): Movement after use of nectar in the field. *Biological Control*, *34*(2), 152–158.
- Lee, J. C., Andow, D. A., & Heimpel, G. E. (2006). Influence of floral resources on sugar feeding and nutrient dynamics of a parasitoid in the field. *Ecological Entomology*, *31*(5), 470–480.
- Lee, J. C., & Heimpel, G. E. (2008). Floral resources impact longevity and oviposition rate of a parasitoid in the field. *Journal of Animal Ecology*, *77*(3), 565–572.
- Lenaerts, M., Abid, L., Paulussen, C., Goelen, T., Wäckers, F., Jacquemyn, H., & Lievens, B. (2016). Adult Parasitoids of Honeydew-Producing Insects Prefer Honeydew Sugars to Cover their Energetic Needs. *Journal of Chemical Ecology*, *42*(10), 1028–1036.
- Letourneau, D. K., Armbrrecht, I., Rivera, B. S., Lerma, J. M., Carmona, E. J., Daza, M. C., ... Trujillo, A. R. (2011). Does plant diversity benefit agroecosystems? A synthetic review. *Ecological Applications*, *21*(1), 9–21.
- Liaw, A., & Wiener, M. (2002). Classification and Regression by randomForest. *R News*, *2*(3), 18–22.
- Lu, Z.-X., Zhu, P.-Y., Gurr, G. M., Zheng, X.-S., Read, D. M. Y., Heong, K.-L., ... Xu, H.-X. (2014). Mechanisms for flowering plants to benefit arthropod natural enemies of insect pests: Prospects for enhanced use in agriculture: Flowering plants benefit natural enemies. *Insect Science*, *21*(1), 1–12.
- Luquet, M., Parisey, N., Hervé, M., Desouhant, M., Cortesero, A.M., Peñalver-Cruz, A., Lavandero, B., Anton, S., & Jaloux, B. Inferring insect feeding patterns from sugar profiles : a comparison of statistical methods. In preparation.
- Malézieux, E., Crozat, Y., Dupraz, C., Laurans, M., Makowski, D., Ozier-Lafontaine, H., ... Valantin-Morison, M. (2009). Mixing plant species in cropping systems: concepts, tools and models. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *29*(1), 43–62.
- Mills, N. J., & Wajnberg, É. (2008). Optimal Foraging Behavior and Efficient Biological Control Methods. In *Behavioral Ecology of Insect Parasitoids* (pp. 1–30). John Wiley & Sons, Ltd.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., ... Wagner, H. (2019). vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-3. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan> (Version 2.5-6).
- Olson, D. M., & Wäckers, F. L. (2007). Management of Field Margins to Maximize Multiple Ecological Services. *Journal of Applied Ecology*, *44*(1), 13–21.
- Petit, S., Boursault, A., Le Guilloux, M., Munier-Jolain, N., & Reboud, X. (2011). Weeds in agricultural landscapes. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *31*(2), 309–317.
- Pollier, A., Guillomo, L., Tricault, Y., Plantegenest, M., & Bischoff, A. (2018). Effects of spontaneous field margin vegetation on the regulation of herbivores in two winter crops. *Basic and Applied Ecology*.
- Praslicka, J. (Univerzita K. F., Al Dobai, S., & Huszar, J. (2003). Hymenopteran parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae) of cereal aphids (Sternorrhyncha: Aphidoidea) in winter wheat crops in Slovakia. *Plant Protection Science*, *39*(3), 97–102.

- R Core Team. (2018). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <http://www.R-project.org>
- Segoli, M., & Rosenheim, J. A. (2013). Spatial and temporal variation in sugar availability for insect parasitoids in agricultural fields and consequences for reproductive success. *Biological Control*, *67*(2), 163–169.
- Steppuhn, A., & Wäckers, F. L. (2004). HPLC sugar analysis reveals the nutritional state and the feeding history of parasitoids. *Functional Ecology*, *18*(6), 812–819
- Tena, A., Pekas, A., Wäckers, F. L., & Urbaneja, A. (2013). Energy reserves of parasitoids depend on honeydew from non-hosts. *Ecological Entomology*, *38*(3), 278–289.
- Tena, A., Pekas, A., Cano, D., Wäckers, F. L., & Urbaneja, A. (2015). Sugar provisioning maximizes the biocontrol service of parasitoids. *Journal of Applied Ecology*, *52*(3), 795–804.
- Tena, A., Wäckers, F. L., Heimpel, G. E., Urbaneja, A., & Pekas, A. (2016). Parasitoid nutritional ecology in a community context: the importance of honeydew and implications for biological control. *Current Opinion in Insect Science*, *14*, 100–104.
- The International Aphid Genomics Consortium. (2010). Genome Sequence of the Pea Aphid *Acyrtosiphon pisum*. *PLoS Biology*, *8*(2).
- Tian, J.-C., Wang, G.-W., Romeis, J., Zheng, X.-S., Xu, H.-X., Zang, L.-S., & Lu, Z.-X. (2016). Different Performance of Two *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Species Feeding on Sugars. *Environmental Entomology*, *45*(5), 1316–1321.
- Tylianakis, J. M., Didham, R. K., & Wratten, S. D. (2004). Improved Fitness of Aphid Parasitoids Receiving Resource Subsidies. *Ecology*, *85*(3), 658–666.
- Van Rijn, P. C. J., & Sabelis, M. W. (2005). Impact of plant-provided food on herbivore–carnivore dynamics. In F. L. Wackers, P. C. J. van Rijn, & J. Bruin (Eds.), *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects* (pp. 223–266). Cambridge: Cambridge University Press.
- Vandermeer, J. H. (1989). *The Ecology of Intercropping*. Cambridge University Press.
- Vollhardt, I. M. G., Bianchi, F. J. J. A., Wäckers, F. L., Thies, C., & Tschardtke, T. (2010a). Spatial distribution of flower vs. honeydew resources in cereal fields may affect aphid parasitism. *Biological Control*, *53*(2), 204–213.
- Vollhardt, I. M. G., Bianchi, F. J. J. A., Wäckers, F. L., Thies, C., & Tschardtke, T. (2010b). Nectar vs. honeydew feeding by aphid parasitoids: does it pay to have a discriminating palate?: Does preference for nectar matter? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *137*(1), 1–10.
- Wäckers, F. L. (2001). A comparison of nectar-and honeydew sugars with respect to their utilization by the hymenopteran parasitoid *Cotesia glomerata*. *Journal of Insect Physiology*, *47*(9), 1077–1084.
- Wäckers, F. L. (2004). Assessing the suitability of flowering herbs as parasitoid food sources: flower attractiveness and nectar accessibility. *Biological Control*, *29*(3), 307–314.

- Wäckers, Felix L., & van Rijn, P. C. J. (2005). Food for protection: an introduction. In F. L. Wäckers, P. C. J. van Rijn, & J. Bruin (Eds.), *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects* (pp. 1–14). Cambridge: Cambridge University Press.
- Wäckers, Felix L., van Rijn, P. C. J., & Heimpel, G. E. (2008). Honeydew as a food source for natural enemies: Making the best of a bad meal? *Biological Control*, 45(2), 176–184.
- Wäckers, F.L. (2005). Suitability of (extra-) floral nectar, pollen and honeydew as insect food sources. In *Plant-provided Food for Carnivorous Insects: A Protective Mutualism and its Applications* (pp. 17–74). Cambridge University Press.
- Wilkinson, T. K., & Landis, D. A. (2005). Habitat diversification in biological control: the role of plant resources. In F. L. Wäckers, P. C. J. van Rijn, & J. Bruin (Eds.), *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects* (pp. 305–325). Cambridge: Cambridge University Press.
- Winkler, K., Wäckers, F., Bukovinszky-Kiss, G., & van Lenteren, J. (2006). Sugar resources are vital for *Diadegma semiclausum* fecundity under field conditions. *Basic and Applied Ecology*, 7(2), 133–140.
- Winkler, K., Wäckers, F., & Pinto, D. M. (2009). Nectar-providing plants enhance the energetic state of herbivores as well as their parasitoids under field conditions. *Ecological Entomology*, 34(2), 221–227.
- Zuur, A. F., & Ieno, E. N. (2016). A protocol for conducting and presenting results of regression-type analyses. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(6), 636–645.



## DISCUSSION GENERALE

Dans ce travail de thèse, notre objectif était d'étudier la relation entre la diversité des ressources et leur exploitation par les organismes, ainsi que les conséquences de cette relation. Pour étudier ces questions, nous avons pris pour modèle les hyménoptères parasitoïdes du genre *Aphidius* dans des cultures pures (céréale, féverole) et des cultures associées céréale-féverole. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés aux stratégies comportementales que la femelle parasitoïde *Aphidius ervi* met en place pour la sélection d'hôte quand plusieurs complexes plante-hôte sont disponibles. En particulier, nous avons évalué comment la complexité olfactive liée à un environnement diversifié influence ces stratégies. Nous avons pu confirmer que ce parasitoïde met en place un mécanisme d'apprentissage précoce, qui conditionne ses préférences olfactives parmi plusieurs complexes plante-hôte (Daza-Bustamante et al. 2002). Nos expériences ont permis d'identifier un mécanisme physiologique potentiel pour expliquer cette plasticité comportementale. Nous avons également pu montrer que ce processus d'apprentissage à lui seul ne permet pas d'expliquer les décisions de ponte des parasitoïdes, mettant en évidence la nécessité de prendre en compte différents mécanismes d'adaptation et différentes échelles spatiales pour bien comprendre ces décisions comportementales (Aartsma et al. 2017). Nos résultats ont surtout permis de mettre en évidence que la complexité olfactive de l'habitat influence le processus d'apprentissage olfactif précoce du parasitoïde, et les décisions comportementales qui en découlent.

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à la façon dont la diversité de ressources présentes à l'échelle de la parcelle conditionne les patrons d'exploitation de nourriture et d'hôtes par les communautés d'*Aphidius* spp. Nos résultats ont mis en évidence que le miellat est une ressource alimentaire particulièrement utilisée par les parasitoïdes dans les champs de céréales, comme de récents résultats ont pu le montrer dans différents systèmes (Hogervorst et al. 2007a, Vollhardt et al. 2010a, Tena et al. 2013, 2016). Contrairement à ce qui était attendu, notre étude n'a pas permis de montrer que l'association d'une céréale avec une légumineuse productrice de nectar extra-floral (la féverole) modifie l'activité alimentaire des parasitoïdes. Nous n'avons pas observé non plus d'effet de la diversification de la parcelle sur l'activité d'exploitation des hôtes par les parasitoïdes. Ces résultats vont dans le sens d'observations empiriques et de réflexions théoriques accumulées dans la dernière décennie, qui mettent en doute l'universalité de l'hypothèse de provision de nectar (Heimpel 2019). Ils confirment également des résultats très récents (Jeavons et al., in prep.) qui ne montrent pas non plus d'augmentation du parasitisme dans des associations céréale-légumineuse. Ainsi, à l'heure actuelle, il est difficile de conclure sur un éventuel potentiel bénéfique des associations de culture en terme de contrôle biologique des pucerons. En revanche, nos travaux ouvrent de nouvelles perspectives par rapport aux méthodes de suivi empirique de l'activité alimentaire *in situ* grâce aux données métaboliques. Les méthodes de prédiction employées ont montré des performances bien supérieures aux algorithmes classiques ; de plus, leur flexibilité permet d'envisager une généralisation de ces méthodes à de nombreuses questions et sur divers modèles biologiques.

## 1. Relation entre diversité des complexes plante-hôte et comportement d'approvisionnement des parasitoïdes

### 1.1. De nouveaux éléments pour comprendre l'induction précoce des préférences olfactives chez *Aphidius ervi*

Dans un habitat donné, un parasitoïde peut avoir la possibilité de choisir parmi plusieurs ressources supplémentaires, par exemple différentes espèces d'hôtes. La femelle parasitoïde doit donc prendre des décisions d'exploitation : en particulier, elle doit choisir quelle espèce d'hôte parasiter. Ces décisions sont particulièrement importantes pour l'insecte car elles conditionnent directement sa fitness : en effet, selon la qualité et la disponibilité relatives des différents hôtes, s'engager dans la recherche et l'exploitation de tel ou tel hôte a des conséquences directes sur la fécondité de la femelle et la qualité de sa descendance. Il existe donc une forte pression de sélection, poussant au développement de mécanismes adaptatifs permettant de prendre des décisions d'approvisionnement optimales. Nos résultats ont pu confirmer l'existence d'un de ces mécanismes chez *Aphidius ervi* : cet insecte est capable d'un apprentissage précoce des odeurs associées à son complexe plante-hôte d'origine, qui conditionne ses préférences parmi plusieurs complexes plante-hôte au stade adulte. Ce mécanisme est déjà connu chez de nombreux parasitoïdes (Giunti et al. 2015 pour une review), y compris chez *A. ervi* (Daza-Bustamante et al. 2002, Gutiérrez-Ibáñez et al. 2007, Takemoto et al. 2012). En revanche, nos résultats permettent d'apporter de nouveaux éléments sur ce mécanisme d'induction des préférences olfactives.

Un premier élément notable est que les préférences que nous avons observées sont différentes de celles qui ont été mises en évidence sur des souches chiliennes de *A. ervi*. En effet, dans leurs travaux, Daza-Bustamante et al. (2002) avaient mis en évidence une relation symétrique entre l'origine des femelles parasitoïdes et leurs préférences olfactives (elles préféraient systématiquement les odeurs de leur complexe plante-hôte d'origine). Nos travaux, dans lesquels les mêmes complexes étaient utilisés, ont révélé une relation asymétrique : des femelles originaires du complexe *Acyrtosiphon pisum* – féverole préfèrent toujours leur hôte d'origine, alors que des femelles originaires du complexe *Sitobion avenae* – orge n'ont pas de préférence. Il est difficile de conclure définitivement sur l'origine de ces différences, étant donné que nous avons utilisé des méthodes légèrement différentes pour évaluer les réponses comportementales des insectes. Cependant, il est probable que les populations françaises et chiliennes de *A. ervi* aient développé des stratégies comportementales différentes. Un élément permettant de justifier cette hypothèse est qu'*A. ervi* n'a été introduit que très récemment au Chili (il y a 40 ans), à partir de petites populations européennes, en particulier une population française (Zuñiga et al. 1986, Starý et al. 1993). De récentes analyses de marqueurs microsatellites ont pu montrer que ces populations ont été sujettes à un important goulot d'étranglement génétique, qui a modifié la structure génétique de ces populations par rapport aux populations européennes d'origine (Zepeda-Paulo et al. 2016). De plus, un important flux de gènes semble avoir empêché l'adaptation locale des populations chiliennes à leurs hôtes (Zepeda-Paulo et al. 2015). Les différences génétiques entre les populations européennes et sud-américaines pourraient donc expliquer les différences comportementales observées. De façon plus générale, ces résultats soulignent l'intérêt de considérer l'échelle infra-spécifique pour comprendre les adaptations comportementales mises en place par les parasitoïdes. La variation géographique peut notamment être une source importante de variabilité dans les comportements de sélection d'hôte des femelles parasitoïdes (Potting et al. 1997).

Nos expériences ont également permis d'identifier un des mécanismes physiologiques permettant la mise en place de l'induction précoce des préférences du parasitoïde, au moins en partie : le complexe plante-hôte d'origine semble moduler la sensibilité antennaire des femelles aux stimuli olfactifs. En effet, des femelles d'origine différentes ont fait preuve d'une sensibilité antennaire différente à des composés organiques volatils associés à leur complexe plante-hôte d'origine ou à un complexe alternatif. Ces observations coïncident avec les résultats obtenus par Ballesteros et al. (2017), qui ont montré que le complexe d'origine de *A. ervi* influence l'expression de gènes codant pour des protéines impliquées dans l'olfaction (*odorant binding proteins* et *olfactory receptor proteins*). En influençant l'expression de ces gènes lors des stades pré-imaginaux, le complexe plante-hôte modifierait donc la sensibilité antennaire du parasitoïde aux stimuli olfactifs présents dans son environnement une fois adulte, ce qui conditionnerait ses préférences comportementales. L'observation que l'induction précoce des préférences est en partie déterminée par une modulation de la sensibilité antennaire tend à confirmer le fait que les réponses comportementales de *A. ervi* impliquent une persistance de la mémoire entre les stades pré-imaginaux et le stade adulte, plutôt que l'acquisition d'un « héritage chimique » au moment de l'émergence (Gutiérrez-Ibañez et al. 2007, Takemoto et al. 2011). La conservation de l'information acquise lors des stades pré-imaginaux est un phénomène déjà observé chez les parasitoïdes (Gandolfi et al. 2003), mais qui reste intrigant, étant donné l'importante reconfiguration du système nerveux qui a lieu lors de la nymphose et de la métamorphose (Barron & Corbet 1999, Blackiston et al. 2015) – y compris dans les corps pédonculés (*mushroom bodies*), dans lesquels est stockée la mémoire olfactive (de Belle & Heisenberg 1994). Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer ces phénomènes, incluant l'implication de la régulation à différents niveaux des circuits neuronaux de la chimioréception (Blackiston et al. 2015). Nos observations semblent aller dans ce sens, étant donné que nous avons trouvé une influence de l'expérience précoce sur la sensibilité antennaire. Cependant, de nombreux travaux devront encore être réalisés pour comprendre les mécanismes moléculaires et neuro-anatomiques impliqués : les antennes sont très rudimentaires chez la larve et le système périphérique est également fortement reconfiguré pendant les derniers stades de développement de l'insecte. De plus, les résultats de Ballesteros et al. (2017) indiquent que des gènes impliqués dans la formation du système nerveux central, en particulier des centres qui assurent la formation de la mémoire à long terme, sont également régulés et probablement impliqués dans la persistance de la mémoire. Quoi qu'il en soit, l'implication de processus transcriptionnels révélée par Ballesteros et al. (2017) dans le maintien de la mémoire est particulièrement intéressante : des processus similaires ont été mis en évidence chez de nombreux taxons (Zokvic et al. 2013, Chen et al. 2014) et soulignent l'importance des réseaux de régulation de gènes dans le stockage de la mémoire et sa transmission héréditaire. Ces différents résultats tendent également à confirmer l'importance des processus épigénétiques dans l'évolution et le maintien des stratégies comportementales des parasitoïdes. En effet, ces processus modulent différents aspects de ces stratégies, comme l'allocation du sexe de la descendance (Cook et al. 2015).

Un autre élément que nos expériences ont permis de mettre en évidence est que le processus d'apprentissage précoce est modulé par la complexité olfactive de l'environnement au moment du développement du parasitoïde. Ces résultats confirment ceux obtenus par van Emden et al. (2002), qui avaient déjà montré que des odeurs étrangères au complexe plante-hôte influencent le processus d'apprentissage précoce. En revanche, ce que nous avons pu montrer de nouveau est que le parasitoïde est capable d'apprendre les odeurs associées à un complexe alternatif, placé dans le voisinage de son complexe d'origine. Cet apprentissage simultané de plusieurs bouquets odorants pourrait donc avoir des conséquences écologiques importantes. En effet, nous avons observé que la complexité olfactive de l'environnement d'origine module les préférences du parasitoïde parmi plusieurs complexes plante-hôte, une fois que le parasitoïde est devenu adulte. Ce résultat souligne



l'importance d'intégrer les différentes sources d'information auxquelles les parasitoïdes sont confrontés, afin de mieux comprendre leurs stratégies d'exploitation en conditions naturelles. En effet, les parasitoïdes se développent rarement dans un environnement composé d'un seul bouquet odorant (Hilker & McNeil 2008) : il est probable qu'ils détectent fréquemment des odeurs externes, en particuliers des odeurs associées à d'autres hôtes potentiels. L'influence de la complexité olfactive sur le comportement d'approvisionnement des parasitoïdes est déjà connue (Schröder & Hilker 2008, Hilker & McNeil 2008, Wäschke et al. 2013), mais nos travaux sont un des premiers à montrer que cette complexité influence les processus d'apprentissage.

## 1.2. Apprentissage précoce et décisions d'exploitation parmi plusieurs complexes plante-hôte

L'apprentissage précoce des odeurs associées au complexe plante-hôte conditionne les préférences olfactives de la femelle *A. ervi* : nous nous attendions donc à ce que ce mécanisme influence ses choix de ponte, lorsque deux complexes sont présentés au parasitoïde. Cependant, nos résultats en expérience de choix ont donné des résultats étonnants. En effet, nous n'avons pas trouvé d'effet du complexe d'origine sur le choix du parasitoïde de se poser sur l'un ou l'autre complexe. En revanche, les parasitoïdes ayant émergé du complexe féverole – *A. pisum* attaquaient davantage de pucerons (peu importe l'espèce de puceron). Par ailleurs, les femelles tentaient davantage de pondre dans *A. pisum*, peu importe leur origine. Ces résultats ont plusieurs implications, à la fois pour comprendre les conséquences du processus d'apprentissage précoce sur les interactions hôte-parasitoïde, et pour replacer les décisions comportementales du parasitoïde dans le cadre de la théorie de l'approvisionnement optimal.

L'absence de correspondance entre les résultats obtenus en olfactométrie et en expériences de choix indique que d'autres facteurs que les préférences olfactives induites par l'expérience précoce influencent les choix du complexe plante-hôte par le parasitoïde. L'apparente faible influence de ces préférences peut potentiellement s'expliquer par l'échelle spatiale réduite de nos expériences de choix. En effet, les réponses des parasitoïdes aux signaux olfactifs dépendent de la distance à la ressource (Wäschke et al. 2013, Aartsma et al. 2017, Fig. 1). En effet, si des signaux olfactifs tels que des HIPVs (*herbivore-induced plant volatiles*) peuvent attirer des parasitoïdes sur de longues distances, *e.g.* pour repérer un habitat dans un paysage donné, la réponse des insectes à ces stimuli peut être différente une fois que le parasitoïde est proche de cet habitat : à cette échelle plus réduite, la complexité de la communauté de plantes entourant la ressource contribue à la complexité du mélange olfactif perçu par le parasitoïde (Aartsma et al. 2017, Fig. 1). Si la présence d'un fond olfactif complexe d'odeurs peut parfois améliorer la détection d'un complexe plante-hôte (Schröder & Hilker 2008), elle peut également perturber cette détection : le parasitoïde *Diadegma semiclausum* a par exemple plus de difficulté à localiser des plantes infestées par ses hôtes lorsque des plantes différentes sont présentes dans l'habitat (Bukovinszky et al. 2007). Ce phénomène de « masquage olfactif » peut être dû à la présence de composés répulsifs émis par les plantes voisines, ou à cause d'interférences trop nombreuses au niveau du système périphérique (Schröder & Hilker, 2008). En effet, dans un environnement trop complexe, les contraintes neurobiologiques des insectes peuvent les empêcher de prendre des décisions adaptatives (Wäschke et al. 2013). Dans nos expériences, il est donc possible que la présence des deux complexes plante-hôte dans un espace limité et confiné ait rendu l'environnement olfactif trop confus pour les femelles *A. ervi*, et leur décision de se poser sur une plante peut avoir été aléatoire. Wäschke et al. (2013) suggèrent en effet que de nombreux parasitoïdes auraient intérêt à adopter des stratégies leur permettant de passer outre la complexité olfactive : par exemple en privilégiant des stimuli alternatifs (*e.g.* visuels) sur de courtes distances (« ignorer la

complexité »), comme il l'a été observé chez le parasitoïde *Drino inconspicua* (Dippel & Hilker 1998), ou simplement en privilégiant des environnements moins complexes (« éviter la complexité »). Nos expériences ne permettent pas de déterminer laquelle de ces stratégies serait employée par *Aphidius ervi*. Cependant, des expériences comportementales pourraient facilement déterminer si ce parasitoïde préfère effectivement éviter la complexité, en donnant le choix au parasitoïde de s'orienter vers un environnement contenant deux complexes plante-hôte, ou un seul des deux.

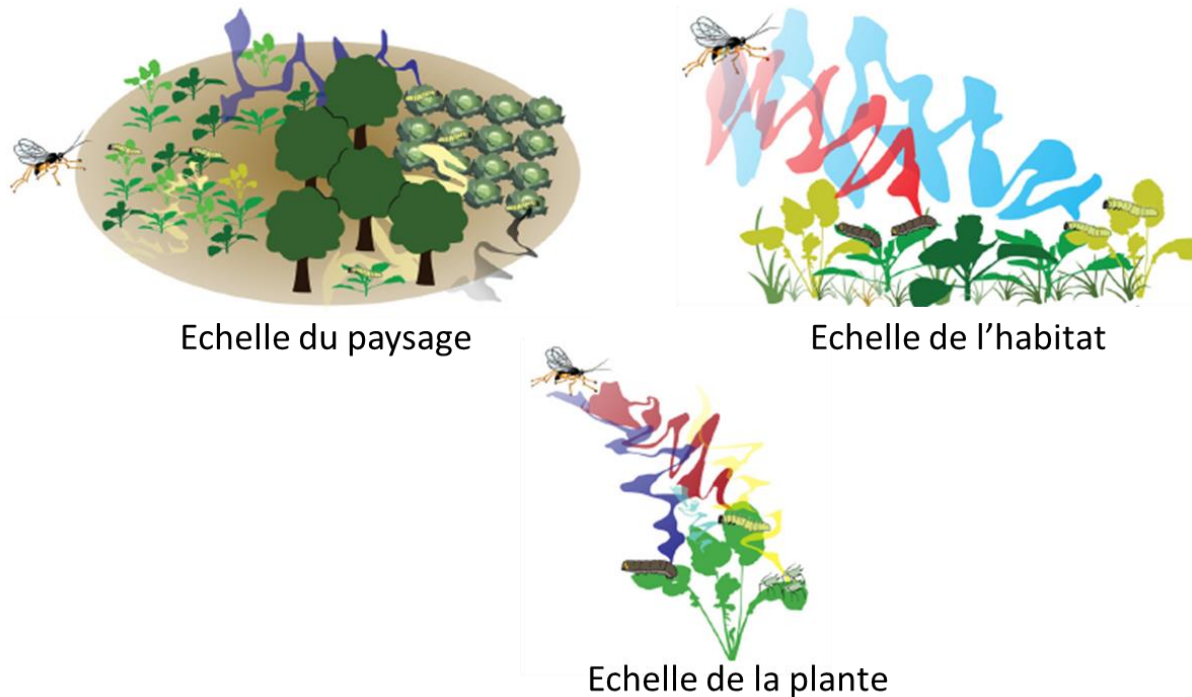


Figure 1 La détection de signaux olfactifs par les parasitoïdes intervient à plusieurs échelles spatiales. La mosaïque olfactive perçue par les parasitoïdes est différente à chacune de ces échelles (paysage, habitat, plante), et ses réponses comportementales aux stimuli olfactifs sont susceptibles de varier. De Aartsma et al. (2017).

Si nous n'avons pas observé de préférence pour un complexe plante-hôte, nous avons tout de même observé qu'une fois qu'elles avaient atterri sur une plante, les femelles préféraient attaquer un puceron (*A. pisum*) plutôt qu'un autre (*S. avenae*). Ce résultat indique que d'autres facteurs que le choix d'un complexe plante-hôte sont en jeu dans le processus de localisation et/ou de sélection d'hôte. En effet, la localisation d'un habitat hébergeant des hôtes n'est pas la seule étape dans ce processus, et le comportement de recherche des parasitoïdes est généralement séquentiel : recherche de l'habitat de l'hôte (e.g. une plante), recherche de l'hôte, acceptation de l'hôte (Wajnberg & Ris 2009). A chacune de ces étapes, les parasitoïdes exploitent des stimuli différents pour trouver leur hôte (Figure 2), tels que des signaux visuels ou vibrationnels, ou encore des stimuli chémosensoriels de contact (Vinson 1975, 1991, Wajnberg & Ris 2009, Iacovone et al. 2016). Chez *A. ervi*, il a notamment été montré que la couleur du puceron peut influencer la décision de la femelle de pondre dans un hôte (Battaglia et al. 1995, Langley et al. 2006). Dans nos expériences, les couleurs des pucerons étaient différentes (rose pour *A. pisum*, vert pour *S. avenae*), mais ne semblent pas corroborer les résultats des expériences précédentes, qui montrent que la femelle *A. ervi*, lorsqu'elle n'a pas eu d'expérience d'oviposition, est plus attirée par des clones verts de *A. pisum* que par des clones roses du même puceron (Langley et al. 2006). De façon alternative, des stimuli visuels liés au mouvement ont également pu être en jeu, comme il l'a été observé chez d'autres modèles (Dippel & Hilker 1998) : nous

avons effectivement observé qu'*A. pisum*, se déplace beaucoup plus sur sa plante que *S. avenae*. D'autres expériences seront nécessaires pour déterminer l'importance relative des signaux exploités à différentes échelles spatiales et à chaque étape du processus de sélection d'hôte par *A. ervi*. Quoiqu'il en soit, ces résultats soulignent le fait que les expériences d'olfactométrie ne permettent pas de prédire la totalité des stratégies d'exploitation effectivement mises en place par les parasitoïdes.

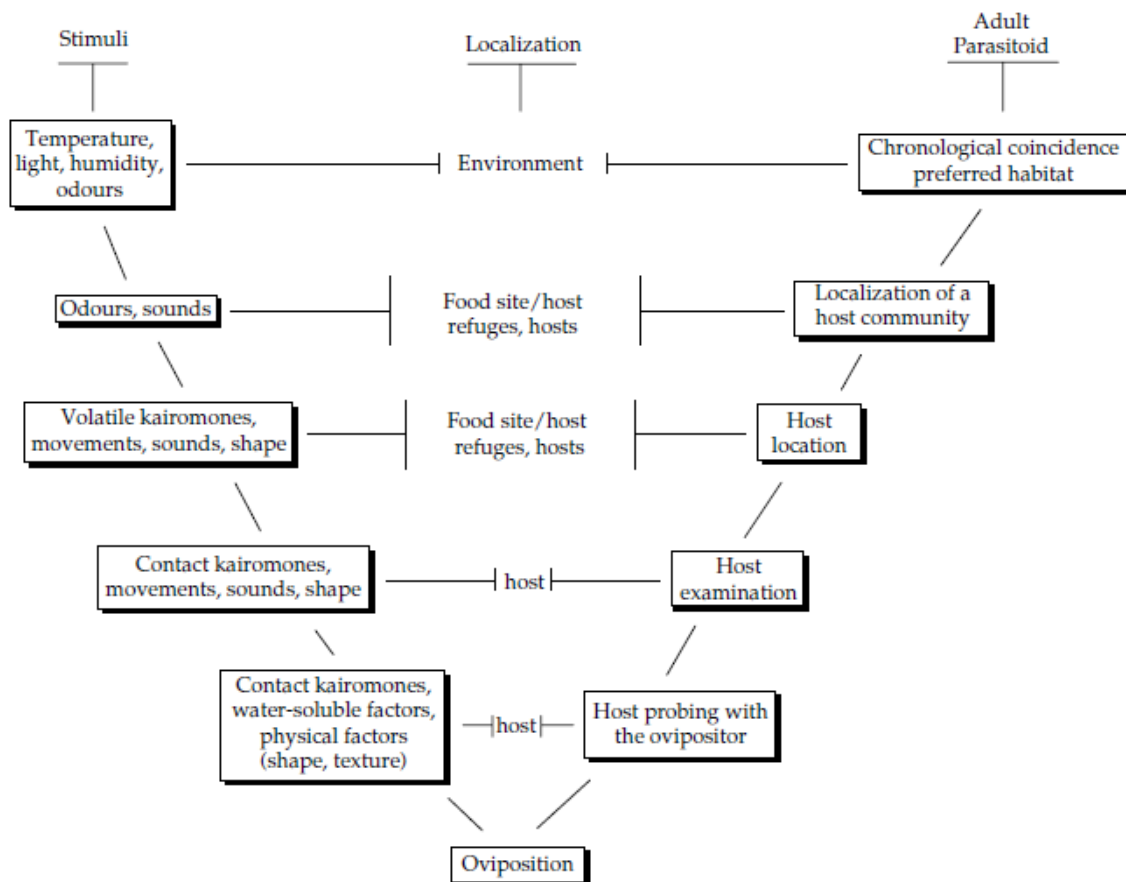


Figure 2 Le comportement de localisation et de sélection d'hôte par les parasitoïdes est séquentiel. A chaque étape de ce processus, les stimuli employés par les parasitoïdes pour rechercher et/ou accepter leur hôte varient. A mesure que le parasitoïde se rapproche de l'hôte, les stimuli olfactifs deviennent en général moins importants, et il utilise plutôt des signaux visuels ou gustatifs. De Vinson (1975), modifié par Wajnberg & Ris (2009).

Etant donné l'absence de correspondance entre nos différents résultats, il est assez difficile de les interpréter d'un point de vue adaptatif. Cependant, plusieurs éléments peuvent être notés. Premièrement, bien que les résultats d'olfactométrie et ceux obtenus en expérience de choix ne correspondent pas totalement, il en ressort que *A. ervi* a une préférence globalement plus marquée pour l'hôte *A. pisum* que pour *S. avenae*. En effet, se développer sur *A. pisum* induit une préférence olfactive pour cet hôte (ce qui n'est pas le cas pour *S. avenae*) et bien qu'en expérience de choix elle ne se dirige pas préférentiellement vers le complexe *A. pisum*-féverole, la femelle attaque plus fréquemment *A. pisum* que *S. avenae*. Avant de réaliser nos expériences, nous avons fait l'hypothèse que ces deux hôtes sont de même qualité pour le parasitoïde, comme l'avaient montré Zepeda-Paulo et al. (2013). Cependant, ces résultats avaient été obtenus sur des souches chiliennes : comme il l'a été expliqué précédemment, il est probable que ces populations diffèrent dans leurs caractéristiques comportementales et physiologiques des souches européennes. De plus, d'autres résultats suggèrent qu'*A. pisum* pourrait en fait être un meilleur hôte (Pungerl 1984, Daza-Bustamante et al. 2003). Nos

résultats vont plutôt dans le sens de cette hypothèse : nous avons observé que les parasitoïdes s'étant développé dans *A. pisum* attaquent davantage de pucerons, ce qui suggère qu'ils auront davantage de descendants. De plus, bien que nous ne l'ayons pas rigoureusement évalué, nos observations en laboratoire semblent montrer que les *A. ervi* ont une taille bien plus grande et vivent plus longtemps lorsqu'ils se sont développé sur *A. pisum*. Ainsi, nos observations semblent aller dans le sens de l'hypothèse « mother knows best » : le parasitoïde a tendance à préférer l'hôte qui maximise la fécondité de sa descendance (Jaenike 1978, Gripenberg et al. 2010). Malgré cette préférence, nos résultats montrent qu'il existe tout de même une certaine plasticité dans les préférences du parasitoïde (au moins olfactives), permises par l'apprentissage précoce – même si nous n'avons pas observé de fidélité à l'hôte lors de nos expériences de choix. En apprenant les odeurs associées à son hôte d'origine, le parasitoïde s'assure la possibilité de détecter un hôte qui sera probablement présent dans son environnement. Cette plasticité pourrait, dans une certaine mesure et à certaines échelles spatiales, permettre au parasitoïde d'ajuster ses préférences à l'hôte le plus abondant dans son environnement (Raymond et al. 2016) : nos résultats pourraient donc traduire l'existence d'un compromis entre qualité et disponibilité de l'hôte. Cependant, davantage d'expériences seront nécessaires pour mieux évaluer les gains en fitness procurés au parasitoïde par chaque hôte. Enfin, il est pour l'instant difficile de conclure si l'apprentissage du bouquet d'odeurs lié à un complexe plante-hôte alternatif durant le développement peut avoir un intérêt adaptatif, étant donné l'absence de correspondance entre les expériences d'olfactométrie et les expériences de choix. Il est possible que l'expérience d'odeurs étrangères soit inévitable lors du processus d'apprentissage des stimuli olfactifs liés au complexe plante-hôte d'origine, et constitue davantage un bruit qu'un signal (van Emden et al. 2002). Cependant, cet apprentissage précoce d'un environnement plus complexe que le seul complexe plante-hôte d'origine pourrait être avantageux pour le parasitoïde en lui faisant expérimenter un environnement complexe de façon précoce, ce qui lui permettrait de plus facilement prendre des décisions d'approvisionnement dans de tels environnements une fois adulte. Il est en effet intéressant de noter que dans nos expériences de choix, les femelles s'étant développées en présence des odeurs des deux complexes plante-hôte, dans un environnement olfactif qui est donc le même que celui auxquels elles ont été confrontées lors de l'expérience, aient plus fréquemment atterri sur une plante. Il est possible qu'avoir déjà expérimenté un environnement olfactivement complexe aient augmenté leur motivation à choisir une plante dans un environnement contenant la même mosaïque olfactive.

### 1.3. Implications pour le contrôle biologique en culture pure et associée

Etant donné la multiplicité des facteurs conditionnant la sélection d'hôte par les parasitoïdes en conditions naturelles, il est difficile de prédire l'implication des mécanismes mis en évidence sur le contrôle biologique sur la base de nos seuls résultats. Les prédictions sont d'autant plus difficiles que nous n'avons pas trouvé de correspondance entre nos différentes expérimentations de laboratoire. En se fiant aux résultats d'olfactométrie, on pourrait s'attendre à ce que l'association des cultures favorise le parasitisme de *A. pisum*, au détriment de celui de *S. avenae*. En effet, les préférences olfactives de la femelle *A. ervi* semblent globalement biaisées en faveur du complexe féverole - *A. pisum* ; de plus, la préférence pour ce complexe est favorisée par la complexité olfactive lors de l'apprentissage. Si l'on se fie plutôt aux résultats des expériences de choix, on ne s'attend pas forcément à une différence de parasitisme entre les cultures pures et associées – aucune différence de préférence n'ayant été observée par rapport au choix du complexe plante-hôte. Nos résultats de terrain vont plutôt dans le sens de cette deuxième hypothèse : le parasitisme des pucerons des céréales (majoritairement représentés par *S. avenae*) est resté inchangé, et nous n'avons pas trouvé d'augmentation nette du

parasitisme sur *A. pisum* (résultats non présentés ici, en raison d'un très faible nombre de *A. pisum* dans les cultures). Cependant, nos interprétations ne peuvent être que très limitées : d'autres expériences seront nécessaires pour faire le lien entre les stratégies comportementales observées en laboratoire et la dynamique de l'interaction des populations d'hôtes et de parasitoïdes en milieu naturel. Des expériences en mésocosme, dans lesquelles des parasitoïde d'origine contrôlée seraient mis en présence des deux pucerons sur leur plante respective, pourraient par exemple permettre d'évaluer l'influence de l'environnement d'origine des parasitoïdes sur les taux de parasitisme.

## 2. Exploitation de ressources dans des cultures pures et associées

### 2.1 Les ressources alimentaires exploitées par les parasitoïdes en cultures pures et associées

Nos analyses de l'écologie nutritionnelle des parasitoïdes en conditions naturelles ont pu mettre en évidence que le miellat est une ressource alimentaire particulièrement importante pour ces insectes. En effet, plus de 50% des femelles *Aphidius* capturées s'étaient nourris de miellat, dans tout type de champ. Ce résultat peut paraître surprenant, car le miellat est généralement considéré comme une source d'alimentation secondaire pour les parasitoïdes : en effet, il s'agit généralement d'une ressource de plus faible qualité nutritive que le nectar (Wäckers 2001), plus difficilement consommable du fait de sa viscosité (Wäckers 2005), et dont la disponibilité varie selon les conditions environnementales (Segoli & Rosenheim 2013, Tena et al. 2013). Malgré ce fait, cette ressource semble être largement consommée par les parasitoïdes que nous avons étudiés, à la fois dans des cultures ne contenant *a priori* pas de sources de nectar (des cultures de céréale pure) et dans des cultures contenant des sources de nectar (des cultures associées). Cette observation tend à confirmer les résultats des quelques études qui ont quantifié la prise alimentaire des parasitoïdes dans la dernière décennie, et qui montrent la prévalence du miellat dans le régime alimentaire de différentes espèces de parasitoïdes dans une variété de systèmes de culture (Lee et al. 2006, Hogervorst et al. 2007a, Olson & Wäckers 2007, Tena et al. 2013, Calabuig et al. 2015). Ainsi, malgré ses « défauts », le miellat semble être un élément essentiel dans l'écologie de certains parasitoïdes. Cette hypothèse semble d'autant plus crédible que dans notre étude, tous les parasitoïdes capturés ont été identifiés comme s'étant nourris récemment – y compris au centre des cultures de céréale pure, où les sources de nectar sont difficilement accessibles. Il semble donc que dans ces systèmes, la nourriture ne soit pas limitante et que le miellat suffise quasiment à lui seul à soutenir les populations de parasitoïdes (des résultats obtenus par Lee et al. 2006 laissaient déjà suggérer cette hypothèse, dans un système différent). Ce résultat rejoint l'idée, avancée par plusieurs auteurs, que malgré le fait que sa production varie dans le temps, le miellat est probablement la source de nourriture la plus disponible et la plus facilement accessible pour les parasitoïdes dans une majorité d'agroécosystèmes (Wäckers et al. 2008, Tena et al. 2016).

Malgré le fait que le miellat soit la ressource alimentaire la plus importante, nos résultats ont tout de même montré que le nectar fait partie intégrante du régime alimentaire des parasitoïdes *Aphidius* spp. en conditions naturelles. Un résultat étonnant a été qu'y compris au centre des cultures pures de céréale, une fraction non négligeable des populations de parasitoïdes semble s'être nourrie de nectar. Nos méthodes ne nous ont pas permis d'identifier les sources précises de nectar sur lesquelles ces insectes s'alimentent. Cependant, la présence non négligeable de végétation spontanée dans ces parcelles en agriculture biologique, en particulier de la vesce commune *Vicia sativa*, semblent indiquer que les insectes puissent s'être nourris du nectar produit par ces adventices. Cette

interprétation implique que des milieux qui peuvent à première vue être considérés comme dépourvus de nectar ne le sont en fait pas tant que ça, et que le nectar produit par les adventices dans la parcelle peut soutenir une partie des populations de parasitoïdes dans la parcelle, comme d'autres travaux ont pu le montrer pour la végétation de bordure (Bischoff et al. 2016, Pollier et al. 2018). Cela pourrait être particulièrement le cas en agriculture biologique, où la gestion des adventices est souvent vouée à être partielle et où les parcelles peuvent contenir une densité importante de végétation spontanée (Hole et al. 2004, Petit et al. 2011). La haute teneur en sucre de la vesce observée en laboratoire indique que ces sources de nectar pourraient être particulièrement bénéfiques pour les parasitoïdes. De récents résultats obtenus par Araj et al. (2019) ont montré que les nectars produits par deux adventices multiplient par trois la longévité du parasitoïde *Ertmocerus mundus*, et tendent à confirmer le bénéfice potentiel que ce type de végétation pourrait apporter pour les parasitoïdes dans les agroécosystèmes. Dans notre cas, ces plantes semblent n'avoir joué qu'un rôle mineur dans l'alimentation des parasitoïdes, mais ce rôle pourrait être particulièrement important dans des cultures ne produisant pas de nectar et dépourvues d'insectes piqueurs suceurs producteurs de miellat. La perception des adventices en tant qu'organismes nuisibles est de plus en plus ré-évaluée, notamment au regard des interactions bénéfiques que ces plantes peuvent fournir pour d'autres organismes, tels que les ennemis naturels des ravageurs (Altieri & Whitcomb 1979, Petit et al. 2011). De futures recherches seront nécessaires pour évaluer le potentiel des adventices en tant que sources de nourriture potentielles pour les parasitoïdes dans la parcelle, notamment en agriculture biologique.

Le fait que la nourriture ne soit pas limitante au centre des cultures pures (majoritairement grâce au miellat) a été un premier résultat surprenant. En dépit de ce fait, on pouvait encore s'attendre à ce que la consommation de nectar augmente dans des cultures associées, complémentées en nectar extrafloral. En effet, le nectar est généralement une ressource de meilleure qualité, associée à une fitness plus élevée (Wäckers 2000, Wäckers et al. 2008) : il semblerait être adaptatif pour les parasitoïdes de préférer cette source de nourriture (Vollhardt et al. 2010b). Pourtant, nos résultats ne confirment pas cette hypothèse: malgré une légère tendance, la consommation de nectar n'était pas significativement plus élevée dans les cultures associées. Ce résultat rejette l'un des postulats de l'hypothèse d'approvisionnement en nectar, qui prédit que l'apport du nectar devrait être associé à une augmentation de sa consommation par les parasitoïdes (Heimpel & Jervis 2005). Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce phénomène. Premièrement, il convient de noter que le miellat n'est pas toujours de qualité inférieure au nectar (Charles & Paine 2016), même si cela reste assez rare (Wäckers et al. 2008). Même sans faire cette hypothèse, Vollhardt et al. (2010a) ont montré dans des analyses par simulation qu'au-delà d'une certaine quantité de miellat dans le champ, la consommation de nectar devient marginale. Dans nos systèmes, le miellat semble être une ressource particulièrement abondante, d'autant plus dans les cultures associées où les légumineuses sont infestées par d'importantes colonies de pucerons *Aphis* spp., qui produisent d'importantes quantités de nectar (de plus, la concentration élevée en sucre de ce miellat, révélée par nos expérimentations, laisse à penser qu'il s'agit d'un miellat de particulièrement bonne qualité). Il est donc tout à fait possible que les parasitoïdes ne discriminent pas les sources de nourriture selon leur qualité mais selon leur disponibilité, et se contentent d'exploiter majoritairement la ressource la plus abondante. Des résultats de Vollhardt et al. (2010b) vont dans ce sens sur des parasitoïdes naïfs, même s'il semble toutefois exister une possibilité pour les parasitoïdes de moduler leurs préférences pour les ressources de meilleure qualité par l'apprentissage. La densité d'une ressource donnée pourrait donc être un paramètre plus important que la diversité de ressources pour expliquer les patrons d'exploitation de la nourriture par les parasitoïdes. Par ailleurs, Vollhardt et al. (2010a) suggèrent qu'il pourrait être adaptatif pour les parasitoïdes de préférer le miellat quand celui-ci est abondant : en effet, se nourrir de miellat permet de rester de façon continue sur un patch d'hôte potentiellement profitable, sans

avoir à se déplacer. Enfin, il est possible d'imaginer que la compétition intra- ou inter- spécifique soit moins forte sur le miellat que sur le nectar extrafloral. Les fourmis, en particulier, peuvent exercer une forte pression de compétition pour l'accès au nectar extrafloral (Lach 2007) ainsi qu'au miellat (Calabuig et al. 2015). Cependant, l'importance relative des niveaux de compétition sur chaque ressource reste à ce jour inexplorée.

## 2.2 Implications de la complémentation en nectar pour l'exploitation des hôtes

Notre étude de terrain a permis de confirmer que les parasitoïdes du genre *Aphidius* sont des agents importants du contrôle biologique dans l'ouest de la France : en effet, plus de 90% des momies observées étaient formées par ces parasitoïdes, et une part importante des pucerons des céréales étaient parasités par des *Aphidius* spp. (environ 15%). Cependant, nos résultats n'ont pas permis de mettre en évidence que l'association triticales-légumineuse augmente le contrôle biologique des pucerons des céréales. En effet, nous n'avons pas observé d'augmentation du parasitisme, ni de réduction des populations de pucerons dans ces cultures. Ces observations semblent confirmées par une récente étude réalisée par une autre équipe dans les mêmes systèmes de culture, également en agriculture biologique, qui n'a pas montré non plus d'augmentation du contrôle biologique assuré par les parasitoïdes dans des cultures associées (Jeavons et al., *in prep.*). Ces résultats sont cohérents avec nos observations des patrons d'alimentation des parasitoïdes : la nourriture n'étant pas limitante en culture pure, et les populations de parasitoïdes ne semblant pas profiter de l'apport de sources de nectar, leur activité de parasitisme reste inchangée en culture associée. Bien sûr, ces résultats ne nous permettent pas de conclure sur le potentiel global de l'association céréale-légumineuse sur le contrôle biologique : les pucerons ne sont pas les seuls ravageurs dans ces cultures, et les parasitoïdes ne sont pas les seuls organismes y régulant les ravageurs (nos observations de terrain ont notamment montré la présence importante de larves de coccinelles, de syrphes et de punaises prédatrices à différents moments de la saison). Des prédateurs tels que les coccinelles ou les carabes peuvent être des prédateurs importants pour le puceron *Sitobion avenae* (Raymond et al. 2015, Ortiz-Martínez & Lavandero 2018). De la même manière, nous avons prêté moins d'attention à la régulation des ravageurs de la féverole, qui pourrait également profiter de la diversification de la parcelle, par exemple grâce à la compétition apparente (Landis et al. 2000, Heimpel & Mills 2017b) – la présence des pucerons des céréales pourrait augmenter la taille des populations de parasitoïdes ou de prédateurs et augmenter la pression de parasitisme et de prédation sur *Acyrtosiphon pisum* et *Aphis* spp. Cependant, nous n'avons pas pu mettre en évidence une diminution des populations de ces pucerons en culture associée par rapport à des cultures pures de féverole (résultats préliminaires non présentés ici). Quoi qu'il en soit, l'hypothèse que l'association céréale-légumineuse assure un service écosystémique de contrôle biologique des ravageurs demande encore à être confirmée.

Nos travaux ne sont pas les premiers à invalider l'hypothèse d'apport de nectar. En 2005, Heimpel & Jervis avaient déjà analysé les résultats de 20 études ayant comparé le taux de parasitisme et la densité des populations de ravageurs dans des cultures complémentees ou non en nectar : seules 7 études avaient conclu à une augmentation du taux de parasitisme en présence de nectar, et une seule une réduction des populations de ravageurs. Depuis cette revue bibliographique, quelques études ont validé un ou plusieurs des postulats de l'hypothèse (Winkler et al. 2006, Lee & Heimpel 2008, Tena et al. 2015), mais ces résultats semblent être une exception plutôt qu'une règle (Heimpel 2019). Ainsi, il semble de plus en plus clair que les effets de la complémentation intra-parcellaire en nourriture sur le contrôle biologique ne sont pas unilatéraux, mais plutôt largement dépendants du contexte. L'évaluation des différents postulats de l'hypothèse d'apport de nectar nous a permis de

montrer qu'une des raisons possibles de l'absence d'augmentation du parasitisme est le fait que la nourriture peut ne pas être limitante pour les populations de parasitoïdes dans les cultures pures, grâce au miellat. Ce phénomène pourrait en fait avoir lieu dans un grand nombre d'agroécosystèmes, selon leur disponibilité en homoptères producteurs de miellat (Lee et al. 2006, Vollhardt et al. 2010a). D'autres processus peuvent également limiter le bénéfice de la complémentation en nectar dans la parcelle. Heimpel (2019) suggère notamment que la présence de nectar dans la parcelle pourrait ne pas favoriser la rétention des parasitoïdes autour des sources de nectar, mais encouragerait plutôt leur émigration. Cette hypothèse repose sur le fait que, dans de nombreux cas, il semble être adaptatif pour les parasitoïdes de se disperser rapidement des colonies d'hôtes qu'ils exploitent (*early patch leaving*, Montovan et al. 2015 – voir Box 1). Comme le nectar permettrait d'augmenter les réserves d'énergie des parasitoïdes, la motivation des parasitoïdes à rapidement quitter les colonies qu'ils exploitent se verrait donc augmenter dans des cultures complémentées en nectar : on assisterait ainsi à une augmentation de la dispersion des parasitoïdes dans ces cultures (Heimpel 2019). L'échelle spatiale à laquelle cette dispersion aurait lieu et son lien avec la régulation des ravageurs restent toutefois à évaluer (Heimpel 2019). En effet, même si la présence de nectar peut favoriser la dispersion des parasitoïdes, cette dispersion ne sera défavorable au contrôle biologique que si elle induit leur sortie de la parcelle et qu'elle n'est pas compensée par un recrutement plus important, ou de meilleurs performances des individus n'ayant pas émigré, ce qui reste à démontrer. L'un des mécanismes qui sous-tend cette hypothèse semble toutefois être une piste intéressante pour expliquer l'absence d'augmentation du contrôle biologique dans les cultures diversifiées : celui de la densité-dépendance de l'hyperparasitisme (Box 1). En effet, Jeavons et al. (*in prep.*) ont récemment montré une nette augmentation du ratio hyperparasitoïdes/parasitoïdes primaires dans des associations céréale-légumineuse. Cet effet pourrait même être amplifié du fait que les hyperparasitoïdes peuvent autant profiter des sources de nectar que les parasitoïdes primaires, voire parfois davantage (Araj et al. 2008, 2009, 2011).

**Box 1 – Quatre mécanismes expliquant pourquoi il peut être adaptatif pour les parasitoïdes de se disperser rapidement des colonies d'hôtes qu'ils exploitent (Montovan et al. 2015, Heimpel 2019).**

a) **Le risque de self-superparasitisme.** Le self-superparasitisme est le phénomène par lequel une femelle parasitoïde pond plusieurs fois dans le même hôte. Ce phénomène a généralement un effet négatif sur la fitness de la femelle : un seul descendant peut se développer par hôte, et pondre plusieurs fois implique une perte de temps et d'œufs (Rosenheim & Mangel, 1994). Quitter rapidement une colonie d'hôtes pour en rechercher une autre permet d'éviter le risque de pondre plusieurs fois dans le même hôte.

b) **La densité-dépendance de la régulation top-down des populations de parasitoïdes.** L'augmentation de la taille des populations de parasitoïdes peut s'accompagner d'une augmentation de l'hyperparasitisme (Montovan et al. 2015) ou de la prédation intraguilde (Frago 2016). Dans cette situation, il semble être optimal pour un parasitoïde de se disperser rapidement après avoir pondu, afin d'éviter un risque accru de prédation ou de parasitisme de sa descendance.

c) **La dilution du risque (*bet-hedging*).** Si une femelle pond tous ses œufs dans la même colonie, elle encourt le risque de perdre la totalité de sa descendance à cause de facteurs externes (*e.g.* l'herbivorie par les vertébrés). Il peut être avantageux de diluer ce risque dans l'espace, en se reproduisant dans différentes colonies et en ne pondant que quelques œufs par colonie.

d) **La consanguinité.** Certaines espèces de parasitoïdes sont particulièrement sujettes à la dépression de consanguinité (Henter 2003). Pour ces espèces, il semble particulièrement important de pondre des œufs dans différents patches afin d'éviter la consanguinité de la descendance.



Ainsi, nos travaux, dans la lignée de ceux précédemment cités, tendent à mitiger l'universalité de l'hypothèse d'apport de nectar, malgré son caractère intuitif et séduisant. Bien sûr, ces limitations ne remettent pas à cause l'idée que l'augmentation de la biodiversité peut apporter des bénéfices importants en termes de contrôle biologique, qui est maintenant clairement établie (Chaplin-Kramer et al. 2011, Letourneau et al. 2011). Ce qu'ils soulignent est que la résultante d'un schéma de diversification donné sur les populations de parasitoïdes (et sur le contrôle biologique) est largement dépendante du contexte. Afin de prédire l'effet d'un type d'aménagement sur le contrôle biologique dans un système donné, il semble particulièrement important d'identifier les facteurs qui sont effectivement limitants pour les ennemis naturels. Lors des dernières décennies, les efforts de recherche ont en priorité été dédiés à l'apport de sources de nourriture (en particulier de ressources florales) pour les ennemis naturels : cependant ces derniers sont également dépendants d'autres ressources. Gillespie et al. (2016) ont récemment récapitulé les différents besoins des ennemis naturels dans les agroécosystèmes. Ceux-ci incluent la présence a) d'hôtes ou de proies alternatifs, b) de refuges contre les prédateurs, les mauvaises conditions environnementales ou les perturbations anthropiques dans la parcelle, c) d'habitats hivernaux. Ces ressources, distribuées à différentes échelles spatiales (Fig. 3), déterminent à la fois la taille du pool d'ennemis naturels dans le paysage qui peuvent coloniser la parcelle, et le maintien des populations d'ennemis naturels dans la parcelle elle-même (Gillespie et al. 2016). Par ailleurs, d'autres paramètres, comme la connectivité des habitats, influencent la colonisation des parcelles par les ennemis naturels (Tschardt et al. 2007, Fig. 3). Ainsi, chacun de ces facteurs est susceptible d'être limitant pour le contrôle biologique. Dans le futur, un enjeu important sera de mettre en place des outils permettant d'identifier les ressources et les facteurs qui limitent l'augmentation des populations de parasitoïdes et des autres ennemis naturels dans des agroécosystèmes particuliers, comme les méthodes de chimie analytique (anthrone, HPLC) permettent de le faire pour la nourriture (Foray et al. 2012, Lee 2019). Ces outils permettront, dans une approche plus fonctionnelle de l'évaluation de la biodiversité, d'identifier les formes adéquates de biodiversité à mettre en place dans les aménagements de lutte biologique par conservation et de mieux prédire leurs effets sur le contrôle biologique (Way 1966, Heimpel & Mills 2017b).

### 3. Améliorer les méthodes pour évaluer la prise alimentaire en conditions naturelles

Les méthodes algorithmiques que nous avons adaptées et évaluées grâce à des analyses *in silico* ont montré une performance plus élevée que la méthode de seuil classiquement utilisée pour la prédiction des patrons d'alimentation des parasitoïdes. L'utilisation de méthodes de classification plus performantes (en particulier les *Random Forests*) a permis de fortement améliorer les performances de classification individuelle, *i. e.* l'assignation d'un insecte capturé sur le terrain à un statut nutritif particulier (nourri récemment, nourri de nectar ou de miellat...). Par ailleurs, l'utilisation de méthodes d'estimation des prévalences, un champ émergent du *machine learning* (Forman 2008, González et al. 2017) dont les développements n'ont pour l'instant quasiment jamais été exploités en écologie (mais voir Beijbom et al. 2015), a permis d'augmenter la qualité des prédictions des patrons d'alimentation des insectes à l'échelle de la population ou de la communauté (*i. e.* les proportions respectives d'insectes avec différents statuts nutritifs). Nos analyses par simulation ont pu montrer que ces méthodes augmentent la performance moyenne des prédictions, mais réduisent également leur variance : d'une part, les prédictions sont moins dépendantes du jeu de données de laboratoire utilisé, et d'autre part, les algorithmes sont à peu près aussi performants sur n'importe quel jeu de données de terrain. Ces résultats impliquent notamment que ces méthodes permettent d'augmenter

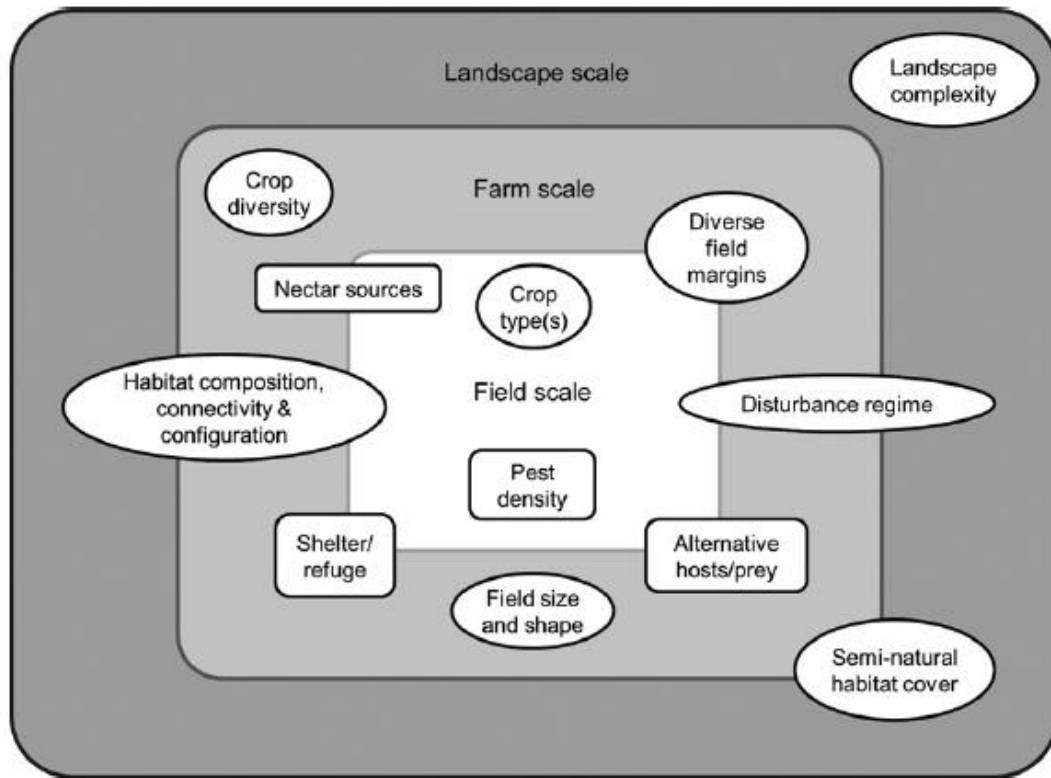


Figure 3 Les différents besoins des ennemis naturels (parasitoïdes et prédateurs) et leur position dans le paysage agricole, à différentes échelles spatiales (parcelle, exploitation et paysage). Les boîtes rectangulaires correspondent aux ressources ('besoins directs'). Les boîtes ovales correspondent aux 'besoins indirects' des ennemis naturels : il peut s'agir d'éléments du paysage fournissant des ressources (e. g. les habitats semi-naturels), ou de caractéristiques essentielles au maintien des métapopulations (e. g. la configuration et la connectivité des habitats). De Gillespie et al. (2016).

grandement la confiance dans les résultats des analyses consistant à comparer les patrons d'alimentation des insectes entre des sites ou des périodes différentes, ce qui est généralement l'intérêt des études cherchant à étudier la relation entre la consommation des ressources par les insectes et les caractéristiques de l'habitat, telles que sa disponibilité ou sa diversité en ressources (Segoli & Rosenheim 2013, Tena et al. 2013, 2015, Rand & Lundgren 2019).

En plus d'être plus performantes, les méthodes que nous avons utilisées sont également plus flexibles que la méthode classique et, probablement, aptes à résoudre un plus grand nombre de problèmes. En effet, comme il l'a été discuté dans le chapitre 2, le champ d'application de ces méthodes n'est pas limité à l'alimentation en sucre des parasitoïdes. Chez les insectes, par exemple, d'autres métabolites comme les lipides ou le glycogène occupent une place importante dans les budgets énergétiques et peuvent être également utilisés comme marqueurs de l'alimentation (Casas et al. 2005, Foray et al. 2012), d'autant que ces métabolites sont facilement mesurables chez ces organismes (Lee 2019). Chez d'autres organismes, d'autres substances peuvent être associées à l'alimentation : chez certains acariens par exemple, on observe une forte augmentation de la concentration en caroténoïdes après la prise alimentaire (Kawaguchi et al. 2016). Les méthodes que nous avons employées peuvent facilement gérer l'intégration simultanée d'une multitude de métabolites différents en tant que variables prédictives (Fraleay & Raftery 2007, Hervé et al. 2018) et devraient donc s'adapter facilement à l'étude de la prise alimentaire chez une grande diversité d'organismes. Par ailleurs, des variables métaboliques peuvent être utilisées en complément d'autres variables, telles que des marqueurs isotopiques (Nielsen et al. 2018). Plusieurs études ont montré que la prise en compte de multiples sources d'information de nature différente peuvent révéler des

interactions trophiques autrement indétectables (Hämbäck et al. 2016, Kainz et al. 2017). Les *Random Forests* devraient être particulièrement adaptées à ce genre de problèmes, car elles sont capables de prendre en compte une multitude de variables corrélées entre elles, y compris de façon non-linéaire et sans faire d'hypothèses sur leurs distributions (Geurts et al. 2009).

Il existe déjà une variété d'autres méthodes permettant de suivre l'activité alimentaire des animaux en conditions naturelles : celles-ci incluent l'utilisation de biomarqueurs moléculaires, de signatures isotopiques ou d'acides gras (Traugott et al. 2013, Nielsen et al. 2018). Ces méthodes peuvent faire preuve d'une précision remarquable (Nielsen et al. 2018) et dans de nombreux cas, l'approche que nous avons utilisée serait probablement moins performante. Cependant, ces méthodes reposent toutes sur le même principe : la transmission directe d'une « signature » (moléculaire, isotopique ou métabolique) de la ressource au consommateur. Or, dans de nombreux cas, les interactions trophiques ne peuvent pas être résumées à une relation aussi simple. C'est par exemple le cas pour la prise alimentaire par les parasitoïdes : s'il a été initialement supposé qu'il existait des signatures universelles des différentes ressources sucrées (Jervis et al. 1992), des travaux ultérieurs ont montré qu'il n'en était rien : le même élément 'signature' peut en fait être présent dans plusieurs ressources, peut ne pas être systématiquement transmis à l'insecte, ou peut-être synthétisé par l'insecte lui-même (Steppuhn & Wäckers 2004, Heimpel & Jervis 2005, Wäckers 2006, Hogervorst et al. 2007a). Dans ce genre de situations, les méthodes citées précédemment ne sont pas toujours applicables : par exemple, les *isotope mixing models* (qui permettent d'inférer l'utilisation d'une ressource à partir de signatures isotopiques) ne peuvent pas être utilisés si différentes ressources ont des signatures trop chevauchantes (Fry 2013, Phillips et al. 2014). L'originalité de notre approche est qu'elle ne repose pas sur la détection de signatures précises, mais plutôt sur des variations quantitatives et qualitatives des profils métaboliques des insectes après s'être nourris de telle ou telle ressource. Nos résultats montrent que, même s'il existe une grande quantité de bruit dans les données et que les différents profils se chevauchent, il est tout de même possible d'obtenir des prédictions suffisamment précises en utilisant les bons algorithmes.

La caractérisation empirique de la prise alimentaire en conditions naturelles est souvent l'élément clé permettant de comprendre les processus liant des caractéristiques environnementales (telles que la densité ou la diversité en ressources d'un habitat) à des observations écologiques (Schmitz et al. 2008, Raubenheimer et al. 2009). Par exemple, l'évaluation des patrons d'alimentation permise grâce à l'estimation des prévalences (incluant la détection des ressources effectivement consommées, l'utilisation relative de différentes ressources ou la fréquence d'utilisation de ces ressources) permet de relier de telles caractéristiques environnementales aux différents paramètres de populations ou de communautés, tels que leur taille, leur dynamique spatio-temporelle ou leur diversité (Simpson et al. 2010). Comprendre ces relations de manière écologiquement explicite permet ensuite d'expliquer des propriétés émergentes à l'échelle de l'écosystème : dans nos travaux, par exemple, la caractérisation des patrons d'alimentation des parasitoïdes a permis de mieux comprendre la relation entre diversité et contrôle biologique. Le même genre d'approche pourrait être utilisé pour expliciter d'autres propriétés de l'écosystème, comme sa productivité ou sa résilience (Simpson et al. 2010). Ainsi, la mise en place de méthodologies permettant d'identifier de tels patrons de manière fiable et précise devrait permettre de répondre à une multitude de questions écologiques.

## 4. Conclusion

Les interactions ressource-consommateur sont un des processus fondamentaux en écologie (Tilman 1980, 1986). Intégrer ces relations de manière explicite permet de comprendre une multitude de phénomènes, allant des stratégies comportementales mises en place par les animaux (McArthur & Pianka, 1966), jusqu'à la structure des réseaux trophiques et le fonctionnement des écosystèmes (Eisenhauer et al. 2019). En particulier, un des principaux résultats de l'écologie est que la biodiversité est au cœur d'une multitude de fonctions écologiques (Tilman et al. 2001, 2006). Pour mieux comprendre ces relations, il est donc nécessaire de comprendre comment la diversité de ressources influence leur consommation par les organismes. Dans un contexte de changements globaux et de forte pression anthropique sur les écosystèmes, cela semble d'autant plus nécessaire que la biodiversité peut fournir une multitude de services écosystémiques, en particulier dans les agroécosystèmes (Altieri 1999, Bommarco et al. 2013).

Dans cette thèse, nos travaux ont pu expliciter certains processus par lesquels la diversité de ressources affecte leur exploitation par les hyménoptères parasitoïdes dans les agroécosystèmes. Nous avons notamment pu montrer qu'elle affecte les stratégies de sélection de ressources mises en place par les individus, notamment par le biais de leur système olfactif. En revanche, un grand nombre de questions restent en suspens pour mieux comprendre les causes et les conséquences de cette relation. De futurs efforts de recherche seront nécessaires pour i/ mieux comprendre les mécanismes neurobiologiques impliqués dans la persistance de la mémoire, ii/ évaluer l'importance des processus épigénétiques impliqués dans la transmission des stratégies comportementales, iii/ identifier l'influence des différents stimuli impliqués à différentes échelles spatiales dans les décisions d'exploitation des ressources, iv/ mieux comprendre les stratégies comportementales mises en place pour faire face à la complexité sensorielle, v/ expliquer les implications évolutives de l'apprentissage de la complexité olfactive et vi/ évaluer les conséquences de ces phénomènes sur la dynamique des interactions hôte-parasitoïde.

A une échelle plus large, nous avons également montré les limites de notre approche pour expliquer les patrons d'exploitation de ressources par les communautés de parasitoïdes : aucune différence n'a été observée dans des systèmes diversifiés ou non. Il semble que d'autres caractéristiques de l'habitat, tels que la densité en ressource, doivent également être pris en compte pour expliquer ces patrons. A l'avenir, des approches intégrant plusieurs de ces caractéristiques de manière plus explicite, telles que la densité, la diversité et la distribution spatio-temporelle des ressources pourraient permettre une meilleure évaluation des processus à l'origine des patrons d'exploitation observés. De futurs travaux seront également nécessaires pour déterminer quels sont les facteurs qui sont réellement limitants pour les parasitoïdes – ainsi que les autres ennemis naturels – dans les agroécosystèmes. Ces facteurs pourraient inclure d'autres ressources, mais également des paramètres tels que la connectivité entre les habitats contenant ces ressources.

Nos résultats n'ont pas pu mettre en évidence que les cultures associées délivrent un service de contrôle biologique. Cela ne signifie pas, pour autant, que cette hypothèse doit être abandonnée, car notre démarche a plusieurs limites. D'une part, les associations de cultures consistent en fait en une multitude d'arrangement spatiaux et temporels, incluant les associations en mélange, en rangs, en bandes alternées ou par relai (Vandermeer 1989, Malézieux et al. 2009). Dans nos travaux, nous avons exclusivement considéré des associations en mélange. Pourtant, en déterminant la distribution spatiotemporelle des ressources pour les ennemis naturels, différents types d'arrangements pourraient avoir des influences très différentes sur l'exploitation des ressources par ces ennemis naturels et leur activité de contrôle biologique (Vollhardt et al. 2010a). Ces influences sont encore

largement inconnues et restent à évaluer. D'autre part, nous avons travaillé sur une échelle temporelle restreinte. Les effets de l'association des cultures pourraient n'être pas visible à l'échelle d'une culture annuelle, mais émerger dans des systèmes ayant une phénologie plus étendue, avec des aménagements pérennes. C'est par exemple le cas des vergers, dans lesquels des augmentations pluriannuelles des populations d'ennemis naturels ont été observées grâce à de tels aménagements, associées à un contrôle biologique plus important (Herz et al. 2019, Pfiffner et al. 2019). Ensuite, il est probable que l'effet bénéfique potentiel des associations de culture agisse en interaction avec ceux d'autres aménagements, tels que la végétation de bordure ou la composition du paysage en habitats semi-naturels (Perović et al. 2018). Par exemple, les effets de la biodiversité locale sur le contrôle biologique sont fortement dépendants de l'hétérogénéité du paysage, qui détermine la limitation des ressources à une échelle plus large (Jonsson et al. 2015). Ces interactions n'ont pas été pris en compte dans notre démarche et demanderont davantage de recherche. Enfin, nous ne sommes intéressés qu'aux effets de la biodiversité intra-parcellaire sur la régulation *top-down* des ravageurs, mais pas du tout à la régulation *bottom-up*. Pourtant, l'idée que la diversité des cultures régule les populations de ravageurs par le bas est une autre grande hypothèse du contrôle biologique (*Resource concentration hypothesis*, Root 1973). L'association des cultures pourrait notamment permettre de diluer la ressource pour les ravageurs, gêner leur colonisation des cultures ou encore les éloigner d'une culture d'intérêt pour les attirer vers une plante piège (Root 1973, Ben-Issa et al. 2017). Par exemple, l'association de la féverole avec du basilic réduit les populations d'*Aphis fabae* sur la féverole, probablement parce que le basilic émet des composés répulsifs pour le puceron (Basedow et al. 2006). Cependant, l'importance de tels processus et leur éventuelle complémentarité avec la régulation *top-down* des ravageurs restent encore très méconnus. Ainsi, de nombreuses pistes de recherche restent à explorer pour évaluer le potentiel bénéfique des cultures associées pour la régulation des ravageurs, qui permettront d'identifier quels aménagements de la biodiversité et des pratiques agricoles pourront optimiser la multiplicité des services assurés dans de tels systèmes (Bommarco et al. 2013, Lescourret et al. 2015).

## BIBLIOGRAPHIE

- Aartsma, Y., Bianchi, F. J. J. A., Werf, W. van der, Poelman, E. H., & Dicke, M. (2017). Herbivore-induced plant volatiles and tritrophic interactions across spatial scales. *New Phytologist*, *216*(4), 1054–1063.
- Aartsma, Y., Cusumano, A., Fernández de Bobadilla, M., Rusman, Q., Vosteen, I., & Poelman, E. H. (2019). Understanding insect foraging in complex habitats by comparing trophic levels: insights from specialist host-parasitoid-hyperparasitoid systems. *Current Opinion in Insect Science*, *32*, 54–60.
- Agreste. Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt. Statistique Agricole Annuelle. Accessed September 20<sup>th</sup>, 2019.
- Alhmedi, A., Haubruge, E., D'Hoedt, S., & Francis, F. (2011). Quantitative food webs of herbivore and related beneficial community in non-crop and crop habitats. *Biological Control*, *58*(2), 103–112.
- Altieri, M. A., & Whitcomb, W. H. (1979). The potential use of weeds in the manipulation of beneficial insects [agents in natural crop pest control]. *HortScience*, *14*(1), 12–18.
- Altieri, M. A., & Whitcomb, W. H. (1980). Weed manipulation for insect pest management in corn. *Environmental Management*, *4*(6), 483–489.
- Altieri, Miguel A. (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *74*(1), 19–31
- Álvarez, H. A., Morente, M., Oi, F. S., Rodríguez, E., Campos, M., & Ruano, F. (2019). Semi-natural habitat complexity affects abundance and movement of natural enemies in organic olive orchards. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *285*, 106618.
- Amat, I., Besnard, S., Foray, V., Pelosse, P., Bernstein, C., & Desouhant, E. (2012). Fuelling flight in a parasitic wasp: which energetic substrate to use? *Ecological Entomology*, *37*(6), 480–489.
- Anders, M. M., Potdar, M. V., & Francis, C. S. (1995). Significance of Intercropping in Cropping Systems. *Series on International Agricultural Research*, *3*, 1–18.
- Anderson, P., & Anton, S. (2014). Experience-based modulation of behavioural responses to plant volatiles and other sensory cues in insect herbivores. *Plant, Cell & Environment*, *37*(8), 1826–1835.
- Andersson, P., Löfstedt, C., & Hambäck, P. A. (2013). How insects sense olfactory patches – the spatial scaling of olfactory information. *Oikos*, *122*(7), 1009–1016.
- Araj, S.-E., Shields, M. W., & Wratten, S. D. (2019). Weed floral resources and commonly used insectary plants to increase the efficacy of a whitefly parasitoid. *BioControl*, *64*(5), 553–561.
- Araj, S.-E., Wratten, S., Lister, A., & Buckley, H. (2008). Floral diversity, parasitoids and hyperparasitoids – A laboratory approach. *Basic and Applied Ecology*, *9*(5), 588–597.
- Araj, S.-E., Wratten, S., Lister, A., & Buckley, H. (2009). Adding floral nectar resources to improve biological control: Potential pitfalls of the fourth trophic level. *Basic and Applied Ecology*, *10*(6), 554–562.
- Araj, S.-E., Wratten, S., Lister, A., Buckley, H., & Ghabeish, I. (2011). Searching behavior of an aphid parasitoid and its hyperparasitoid with and without floral nectar. *Biological Control*, *57*(2), 79–84.

- Arenas, A., Giurfa, M., Farina, W. M., & Sandoz, J. C. (2009). Early olfactory experience modifies neural activity in the antennal lobe of a social insect at the adult stage. *European Journal of Neuroscience*, *30*(8), 1498–1508.
- Azzouz, H., Giordanengo, P., Wäckers, F. L., & Kaiser, L. (2004). Effects of feeding frequency and sugar concentration on behavior and longevity of the adult aphid parasitoid: *Aphidius ervi* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, *31*(3), 445–452.
- Ballesteros, G. I., Gadau, J., Legeai, F., Gonzalez-Gonzalez, A., Lavandero, B., Simon, J.-C., & Figueroa, C. C. (2017). Expression differences in *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae) females reared on different aphid host species. *PeerJ*, *5*, e3640.
- Barranquero, J., Díez, J., & José del Coz, J. (2015). Quantification-oriented learning based on reliable classifiers. *Pattern Recognition*, *48*(2), 591–604.
- Barron, A. B., & Corbet, S. A. (1999). Preimaginal conditioning in *Drosophila* revisited. *Animal Behaviour*, *58*(3), 621–628.
- Basedow, T., Hua, L., & Aggarwal, N. (2006). The infestation of *Vicia faba* L. (Fabaceae) by *Aphis fabae* (Scop.) (Homoptera: Aphididae) under the influence of Lamiaceae (*Ocimum basilicum* L. and *Satureja hortensis* L.). *Journal of Pest Science*, *3*(79), 149–154.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, *67*(1), 1–48.
- Battaglia, D., Pennacchio, F., Romano, A., & Tranfaglia, A. (1995). The role of physical cues in the regulation of host recognition and acceptance behavior of *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior*, *8*(6), 739–750.
- Bedoussac, L., Journet, E.-P., Hauggaard-Nielsen, H., Naudin, C., Corre-Hellou, G., Jensen, E. S., ... Justes, E. (2015). Ecological principles underlying the increase of productivity achieved by cereal-grain legume intercrops in organic farming. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *35*(3), 911–935.
- Beijbom, O., Hoffman, J., Yao, E., Darrell, T., Rodriguez-Ramirez, A., Gonzalez-Rivero, M., & Guldborg, O. H.-. (2015). Quantification in-the-wild: data-sets and baselines. *ArXiv:1510.04811 [Cs]*. *arXiv preprint arXiv:1510.04811*.
- Bell, W. J. (1990). *Searching Behaviour: The behavioural ecology of finding resources*. Springer Netherlands.
- Benelli, G., Giunti, G., Tena, A., Desneux, N., Caselli, A., & Canale, A. (2017). The impact of adult diet on parasitoid reproductive performance. *Journal of Pest Science*, *90*(3), 807–823.
- Ben-Issa, R., Gomez, L., & Gautier, H. (2017). Companion Plants for Aphid Pest Management. *Insects*, *8*(4), 112.
- Bernstein, C., & Jervis, M. (2008). Food-Searching in Parasitoids: The Dilemma of Choosing between 'Immediate' or Future Fitness Gains. In ric Wajnberg, C. Bernstein, & J. van Alphen (Eds.), *Behavioral Ecology of Insect Parasitoids* (pp. 129–171). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Beyaert, I., Wäschke, N., Scholz, A., Varama, M., Reinecke, A., & Hilker, M. (2010). Relevance of resource-indicating key volatiles and habitat odour for insect orientation. *Animal Behaviour*, *79*(5), 1077–1086.

- Beyaert, Ivo, & Hilker, M. (2014). Plant odour plumes as mediators of plant–insect interactions. *Biological Reviews*, *89*(1), 68–81.
- Bianchi, Felix J. J. A., & Wäckers, F. L. (2008). Effects of flower attractiveness and nectar availability in field margins on biological control by parasitoids. *Biological Control*, *46*(3), 400–408.
- Bianchi, F.J.J.A, Booij, C. J. H., & Tscharntke, T. (2006). Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *273*(1595), 1715–1727.
- Bischoff, A., Pollier, A., Lamarre, E., Salvadori, O., Cortesero, A.-M., Le Ralec, A., ... Jaloux, B. (2016). Effects of spontaneous field margin vegetation and surrounding landscape on Brassica oleracea crop herbivory. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *223*, 135–143.
- Blackiston, D. J., Shomrat, T., & Levin, M. (2015). The stability of memories during brain remodeling: A perspective. *Communicative & Integrative Biology*, *8*(5), e1073424.
- Boivin, G. 1996. Évolution et diversité des insectes parasitoïdes. *Antennae*. Numéro spécial : 6-12.
- Bolnick, D. I., Svanbäck, R., Fordyce, J. A., Yang, L. H., Davis, J. M., Hulsey, C. D., & Forister, M. L. (2003). The Ecology of Individuals: Incidence and Implications of Individual Specialization. *The American Naturalist*, *161*(1), 1–28.
- Bommarco, R., & Banks, J. E. (2003). Scale as Modifier in Vegetation Diversity Experiments: Effects on Herbivores and Predators. *Oikos*, *102*(2), 440–448.
- Bommarco, R., Kleijn, D., & Potts, S. G. (2013). Ecological intensification: harnessing ecosystem services for food security. *Trends in Ecology & Evolution*, *28*(4), 230–238.
- Bonduriansky, R., Runagall-McNaull, A., & Crean, A. J. (2016). The nutritional geometry of parental effects: maternal and paternal macronutrient consumption and offspring phenotype in a neriid fly. *Functional Ecology*, *30*(10), 1675–1686.
- Breiman, L. (2001). Random Forests. *Machine Learning*, *45*(1), 5–32.
- Breiman, L., Friedman, J., Stone, C. J., & Olshen, R. A. (1984). *Classification and Regression Trees*. Taylor & Francis.
- Bukovinszky, T., Gols, R., Hemerik, L., Lenteren, J. C. V., & Vet, L. E. M. (2007). Time allocation of a parasitoid foraging in heterogeneous vegetation: implications for host–parasitoid interactions. *Journal of Animal Ecology*, *76*(5), 845–853.
- Burrows, M., Morawo, T., & Fadamiro, H. (2017). Sugar Diet Affects Odor Reception but Variation in Sugar Concentration Plays Minimal Role in the Response of the Parasitoid, *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae), to Host-Related Plant Volatiles. *Journal of Economic Entomology*, *110*(3), 971–977.
- Calabuig, A., Tena, A., Wäckers, F. L., Fernández-Arrojo, L., Plou, F. J., Garcia-Marí, F., & Pekas, A. (2015). Ants impact the energy reserves of natural enemies through the shared honeydew exploitation. *Ecological Entomology*, *40*(6), 687–695.



- Cameron, P. J., Powell, W., & Loxdale, H. D. (1984). Reservoirs for *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae), a polyphagous parasitoid of cereal aphids (Hemiptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*, 74(04), 647.
- Casas, J., Pincebourde, S., Mandon, N., Vannier, F., Poujol, R., & Giron, D. (2005). Lifetime Nutrient Dynamics Reveal Simultaneous Capital and Income Breeding in a Parasitoid. *Ecology*, 86(3), 545–554.
- Chaplin-Kramer, R., O'Rourke, M. E., Blitzer, E. J., & Kremen, C. (2011). A meta-analysis of crop pest and natural enemy response to landscape complexity. *Ecology Letters*, 14(9), 922–932.
- Charles, J. J., & Paine, T. D. (2016). Fitness Effects of Food Resources on the Polyphagous Aphid Parasitoid, *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). *PLOS ONE*, 11(1), e0147551.
- Charnov, E. L. (1976). Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical Population Biology*, 9(2), 129–136.
- Chau, A., & Mackauer, M. (2001). Preference of the Aphid Parasitoid *Monoctonus paulensis* (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) for Different Aphid Species: Female Choice and Offspring Survival. *Biological Control*, 20(1), 30–38.
- Chen, S., Cai, D., Pearce, K., Sun, P. Y.-W., Roberts, A. C., & Glanzman, D. L. (2014). Reinstatement of long-term memory following erasure of its behavioral and synaptic expression in *Aplysia*. *ELife*, 3, e03896.
- Chesnais, Q., Ameline, A., Doury, G., Le Roux, V., & Couty, A. (2015). Aphid parasitoid mothers don't always know best through the whole host selection process. *PLOS ONE*, 10(8), e0135661.
- Chicco, D. (2017). Ten quick tips for machine learning in computational biology. *BioData Mining*, 10(1).
- Cook, N., Pannebakker, B. A., Tauber, E., & Shuker, D. M. (2015). DNA Methylation and Sex Allocation in the Parasitoid Wasp *Nasonia vitripennis*. *The American Naturalist*, 186(4), 513–518.
- Corbet, S. A. (1985). Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. *Ecological Entomology*, 10(2), 143–153.
- Corre-Hellou, G., Fustec, J., & Crozat, Y. (2006). Interspecific Competition for Soil N and its Interaction with N<sub>2</sub> Fixation, Leaf Expansion and Crop Growth in Pea–Barley Intercrops. *Plant and Soil*, 282(1), 195–208.
- Cosgrove, A. J., McWhorter, T. J., & Maron, M. (2018). Consequences of impediments to animal movements at different scales: A conceptual framework and review. *Diversity and Distributions*, 24(4), 448–459.
- Craine, J. M., & Dybzinski, R. (2013). Mechanisms of plant competition for nutrients, water and light. *Functional Ecology*, 27(4), 833–840.
- Cullen, L., Stanton, J. C., Lima, F., Uezu, A., Perilli, M. L. L., & Akçakaya, H. R. (2016). Implications of Fine-Grained Habitat Fragmentation and Road Mortality for Jaguar Conservation in the Atlantic Forest, Brazil. *PLOS ONE*, 11(12), e0167372.
- Dardouri, T., Gautier, H., Issa, R. B., Costagliola, G., & Gomez, L. (2019). Repellence of *Myzus persicae* (Sulzer): evidence of two modes of action of volatiles from selected living aromatic plants. *Pest Management Science*, 75(6), 1571–1584.

- Davis, J. (2004). The effect of natal experience on habitat preferences. *Trends in Ecology & Evolution*, *19*(8), 411–416.
- Daza-Bustamante, P., Fuentes-Contreras, E., Rodríguez, L. c., Figueroa, C. c., & Niemeyer, H. m. (2002). Behavioural differences between *Aphidius ervi* populations from two tritrophic systems are due to phenotypic plasticity. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *104*(2–3), 321–328.
- Daza-Bustamante, Pauline, Fuentes-Contreras, E., & Niemeyer, H. M. (2003). Acceptance and suitability of *Acyrtosiphon pisum* and *Sitobion avenae* as hosts of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae). *EJE*, *100*(1), 49–53.
- de Belle, J., & Heisenberg, M. (1994). Associative odor learning in *Drosophila* abolished by chemical ablation of mushroom bodies. *Science*, *263*(5147), 692–695.
- de Cuyper, A., Clauss, M., Carbone, C., Codron, D., Cools, A., Hesta, M., & Janssens, G. P. J. (2019). Predator size and prey size–gut capacity ratios determine kill frequency and carcass production in terrestrial carnivorous mammals. *Oikos*, *128*(1), 13–22.
- de Moraes, C. M., Lewis, W. J., Paré, P. W., Alborn, H. T., & Tumlinson, J. H. (1998). Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. *Nature*, *393*(6685), 570.
- de Visser, C. L. M., Schreuder, R., & Stoddard, F. (2014). The EU's dependency on soya bean import for the animal feed industry and potential for EU produced alternatives. *OCL*, *21*(4), D407.
- Denys, C., & Tscharrntke, T. (2002). Plant-insect communities and predator-prey ratios in field margin strips, adjacent crop fields, and fallows. *Oecologia*, *130*(2), 315–324.
- Derocles, S. A. P., Plantegenest, M., Rasplus, J.-Y., Marie, A., Evans, D. M., Lunt, D. H., & Le Ralec, A. (2016). Are generalist Aphidiinae (Hym. Braconidae) mostly cryptic species complexes?: Are generalist Aphidiinae cryptic species complexes? *Systematic Entomology*, *41*(2), 379–391.
- 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*(1), 145–152.
- Desouhant, Emmanuel, Lucchetta, P., Giron, D., & Bernstein, C. (2010). Feeding activity pattern in a parasitic wasp when foraging in the field. *Ecological Research*, *25*(2), 419–428.
- Dicke, M., Van Lenteren, J. C., Boskamp, G. J. F., & van Dongen-van Leeuwen, E. (1984). Chemical stimuli in host-habitat location by *Leptopilina heterotoma* (Thomson) (Hymenoptera: Eucoilidae), a parasite of *Drosophila*. *Journal of Chemical Ecology*, *10*(5), 695–712.
- Dicke, Marcel, & Baldwin, I. T. (2010). The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the 'cry for help'. *Trends in Plant Science*, *15*(3), 167–175.
- Dippel, C., & Hilker, M. (1998). Effects of Physical and Chemical Signals on Host Foraging Behavior of *Drino inconspicua* (Diptera: Tachinidae), a Generalist Parasitoid. *Environmental Entomology*, *27*(3), 682–687.
- Dong, L., Hou, Y., Li, F., Piao, Y., Zhang, X., Zhang, X., ... Zhao, C. (2015). Characterization of volatile aroma compounds in different brewing barley cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *95*(5), 915–921.

- Doutt, R. L. (1959). The Biology of Parasitic Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, 4(1), 161–182.
- Du, Y., Poppy, G. M., Powell, W., & Wadhams, L. J. (1997). Chemically mediated associative learning in the host foraging behavior of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior*, 10(4), 509–522.
- Du, Y.-J., Poppy, G. M., & Powell, W. (1996). Relative importance of semiochemicals from first and second trophic levels in host foraging behavior of *Aphidius ervi*. *Journal of Chemical Ecology*, 22(9), 1591–1605.
- Dunning, J. B., Danielson, B. J., & Pulliam, H. R. (1992). Ecological Processes That Affect Populations in Complex Landscapes. *Oikos*, 65(1), 169–175.
- Eisenhauer, N., Schielzeth, H., Barnes, A. D., Barry, K. E., Bonn, A., Brose, U., ... Jochum, M. (2019). Chapter One - A multitrophic perspective on biodiversity–ecosystem functioning research. In N. Eisenhauer, D. A. Bohan, & A. J. Dumbrell (Eds.), *Advances in Ecological Research* (Vol. 61, pp. 1–54). Academic Press.
- Elgert E. (2013). Shifting the debate about ‘responsible soy’ production in Paraguay. A critical analysis of five claims about environmental, economic, and social sustainability. LDPI Working Paper 23.
- England, S., & Evans, E. W. (1997). Effects of Pea Aphid (Homoptera: Aphididae) Honeydew on Longevity and Fecundity of the Alfalfa Weevil (Coleoptera: Curculionidae) Parasitoid *Bathyplectes curculionis* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Environmental Entomology*, 26(6), 1437–1441.
- EOCHE-BOSY, D., OUTREMAN, Y., OLIVEIRA ANDRADE, T., KRESPI, L., & VAN BAAREN, J. (2016). Seasonal variations of host resources influence foraging strategy in parasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 161(1), 11–19.
- Esuli, A., & Sebastiani, F. (2015). Optimizing Text Quantifiers for Multivariate Loss Functions. *ACM Transactions on Knowledge Discovery from Data*, 9(4), 1–27.
- Fischer, M. K., Völkl, W., & Hoffmann, K. H. (2005). Honeydew production and honeydew sugar composition of polyphagous black bean aphid, *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae) on various host plants and implications for ant-attendance. *EJE*, 102(2), 155–160.
- Fisher, R. A. (1936). The Use of Multiple Measurements in Taxonomic Problems. *Annals of Eugenics*, 7(2), 179–188.
- Foray, V., Pelisson, P.-F., Bel-Venner, M.-C., Desouhant, E., Venner, S., Menu, F., ... Rey, B. (2012a). A handbook for uncovering the complete energetic budget in insects: the van Handel’s method (1985) revisited. *Physiological Entomology*, 37(3), 295–302.
- Foray, V., Pelisson, P.-F., Bel-Venner, M.-C., Desouhant, E., Venner, S., Menu, F., ... Rey, B. (2012b). A handbook for uncovering the complete energetic budget in insects: the van Handel’s method (1985) revisited. *Physiological Entomology*, 37(3), 295–302.
- Forman, G. (2008). Quantifying counts and costs via classification. *Data Mining and Knowledge Discovery*, 17(2), 164–206.
- Fors, L., Mozuraitis, R., Blažytė-Čereškienė, L., Verschut, T. A., & Hambäck, P. A. (2018). Selection by parasitoid females among closely related hosts based on volatiles: Identifying relevant chemical cues. *Ecology and Evolution*, 8(6), 3219–3228.

- Frago, E. (2016). Interactions between parasitoids and higher order natural enemies: intraguild predation and hyperparasitoids. *Current Opinion in Insect Science*, *14*, 81–86.
- Fraley, C., & Raftery, A. (2007). Model-based Methods of Classification: Using the **mclust** Software in Chemometrics. *Journal of Statistical Software*, *18*(6).
- Francis, C. A. (1986). *Multiple cropping systems*. Macmillan Pub. Co.
- Freeman-Long, R., Corbett, A., Lamb, C., Reberg-Horton, C., Chandler, J., & Stimmann, M. (1998). Beneficial insects move from flowering plants to nearby crops. *California Agriculture*, *52*(5), 23–26.
- Fustec, J., Lesuffleur, F., Mahieu, S., & Cliquet, J.-B. (2010). Nitrogen rhizodeposition of legumes. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *30*(1), 57–66.
- Gadenne, C., Barrozo, R. B., & Anton, S. (2016). Plasticity in Insect Olfaction: To Smell or Not to Smell? *Annual Review of Entomology*, *61*(1), 317–333.
- Gandolfi, M., Mattiacci, L., & Dorn, S. (2003). Preimaginal learning determines adult response to chemical stimuli in a parasitic wasp. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, *270*(1533), 2623–2629.
- Gardiner, M. M., Landis, D. A., Gratton, C., DiFonzo, C. D., O’Neal, M., Chacon, J. M., ... Heimpel, G. E. (2009). Landscape diversity enhances biological control of an introduced crop pest in the north-central USA. *Ecological Applications*, *19*(1), 143–154.
- Géneau, C. E., Wäckers, F. L., Luka, H., Daniel, C., & Balmer, O. (2012). Selective flowers to enhance biological control of cabbage pests by parasitoids. *Basic and Applied Ecology*, *13*(1), 85–93.
- Geurts, P., Irrthum, A., & Wehenkel, L. (2009). Supervised learning with decision tree-based methods in computational and systems biology. *Molecular BioSystems*, *5*(12), 1593–1605.
- Gillespie, M. A. K., Gurr, G. M., & Wratten, S. D. (2016). Beyond nectar provision: the other resource requirements of parasitoid biological control agents. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *159*(2), 207–221.
- Giunti, G., Canale, A., Messing, R. H., Donati, E., Stefanini, C., Michaud, J. P., & Benelli, G. (2015). Parasitoid learning: Current knowledge and implications for biological control. *Biological Control*, *90*, 208–219.
- Godfray, H. C. J. (1994). *Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press.
- Godfray, H. C. J., Hassell, M. P., & Holt, R. D. (1994). The Population Dynamic Consequences of Phenological Asynchrony between Parasitoids and their Hosts. *Journal of Animal Ecology*, *63*(1), 1–10.
- González, P., Díez, J., Chawla, N., & del Coz, J. J. (2017). Why is quantification an interesting learning problem? *Progress in Artificial Intelligence*, *6*(1), 53–58.
- Gripenberg, S., Mayhew, P. J., Parnell, M., & Roslin, T. (2010). A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters*, *13*(3), 383–393.
- Gu, H., & Dorn, S. (2000). Genetic Variation in Behavioral Response to Herbivore-Infested Plants in the Parasitic Wasp, *Cotesia glomerata* (L.) (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior*, *13*(1), 141–156.

- Guerrieri, F., Gemeno, C., Monsempes, C., Anton, S., Jacquin-Joly, E., Lucas, P., & Devaud, J.-M. (2012). Experience-dependent modulation of antennal sensitivity and input to antennal lobes in male moths (*Spodoptera littoralis*) pre-exposed to sex pheromone. *Journal of Experimental Biology*, *215*(13), 2334–2341.
- Gutiérrez-Ibáñez, C., Villagra, C. A., & Niemeyer, H. M. (2007). Pre-pupation behaviour of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Haliday) and its consequences for pre-imaginal learning. *Naturwissenschaften*, *94*(7), 595–600.
- Haddad, N. M., Crutsinger, G. M., Gross, K., Haarstad, J., Knops, J. M. H., & Tilman, D. (2009). Plant species loss decreases arthropod diversity and shifts trophic structure. *Ecology Letters*, *12*(10), 1029–1039.
- Hambäck, P. A., Weingartner, E., Dalén, L., Wirta, H., & Roslin, T. (2016). Spatial subsidies in spider diets vary with shoreline structure: Complementary evidence from molecular diet analysis and stable isotopes. *Ecology and Evolution*, *6*(23), 8431–8439.
- Hare, J. D. (2011). Ecological Role of Volatiles Produced by Plants in Response to Damage by Herbivorous Insects. *Annual Review of Entomology*, *56*(1), 161–180.
- Hauggaard-Nielsen, H., Ambus, P., & Jensen, E. S. (2001a). Interspecific competition, N use and interference with weeds in pea–barley intercropping. *Field Crops Research*, *70*(2), 101–109.
- Hauggaard-Nielsen, H., Ambus, P., & Jensen, E. S. (2001b). Temporal and spatial distribution of roots and competition for nitrogen in pea-barley intercrops – a field study employing <sup>32</sup>P technique. *Plant and Soil*, *236*(1), 63–74.
- Hauggaard-Nielsen, H., Andersen, M. K., Jørnsgaard, B., & Jensen, E. S. (2006). Density and relative frequency effects on competitive interactions and resource use in pea–barley intercrops. *Field Crops Research*, *95*(2), 256–267.
- Häusling M. (2011). Report. The EU protein deficit: what solution for a long-standing problem? (2010/2111 (INI)). Committee on Agriculture and Rural Development.
- Heil, M. (2011). Nectar: generation, regulation and ecological functions. *Trends in Plant Science*, *16*(4), 191–200.
- Heimpel, G. E. (2019). Linking parasitoid nectar feeding and dispersal in conservation biological control. *Biological Control*, *132*, 36–41.
- Heimpel, G. E., & Collier, T. R. (1996). The Evolution of Host-Feeding Behaviour in Insect Parasitoids. *Biological Reviews*, *71*(3), 373–400.
- Heimpel, G. E., & Jervis, M. A. (2005). Does floral nectar improve biological control by parasitoids? In F. L. Wackers, P. C. J. van Rijn, & J. Bruin (Eds.), *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects* (pp. 267–304). Cambridge: Cambridge University Press.
- Heimpel, G. E., & Mills, N. J. (2017a). *Biological Control: Ecology and Applications*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Heimpel, G. E., & Mills, N. J. (2017b). Conservation Biological Control I: Facilitating Natural Control through Habitat Manipulation. In *Biological Control: Ecology and Applications*.

- Heimpel, G., Lee, J., Wu, Z., Weiser, L., Wäckers, F., & Jervis, M. (2004). Gut sugar analysis in field-caught parasitoids: Adapting methods originally developed for biting flies. *International Journal of Pest Management*, 50(3), 193–198.
- Heisenberg, M., Heusipp, M., & Wanke, C. (1995). Structural plasticity in the *Drosophila* brain. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 15(3 Pt 1), 1951–1960.
- Helenius, J. (1990a). Effect of epigeal predators on infestation by the aphid *Rhopalosiphum padi* and on grain yield of oats in monocrops and mixed intercrops. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 54(3), 225–236.
- Helenius, J. (1990b). Incidence of specialist natural enemies of *Rhopalosiphum padi* (L.) (Horn., Aphididae) on oats in monocrops and mixed intercrops with faba bean. *Journal of Applied Entomology*, 109(1–5), 136–143.
- Hengeveld, G. M., van Langevelde, F., Groen, T. A., & de Knegt, H. J. (2009a). Optimal Foraging for Multiple Resources in Several Food Species. *The American Naturalist*, 174(1), 102–110.
- Henry, L. M., Roitberg, B. D., & Gillespie, D. R. (2006). Covariance of phenotypically plastic traits induces an adaptive shift in host selection behaviour. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1603), 2893–2899.
- Henry, Lee M. (2008). Assortative mating and the role of phenotypic plasticity in male competition: implications for gene flow among host-associated parasitoid populations. *Biology Letters*, 4(5), 508–511.
- Henry, Lee M., Gillespie, D. R., & Roitberg, B. D. (2005). Does mother really know best? Oviposition preference reduces reproductive performance in the generalist parasitoid *Aphidius ervi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 116(3), 167–174.
- Henry, Lee M., May, N., Acheampong, S., Gillespie, D. R., & Roitberg, B. D. (2010). Host-adapted parasitoids in biological control: Does source matter? *Ecological Applications*, 20(1), 242–250.
- Henry, Lee M., Roitberg, B. D., & Gillespie, D. R. (2008). Host-Range Evolution in *Aphidius* Parasitoids: Fidelity, Virulence and Fitness Trade-Offs on an Ancestral Host. *Evolution*, 62(3), 689–699.
- Henter, H. J. (2003). Inbreeding Depression and Haplodiploidy: Experimental Measures in a Parasitoid and Comparisons Across Diploid and Haplodiploid Insect Taxa. *Evolution*, 57(8), 1793–1803.
- Hervé, M. (2019). RVAideMemoire: Testing and Plotting Procedures for Biostatistics. R package version 0.9-73. <https://CRAN.R-project.org/package=RVAideMemoire> (Version 0.9-73).
- Hervé, M. R., Nicolè, F., & Cao, K.-A. L. (2018). Multivariate Analysis of Multiple Datasets: a Practical Guide for Chemical Ecology. *Journal of Chemical Ecology*, 1–20.
- Herz, A., Cahenzli, F., Penvern, S., Pfiffner, L., Tasin, M., & Sigsgaard, L. (2019). Managing Floral Resources in Apple Orchards for Pest Control: Ideas, Experiences and Future Directions. *Insects*, 10(8), 247.
- Hilker, M., & McNeil, J. (2008). Chemical and Behavioral Ecology in Insect Parasitoids: How to Behave Optimally in a Complex Odorous Environment. In É. Wajnberg, C. Bernstein, & J. van Alphen (Eds.), *Behavioral Ecology of Insect Parasitoids* (pp. 92–112). Blackwell Publishing Ltd.

- Hinsley, S. A. (2000). The costs of multiple patch use by birds. *Landscape Ecology*, *15*(8), 765–775.
- Hoferer, S., Wäckers, F., & Dorn, S. (2000). Measuring CO<sub>2</sub> respiration rates in the parasitoid *Cotesia glomerata*. *Mitteilungen Der Deutschen Gesellschaft Für Allgemeine Und Angewandte Entomologie*, *12*(1–6), 555–558.
- Hogervorst, P. a. M., Wäckers, F. L., & Romeis, J. (2007a). Detecting nutritional state and food source use in field-collected insects that synthesize honeydew oligosaccharides. *Functional Ecology*, *21*(5), 936–946.
- Hogervorst, P. A. M., Wäckers, F. L., & Romeis, J. (2007b). Effects of honeydew sugar composition on the longevity of *Aphidius ervi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *122*(3), 223–232.
- Hole, D. G., Perkins, A. J., Wilson, J. D., Alexander, I. H., Grice, P. V., & Evans, A. D. (2005). Does organic farming benefit biodiversity? *Biological Conservation*, *122*(1), 113–130.
- Holt, R. D. (1977). Predation, apparent competition, and the structure of prey communities. *Theoretical Population Biology*, *12*(2), 197–229.
- Hood-Nowotny, R., & Knols, B. G. J. (2007). Stable isotope methods in biological and ecological studies of arthropods. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *124*(1), 3–16.
- Hopkins, A. D. (1917). Contribution to discussion. *Journal of Economic Entomology*, *10*, 92–93.
- Hutchinson, G. E. (1959). Homage to Santa Rosalia or Why Are There So Many Kinds of Animals? *The American Naturalist*, *93*(870), 145–159.
- Hullé M., Chaubet B., Turpeau E. and Simon J.C. 2019. Encyclop'Aphid: a website on aphids and their natural enemies. *Entomologia generalis*: doi:10.1127/entomologia/2019/0867
- Iacovone, A., French, A. S., Tellier, F., Cusumano, A., Clément, G., Gaertner, C., ... Marion-Poll, F. (2016). The role of contact chemoreception in the host location process of an egg parasitoid. *Journal of Insect Physiology*, *91–92*, 63–75.
- Indahl, U. G., Martens, H., & Næs, T. (2007). From dummy regression to prior probabilities in PLS-DA. *Journal of Chemometrics*, *21*(12), 529–536.
- Irvin, N. A., Pinckard, T. R., Perring, T. M., & Hoddle, M. S. (2014). Evaluating the potential of buckwheat and cahaba vetch as nectar producing cover crops for enhancing biological control of *Homalodisca vitripennis* in California vineyards. *Biological Control*, *76*, 10–18.
- Ishii, Y., & Shimada, M. (2012). Learning predator promotes coexistence of prey species in host-parasitoid systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(13), 5116–5120.
- Jaenike, J. (1978). On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology*, *14*(3), 350–356.
- Jamont, M., Crépellière, S., & Jaloux, B. (2013). Effect of extrafloral nectar provisioning on the performance of the adult parasitoid *Diaeretiella rapae*. *Biological Control*, *65*(2), 271–277.
- Jamont, M., Dubois-Pot, C., & Jaloux, B. (2014). Nectar provisioning close to host patches increases parasitoid recruitment, retention and host parasitism. *Basic and Applied Ecology*, *15*(2), 151–160.

- Jeavons, E., van Baaren, J., Ferrand, M., Le Ralec, A., & Le Lann, C. When complementary resources fail to increase top down control: an answer in trophic food webs? In preparation.
- Jensen, E. S. (1996). Grain yield, symbiotic N<sub>2</sub> fixation and interspecific competition for inorganic N in pea-barley intercrops. *Plant and Soil*, 182(1), 25–38.
- Jervis, M. A., & Kidd, N. a. C. (1986). Host-Feeding Strategies in Hymenopteran Parasitoids. *Biological Reviews*, 61(4), 395–434.
- Jervis, M. A., Kidd, N. A. C., Fitton, M. G., Huddleston, T., & Dawah, H. A. (1993). Flower-visiting by hymenopteran parasitoids. *Journal of Natural History*, 27(1), 67–105.
- Jervis, M. A., Kidd, N. A. C., & Walton, M. (1992). A review of methods for determining dietary range in adult parasitoids. *Entomophaga*, 37(4), 565–574.
- Jervis, M. A., Heimpel, G. E., Ferns, P. N., Harvey, J. A., & Kidd, N. A. (2001). Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of 'ovigeny'. *Journal of Animal Ecology*, 70(3), 442–458.
- Jha, S., & Kremen, C. (2013). Resource diversity and landscape-level homogeneity drive native bee foraging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(2), 555–558.
- Jones, I. M., Koptur, S., & von Wettberg, E. J. (2017). The use of extrafloral nectar in pest management: overcoming context dependence. *Journal of Applied Ecology*, 54(2), 489–499.
- Jonsson, M., Straub, C. S., Didham, R. K., Buckley, H. L., Case, B. S., Hale, R. J., ... Wratten, S. D. (2015). Experimental evidence that the effectiveness of conservation biological control depends on landscape complexity. *Journal of Applied Ecology*, 52(5), 1274–1282.
- Kainz, M. J., Hager, H. H., Rasconi, S., Kahilainen, K. K., Amundsen, P.-A., & Hayden, B. (2017). Polyunsaturated fatty acids in fishes increase with total lipids irrespective of feeding sources and trophic position. *Ecosphere*, 8(4), e01753.
- Kamran, A., Asif, M., Hussain, S. B., & Hirani, M. A. and A. (2013). Major Insects of Wheat: Biology and Mitigation Strategies. *Crop Production*.
- Karp, D. S., Chaplin-Kramer, R., Meehan, T. D., Martin, E. A., DeClerck, F., Grab, H., ... Zou, Y. (2018). Crop pests and predators exhibit inconsistent responses to surrounding landscape composition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201800042.
- Kaser, J. M., & Heimpel, G. E. (2015). Linking risk and efficacy in biological control host–parasitoid models. *Biological Control*, 90, 49–60.
- Kaser, J. M., & Ode, P. J. (2016). Hidden risks and benefits of natural enemy-mediated indirect effects. *Current Opinion in Insect Science*, 14, 105–111.
- Kawaguchi, S., Manabe, Y., Sugawara, T., & Osakabe, M. (2016). Imaginal Feeding for Progression of Diapause Phenotype in the Two-Spotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae). *Environmental Entomology*, 45(6), 1568–1573.
- Kean, J., Wratten, S., Tylianakis, J., & Barlow, N. (2003). The population consequences of natural enemy enhancement, and implications for conservation biological control. *Ecology Letters*, 6(7), 604–612.



- Kishinevsky, M., Cohen, N., Chiel, E., Wajnberg, E., & Keasar, T. (2018). Sugar feeding of parasitoids in an agroecosystem: effects of community composition, habitat and vegetation. *Insect Conservation and Diversity*, *11*(1), 50–57.
- Knops, J. M. H., Tilman, D., Haddad, N. M., Naeem, S., Mitchell, C. E., Haarstad, J., ... Groth, J. (1999). Effects of plant species richness on invasion dynamics, disease outbreaks, insect abundances and diversity. *Ecology Letters*, *2*(5), 286–293.
- König, K., Krimmer, E., Brose, S., Gantert, C., Buschlüter, I., König, C., ... Steidle, J. L. M. (2015). Does early learning drive ecological divergence during speciation processes in parasitoid wasps? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *282*(1799), 20141850.
- Kontturi, M., Laine, A., Niskanen, M., Hurme, T., Hyövelä, M., & Peltonen-Sainio, P. (2011). Pea–oat intercrops to sustain lodging resistance and yield formation in northern European conditions. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, *61*(7), 612–621.
- Koptur, S. (1994). Floral and Extrafloral Nectars of Costa Rican Inga Trees: A Comparison of their Constituents and Composition. *Biotropica*, *26*(3), 276–284.
- Křivan, V. (1996). Optimal Foraging and Predator–Prey Dynamics. *Theoretical Population Biology*, *49*(3), 265–290.
- Křivan, V., & Sirot, E. (1997). Searching for Food or Hosts: The Influence of Parasitoids Behavior on Host–Parasitoid Dynamics. *Theoretical Population Biology*, *51*(3), 201–209.
- Kugimiya, S., Uefune, M., Shimoda, T., & Takabayashi, J. (2010). Orientation of the parasitic wasp, *Cotesia vestalis* (Hymenoptera: Braconidae), to visual and olfactory cues of field mustard flowers, *Brassica rapa* L. (Brassicaceae), to exploit food sources. *Applied Entomology and Zoology*, *45*(3), 369–375.
- Laca, E. A. (2008). Foraging in a heterogeneous environment: intake and diet choice. In H. H. T. Prins & F. Van Langevelde (Eds.), *Resource Ecology* (pp. 81–100). Springer Netherlands.
- Lach, L. (2008). Argentine ants displace floral arthropods in a biodiversity hotspot. *Diversity and Distributions*, *14*(2), 281–290.
- Landis, D. A., Wratten, S. D., & Gurr, G. M. (2000). Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology*, *45*(1), 175–201.
- Langley, S. A., Tilmon, K. J., Cardinale, B. J., & Ives, A. R. (2006). Learning by the parasitoid wasp, *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae), alters individual fixed preferences for pea aphid color morphs. *Oecologia*, *150*(1), 172–179.
- Lavandero, B., Wratten, S., Shishehbor, P., & Worner, S. (2005). Enhancing the effectiveness of the parasitoid *Diadegma semiclausum* (Helen): Movement after use of nectar in the field. *Biological Control*, *34*(2), 152–158.
- Lee, J. C. (2019). What We Can Learn From the Energetic Levels of Insects: A Guide and Review. *Annals of the Entomological Society of America*, *112*(3), 220–226.
- Lee, J. C., Andow, D. A., & Heimpel, G. E. (2006). Influence of floral resources on sugar feeding and nutrient dynamics of a parasitoid in the field. *Ecological Entomology*, *31*(5), 470–480.

- Lee, J. C., & Heimpel, G. E. (2008). Floral resources impact longevity and oviposition rate of a parasitoid in the field. *Journal of Animal Ecology*, *77*(3), 565–572
- Lee, K. P., Simpson, S. J., Clissold, F. J., Brooks, R., Ballard, J. W. O., Taylor, P. W., ... Raubenheimer, D. (2008). Lifespan and reproduction in *Drosophila*: New insights from nutritional geometry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(7), 2498–2503.
- Lenaerts, M., Abid, L., Paulussen, C., Goelen, T., Wäckers, F., Jacquemyn, H., & Lievens, B. (2016). Adult Parasitoids of Honeydew-Producing Insects Prefer Honeydew Sugars to Cover their Energetic Needs. *Journal of Chemical Ecology*, *42*(10), 1028–1036.
- Lenth, R., Singmann, H., Love, J., Buerkner, P., & Herve, M. (2019). emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means (Version 1.4.1). <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>
- Lenth, R. V. (2016). Least-Squares Means: The R Package lsmeans. *Journal of Statistical Software*, *69*(1), 1–33.
- Leroy, P. D., Sabri, A., Heuskin, S., Thonart, P., Lognay, G., Verheggen, F. J., ... Haubruge, E. (2011). Microorganisms from aphid honeydew attract and enhance the efficacy of natural enemies. *Nature Communications*, *2*, 348.
- Lescourret, F., Magda, D., Richard, G., Adam-Blondon, A.-F., Baudry, J., Bardy, M., ... Soussana, J.-F. (2015). A social–ecological approach to managing multiple agro-ecosystem services. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, *14*, 68–75.
- Letourneau, D. K., Armbrrecht, I., Rivera, B. S., Lerma, J. M., Carmona, E. J., Daza, M. C., ... Trujillo, A. R. (2011). Does plant diversity benefit agroecosystems? A synthetic review. *Ecological Applications*, *21*(1), 9–21.
- Lewis, W. J., Stapel, J. O., Cortesero, A. M., & Takasu, K. (1998). Understanding how parasitoids balance food and host needs: importance to biological control. *Biological Control*, *11*(2), 175–183.
- Lewis, W. J., & Takasu, K. (1990). Use of learned odours by a parasitic wasp in accordance with host and food needs. *Nature*, *348*(6302), 635–636.
- Liaw, A., & Wiener, M. (2002). Classification and Regression by randomForest. *R News*, *2*(3), 18–22.
- Lihoreau, M., Buhl, J., Charleston, M. A., Sword, G. A., Raubenheimer, D., & Simpson, S. J. (2015). Nutritional ecology beyond the individual: a conceptual framework for integrating nutrition and social interactions. *Ecology Letters*, *18*(3), 273–286.
- Liland, K. H., & Indahl, U. G. (2009a). Powered partial least squares discriminant analysis. *Journal of Chemometrics*, *23*(1), 7–18.
- Liu, Y., Wang, W.-L., Guo, G.-X., & Ji, X.-L. (2009). Volatile emission in wheat and parasitism by *Aphidius avenae* after exogenous application of salivary enzymes of *Sitobion avenae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *130*(3), 215–221.
- Lu, Z.-X., Zhu, P.-Y., Gurr, G. M., Zheng, X.-S., Read, D. M. Y., Heong, K.-L., ... Xu, H.-X. (2014). Mechanisms for flowering plants to benefit arthropod natural enemies of insect pests: Prospects for enhanced use in agriculture: Flowering plants benefit natural enemies. *Insect Science*, *21*(1), 1–12.

- 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*(9), 1409–1418.
- MacArthur, R. H., & Pianka, E. R. (1966). On Optimal Use of a Patchy Environment. *The American Naturalist*, *100*(916), 603–609.
- Mackauer, M., Michaud, J. P., & Völkl, W. (1996). Host choice by aphidiid parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae): host recognition, host quality, and host value. *The Canadian Entomologist*, *128*(06), 959–980.
- Malézieux, E., Crozat, Y., Dupraz, C., Laurans, M., Makowski, D., Ozier-Lafontaine, H., ... Valantin-Morison, M. (2009). Mixing plant species in cropping systems: concepts, tools and models. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *29*(1), 43–62.
- Martin, J. P., Beyerlein, A., Dacks, A. M., Reisenman, C. E., Riffell, J. A., Lei, H., & Hildebrand, J. G. (2011). The neurobiology of insect olfaction: Sensory processing in a comparative context. *Progress in Neurobiology*, *95*(3), 427–447.
- McCune, B., & Grace, J. B. (2002). *Analysis of Ecological Communities* (Vol. 28). MjM Software Design.
- McIvor, C. C., & Odum, W. E. (1988). Food, Predation Risk, and Microhabitat Selection in a Marsh Fish Assemblage. *Ecology*, *69*(5), 1341–1351.
- Meiners, T., Wäckers, F., & Lewis, W. J. (2003). Associative learning of complex odours in parasitoid host location. *Chemical Senses*, *28*(3), 231–236.
- Menzel, R. (2012). The honeybee as a model for understanding the basis of cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, *13*(11), 758–768.
- Mills, N. J., & Wajnberg, É. (2008). Optimal Foraging Behavior and Efficient Biological Control Methods. In *Behavioral Ecology of Insect Parasitoids* (pp. 1–30). John Wiley & Sons, Ltd.
- Mondor, E. B., & Addicott, J. F. (2003). Conspicuous extra-floral nectaries are inducible in *Vicia faba*. *Ecology Letters*, *6*(6), 495–497.
- Montovan, K. J., Couchoux, C., Jones, L. E., Reeve, H. K., & van Nouhuys, S. (2015). The Puzzle of Partial Resource Use by a Parasitoid Wasp. *The American Naturalist*, *185*(4), 538–550.
- Mousavi, S. R., & Eskandari, H. (2011). A General Overview on Intercropping and Its Advantages in Sustainable Agriculture. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, *1*(11), 482–486.
- Neuville, S., Ralec, A. L., Outreman, Y., & Jaloux, B. (2016). The delay in arrival of the parasitoid *Diaeretiella rapae* influences the efficiency of cabbage aphid biological control. *BioControl*, *61*(2), 115–126.
- Nielsen, J. M., Clare, E. L., Hayden, B., Brett, M. T., & Kratina, P. (2018). Diet tracing in ecology: Method comparison and selection. *Methods in Ecology and Evolution*, *9*(2), 278–291.
- Nilsson, U., Eriksson, A., Rämert, B., & Anderson, P. (2012). Male and female *Trybliographa rapae* (Hymenoptera: Figitidae) behavioural responses to food plant, infested host plant and combined volatiles. *Arthropod-Plant Interactions*, *6*(2), 251–258.

- Ninkovic, V., Ahmed, E., Glinwood, R., & Pettersson, J. (2003). Effects of two types of semiochemical on population development of the bird cherry oat aphid *Rhopalosiphum padi* in a barley crop. *Agricultural and Forest Entomology*, 5(1), 27–34.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., ... Wagner, H. (2019). vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-3. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan> (Version 2.5-6).
- Olson, D. a. W. N. M., Fadamiro, H., Lundgren, J. O. nathan G., & Heimpel, G. E. (2000). Effects of sugar feeding on carbohydrate and lipid metabolism in a parasitoid wasp. *Physiological Entomology*, 25(1), 17–26.
- Olson, D. M., & Wäckers, F. L. (2007). Management of Field Margins to Maximize Multiple Ecological Services. *Journal of Applied Ecology*, 44(1), 13–21.
- Ortiz-Martínez, S. A., & Lavandero, B. (2018). The effect of landscape context on the biological control of *Sitobion avenae*: temporal partitioning response of natural enemy guilds. *Journal of Pest Science*, 91(1), 41–53.
- Perović, D. J., Gámez-Virués, S., Landis, D. A., Wäckers, F., Gurr, G. M., Wratten, S. D., ... Desneux, N. (2018). Managing biological control services through multi-trophic trait interactions: review and guidelines for implementation at local and landscape scales. *Biological Reviews*, 93(1), 306–321.
- Petit, S., Boursault, A., Le Guilloux, M., Munier-Jolain, N., & Reboud, X. (2011). Weeds in agricultural landscapes. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 31(2), 309–317.
- Pettersson, E. M., Sullivan, B. T., Anderson, P., Berisford, C. W., & Birgersson, G. (2000). Odor Perception in the Bark Beetle Parasitoid *Roptrocercus xylophagorum* Exposed to Host Associated Volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 26(11), 2507–2525.
- Pettersson, J. (1970). An Aphid Sex Attractant. *Entomologica Scandinavica*, 1(1), 63–73.
- Pfiffner, L., Cahenzli, F., Steinemann, B., Jamar, L., Bjørn, M. C., Porcel, M., ... Sigsgaard, L. (2019). Design, implementation and management of perennial flower strips to promote functional agrobiodiversity in organic apple orchards: A pan-European study. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 278, 61–71.
- Phillips, C. B., Hiszczynska-Sawicka, E., Iline, I. I., Novoselov, M., Jiao, J., Richards, N. K., & Hardwick, S. (2018). A modified enzymatic method for measuring insect sugars and the effect of storing samples in ethanol on subsequent trehalose measurements. *Biological Control*, 126, 127–135.
- Phillips, D. L., Inger, R., Bearhop, S., Jackson, A. L., Moore, J. W., Parnell, A. C., ... Ward, E. J. (2014). Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. *Canadian Journal of Zoology*, 92(10), 823–835.
- Pickett, C. H., & Bugg, R. L. (1998). *Enhancing Biological Control: Habitat Management to Promote Natural Enemies of Agricultural Pests*. University of California Press.
- Pitcairn, M. J., Getz, W. M., & Williams, D. W. (1990). Resource Availability and Parasitoid Abundance in the Analysis of Host-Parasitoid Data. *Ecology*, 71(6), 2372–2374.
- Plucknett, D. I., & Smith, N. J. H. (1986). Historical perspectives on multiple cropping. In C. A. Francis (Ed.), *Multiple cropping systems*. Macmillan Pub. Co.

- Pollier, A., Dosdat, S., Tricault, Y., Bischoff, A., Plantegenest, M., & Jaloux, B. (2016). Using the stable isotope marker  $^{13}\text{C}$  to study extrafloral nectar uptake by parasitoids under controlled conditions and in the field. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *161*(2), 131–140.
- Pollier, A., Guillomo, L., Tricault, Y., Plantegenest, M., & Bischoff, A. (2018). Effects of spontaneous field margin vegetation on the regulation of herbivores in two winter crops. *Basic and Applied Ecology*.
- Poppy, G. M., Powell, W., & Pennacchio, F. (1997). Aphid parasitoid responses to semiochemicals — Genetic, conditioned or learnt? *Entomophaga*, *42*(1–2), 193–199.
- Powell, W., Pennacchio, F., Poppy, G. M., & Tremblay, E. (1998). Strategies Involved in the Location of Hosts by the Parasitoid *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). *Biological Control*, *11*(2), 104–112.
- Praslicka, J. (Univerzita K. F., Al Dobai, S., & Huszar, J. (2003). Hymenopteran parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae) of cereal aphids (Sternorrhyncha: Aphidoidea) in winter wheat crops in Slovakia. *Plant Protection Science - UZPI (Czech Republic)*.
- Prins, H. H. T. (1996). *Ecology and Behaviour of the African Buffalo: Social inequality and decision making*. Springer Netherlands.
- Prins, H. H. T., & Langevelde, F. van (Eds.). (2008a). *Resource ecology: spatial and temporal dynamics of foraging*. Dordrecht: Springer.
- Prins, H. H. T., & Van Langevelde, F. (2008b). Assembling a diet from different places. In H. H. T. Prins & F. Van Langevelde (Eds.), *Resource Ecology* (pp. 129–155). Springer Netherlands.
- Pungerl, N. B. (1984). Host preferences of *Aphidius* (Hymenoptera: Aphidiidae) populations parasitising pea and cereal aphids (Hemiptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*, *74*(01), 153. doi:[10.1017/S0007485300010026](https://doi.org/10.1017/S0007485300010026)
- Pyke, G. H., Pulliam, H. R., & Charnov, E. L. (1977). Optimal Foraging: A Selective Review of Theory and Tests. *The Quarterly Review of Biology*, *52*(2), 137–154.
- Quiroz, A., Pettersson, J., Pickett, J. A., Wadhams, L. J., & Niemeyer, H. M. (1997). Semiochemicals Mediating Spacing Behavior of Bird Cherry-Oat Aphid, *Rhopalosiphum padi* Feeding on Cereals. *Journal of Chemical Ecology*, *23*(11), 2599–2607.
- R Core Team. (2018). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. <http://www.R-project.org>
- Rabasse, J.-M., Dedryver, C.-A., Gelle, A., Lafont, J.-P., & Molinari, J. (1983). Biologie des pucerons des céréales dans l'Ouest de la France. III. Action des hyménoptères parasites sur les populations de *Sitobion avenae* F., *Metopolophium dirhodum* Wlk. et *Rhopalosiphum padi* L. *Agronomie*, *3*(8), 779–790.
- Rand, T. A., & Lundgren, J. G. (2019). Quantifying Temporal Variation in the Benefits of Aphid Honeydew for Biological Control of Alfalfa Weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology*, *48*(1), 141–146.
- Rapport, D. J. (1980). Optimal Foraging for Complementary Resources. *The American Naturalist*, *116*(3), 324–346.

- Raseduzzaman, Md., & Jensen, E. S. (2017). Does intercropping enhance yield stability in arable crop production? A meta-analysis. *European Journal of Agronomy*, *91*, 25–33.
- Rasekh, A., Michaud, J. P., Kharazi-Pakdel, A., & Allahyari, H. (2010). Ant Mimicry by an Aphid Parasitoid, *Lysiphlebus fabarum*. *Journal of Insect Science*, *10*.
- Raubenheimer, D., Simpson, S. J., & Mayntz, D. (2009). Nutrition, ecology and nutritional ecology: toward an integrated framework. *Functional Ecology*, *23*(1), 4–16.
- Raymond, L., Ortiz-Martínez, S. A., & Lavandero, B. (2015). Temporal variability of aphid biological control in contrasting landscape contexts. *Biological Control*, *90*, 148–156.
- Raymond, L., Plantegenest, M., Gagic, V., Navasse, Y., & Lavandero, B. (2016). Aphid parasitoid generalism: development, assessment, and implications for biocontrol. *Journal of Pest Science*, *89*(1), 7–20.
- Read, J., Pfahringer, B., Holmes, G., & Frank, E. (2011). Classifier chains for multi-label classification. *Machine Learning*, *85*(3), 333.
- Rice, R. E. (1969). Response of some predators and parasites of *Ips confusus* (LeC.) (Coleoptera: Scolytidae) to olfactory attractants. *Contr. Boyce Thompson Inst. Pl*, *24*, 189–94.
- Ricklefs, R. E., & Miller, G. L. (2000). *Ecology*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Rodriguez, L. C., Niemeyer, H. M. (Universidad de C., & Fuentes-Contreras, E. (2002). Effect of innate preferences, conditioning and adult experience on the attraction of *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae) toward plant volatiles. *European Journal of Entomology (Czech Republic)*, *99*, 285–288.
- Root, R. B. (1973). Organization of a Plant-Arthropod Association in Simple and Diverse Habitats: The Fauna of Collards (*Brassica Oleracea*). *Ecological Monographs*, *43*(1), 95–124.
- Röse, U. S. R., Lewis, J., & Tumlinson, J. H. (2006). Extrafloral nectar from cotton (*Gossypium hirsutum*) as a food source for parasitic wasps. *Functional Ecology*, *20*(1), 67–74.
- Rosenheim, J. A., & Mangel, M. (1994). Patch-leaving rules for parasitoids with imperfect host discrimination. *Ecological Entomology*, *19*(4), 374–380.
- Rubio, V. C., Sánchez-Vázquez, F. J., & Madrid, J. A. (2005). Fish macronutrient selection through post-ingestive signals: Effect of selective macronutrient deprivation. *Physiology & Behavior*, *84*(4), 651–657.
- Saeed, R., Razaq, M., & Hardy, I. C. W. (2015). The importance of alternative host plants as reservoirs of the cotton leaf hopper, *Amrasca devastans*, and its natural enemies. *Journal of Pest Science*, *88*(3), 517–531.
- Schmitz, O. J. (2008). Herbivory from Individuals to Ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *39*(1), 133–152.
- Schröder, R., & Hilker, M. (2008). The Relevance of Background Odor in Resource Location by Insects: A Behavioral Approach. *BioScience*, *58*(4), 308–316.
- Scrucca, L., Fop, M., Murphy, T., Brendan, & Raftery, A., E. (2016). mclust 5: Clustering, Classification and Density Estimation Using Gaussian Finite Mixture Models. *The R Journal*, *8*(1), 289.

- Segoli, M., & Rosenheim, J. A. (2013). Spatial and temporal variation in sugar availability for insect parasitoids in agricultural fields and consequences for reproductive success. *Biological Control*, *67*(2), 163–169.
- Sengupta, P. (2013). The belly rules the nose: feeding state-dependent modulation of peripheral chemosensory responses. *Current Opinion in Neurobiology*, *23*(1), 68–75.
- Shameer, K. S., Nasser, M., Mohan, C., & Hardy, I. C. W. (2018). Direct and indirect influences of intercrops on the coconut defoliator *Opisina arenosella*. *Journal of Pest Science*, *91*(1), 259–275.
- Siekmann, G., Keller, M. A., & Tenhumberg, B. (2004). The Sweet Tooth of Adult Parasitoid *Cotesia rubecula*: Ignoring Hosts for Nectar? *Journal of Insect Behavior*, *17*(4), 459–476.
- Siemann, E., Tilman, D., Haarstad, J., & Ritchie, M. (1998). Experimental Tests of the Dependence of Arthropod Diversity on Plant Diversity. *The American Naturalist*, *152*(5), 738–750.
- Simpson, S. J., Raubenheimer, D., Charleston, M. A., & Clissold, F. J. (2010). Modelling nutritional interactions: from individuals to communities. *Trends in Ecology & Evolution*, *25*(1), 53–60.
- Simpson, S. J., Sword, G. A., Lorch, P. D., & Couzin, I. D. (2006). Cannibal crickets on a forced march for protein and salt. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(11), 4152–4156.
- Sirovica, E., & Bernstein, C. (1996). Time sharing between host searching and food searching in parasitoids: state-dependent optimal strategies. *Behavioral Ecology*, *7*(2), 189–194.
- Sivakoff, F. S., Rosenheim, J. A., & Hagler, J. R. (2011). Threshold choice and the analysis of protein marking data in long-distance dispersal studies: *Threshold choice for protein marking data*. *Methods in Ecology and Evolution*, *2*(1), 77–85.
- Smith, M. A., Rodriguez, J. J., Whitfield, J. B., Deans, A. R., Janzen, D. H., Hallwachs, W., & Hebert, P. D. N. (2008). Extreme diversity of tropical parasitoid wasps exposed by iterative integration of natural history, DNA barcoding, morphology, and collections. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105*(34), 12359–12364.
- Smith, R. L., & Smith, T. M. (2015). *Elements of Ecology* (9 edition). Boston: Pearson Education.
- Sobhy, I. S., Baets, D., Goelen, T., Herrera-Malaver, B., Bosmans, L., Van den Ende, W., ... Lievens, B. (2018). Sweet Scents: Nectar Specialist Yeasts Enhance Nectar Attraction of a Generalist Aphid Parasitoid Without Affecting Survival. *Frontiers in Plant Science*, *9*.
- Sobhy, I. S., Goelen, T., Herrera-Malaver, B., Verstrepen, K. J., Wäckers, F., Jacquemyn, H., & Lievens, B. (2019). Associative learning and memory retention of nectar yeast volatiles in a generalist parasitoid. *Animal Behaviour*, *153*, 137–146.
- Sousa, T., Domingos, T., & Kooijman, S. a. I. m. (2008). From empirical patterns to theory: a formal metabolic theory of life. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *363*(1502), 2453–2464.
- Stacconi, R., Amiresmaeili, N., Biondi, A., Carli, C., Caruso, S., Dindo, M. L., ... Ioriatti, C. (2018). Host location and dispersal ability of the cosmopolitan parasitoid *Trichopria drosophilae* released to control the invasive spotted wing *Drosophila*. *Biological Control*, *117*, 188–196.

- Stapel, J. O., Cortesero, A. M., De Moraes, C. M., Tumlinson, J. H., & Joe Lewis, W. (1997). Extrafloral Nectar, Honeydew, and Sucrose Effects on Searching Behavior and Efficiency of *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) in Cotton. *Environmental Entomology*, *26*(3), 617–623.
- Starý, P., Gerding, Ing. M., Norambuena, Ing. H., & Remaudière, G. (1993). Environmental research on aphid parasitoid biocontrol agents in Chile (Hym., Aphidiidae; Hom., Aphidoidea). *Journal of Applied Entomology*, *115*(1–5), 292–306.
- Starý, Petr. (1972). Host range of parasites and ecosystem relations, a new viewpoint in multilateral control concept. *Ann. Soc. Entomol France*, *8*(2), 351–358.
- Steidle, J. L. M., & van Loon, J. J. A. (2003). Dietary specialization and infochemical use in carnivorous arthropods: testing a concept. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *108*(3), 133–148.
- Stelinski, L. L., & Liburd, O. E. (2005). Behavioral evidence for host fidelity among populations of the parasitic wasp, *Diachasma alloeum* (Muesebeck). *Naturwissenschaften*, *92*(2), 65–68.
- Stephens, D. W., & Krebs, J. R. (1986). *Foraging Theory*. Princeton University Press.
- Steppuhn, A., & Wäckers, F. L. (2004). HPLC sugar analysis reveals the nutritional state and the feeding history of parasitoids. *Functional Ecology*, *18*(6), 812–819.
- Sternlicht, M. (1973). Parasitic wasps attracted by the sex pheromone of their coccid host. *Entomophaga*, *18*(4), 339–342.
- Stoddard, F. L., Nicholas, A. H., Rubiales, D., Thomas, J., & Villegas-Fernández, A. M. (2010). Integrated pest management in faba bean. *Field Crops Research*, *115*(3), 308–318.
- Storeck, A., Poppy, G. M., Emden, H. van, & Powell, W. (2000). The role of plant chemical cues in determining host preference in the generalist aphid parasitoid *Aphidius colemani*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *97*(1), 41–46.
- Takabayashi, J., Takahashi, S., Dicke, M., & Posthumus, M. A. (1995). Developmental stage of herbivore *Pseudaletia separata* affects production of herbivore-induced synomone by corn plants. *Journal of Chemical Ecology*, *21*(3), 273–287.
- Takasu, K., & Lewis, W. J. (1996). The role of learning in adult food location by the larval parasitoid, *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior*, *9*(2), 265–281.
- Takemoto, H., Kainoh, Y., & Takabayashi, J. (2011). Learning of plant volatiles by aphid parasitoids: timing to learn. *Journal of Plant Interactions*, *6*(2–3), 137–140.
- Takemoto, H., Powell, W., Pickett, J., Kainoh, Y., & Takabayashi, J. (2009). Learning is involved in the response of parasitic wasps *Aphidius ervi* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae) to volatiles from a broad bean plant, *Vicia faba* (Fabaceae), infested by aphids *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Homoptera: Aphididae). *Applied Entomology and Zoology*, *44*(1), 23–28.
- Takemoto, H., Powell, W., Pickett, J., Kainoh, Y., & Takabayashi, J. (2012). Two-step learning involved in acquiring olfactory preferences for plant volatiles by parasitic wasps. *Animal Behaviour*, *83*(6), 1491–1496.



- Takemoto, H., & Takabayashi, J. (2015). Parasitic Wasps *Aphidius ervi* are More Attracted to a Blend of Host-Induced Plant Volatiles than to the Independent Compounds. *Journal of Chemical Ecology*, *41*(9), 801–807.
- Tang, X., Bernard, L., Brauman, A., Daufresne, T., Deleporte, P., Desclaux, D., ... Hinsinger, P. (2014). Increase in microbial biomass and phosphorus availability in the rhizosphere of intercropped cereal and legumes under field conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, *75*, 86–93.
- Tena, A., Pekas, A., Cano, D., Wäckers, F. L., & Urbaneja, A. (2015). Sugar provisioning maximizes the biocontrol service of parasitoids. *Journal of Applied Ecology*, *52*(3), 795–804.
- Tena, A., Pekas, A., Wäckers, F. L., & Urbaneja, A. (2013). Energy reserves of parasitoids depend on honeydew from non-hosts. *Ecological Entomology*, *38*(3), 278–289.
- Tena, A., Wäckers, F. L., Heimpel, G. E., Urbaneja, A., & Pekas, A. (2016). Parasitoid nutritional ecology in a community context: the importance of honeydew and implications for biological control. *Current Opinion in Insect Science*, *14*, 100–104.
- Tenhumberg, B., Siekmann, G., Keller, M. A., & Ranta, E. (2006). Optimal time allocation in parasitic wasps searching for hosts and food. *Oikos*, *113*(1), 121–131.
- Terres Inovia. 2019. Guide culture pois. Retrieved from <https://www.terresinovia.fr/p/guide-feverole-bio>
- The International Aphid Genomics Consortium. (2010). Genome Sequence of the Pea Aphid *Acyrtosiphon pisum*. *PLoS Biology*, *8*(2).
- Thies, C., & Tscharrntke, T. (1999). Landscape Structure and Biological Control in Agroecosystems. *Science*, *285*(5429), 893–895.
- Tian, J.-C., Wang, G.-W., Romeis, J., Zheng, X.-S., Xu, H.-X., Zang, L.-S., & Lu, Z.-X. (2016). Different Performance of Two *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Species Feeding on Sugars. *Environmental Entomology*, *45*(5), 1316–1321.
- Tilman, D. (1980). Resources: A Graphical-Mechanistic Approach to Competition and Predation. *The American Naturalist*, *116*(3), 362–393.
- Tilman, D. (1982). *Resource Competition and Community Structure*. Princeton University Press.
- Tilman, D. (1986). A Consumer-Resource Approach to Community Structure. *American Zoologist*, *26*(1), 5–22.
- Tilman, D., Reich, P. B., & Knops, J. M. H. (2006). Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature*, *441*(7093), 629–632.
- Tilman, D., Reich, P. B., Knops, J., Wedin, D., Mielke, T., & Lehman, C. (2001). Diversity and Productivity in a Long-Term Grassland Experiment. *Science*, *294*(5543), 843–845.
- Topham, M., & Beardsley, J. W. J. (1975). Influence of nectar source plants on the New Guinea sugarcane weevil parasite, *Lixophaga sphenophori* (Villeneuve). *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society*, *22*, 145–155.
- Traugott, M., Kamenova, S., Ruess, L., Seeber, J., & Plantegenest, M. (2013). Empirically Characterising Trophic Networks. In *Advances in Ecological Research* (Vol. 49, pp. 177–224). Elsevier.

- Tscharntke, T., Bommarco, R., Clough, Y., Crist, T. O., Kleijn, D., Rand, T. A., ... Vidal, S. (2007). Conservation biological control and enemy diversity on a landscape scale. *Biological Control*, 43(3), 294–309.
- Tscharntke, T., Karp, D. S., Chaplin-Kramer, R., Batáry, P., DeClerck, F., Gratton, C., ... Zhang, W. (2016). When natural habitat fails to enhance biological pest control – Five hypotheses. *Biological Conservation*, 204, 449–458.
- Tsoumakas, G., & Katakis, I. (2007). Multi-Label Classification: An Overview. *International Journal of Data Warehousing and Mining (IJDWM)*, 3(3), 1–13.
- Turlings, T. C. J., Tumlinson, J. H., & Lewis, W. J. (1990). Exploitation of Herbivore-Induced Plant Odors by Host-Seeking Parasitic Wasps. *Science*, 250(4985), 1251–1253.
- Turner, B. L., & Miksicek, C. H. (1984). Economic plant species associated with prehistoric agriculture in the Maya lowlands. *Economic Botany*, 38(2), 179–193.
- Tylianakis, J. M., Didham, R. K., & Wratten, S. D. (2004). Improved Fitness of Aphid Parasitoids Receiving Resource Subsidies. *Ecology*, 85(3), 658–666.
- van Baalen, M., Křivan, V., van Rijn, P. C. J., & Sabelis, M. W. (2001). Alternative Food, Switching Predators, and the Persistence of Predator-Prey Systems. *The American Naturalist*, 157(5), 512–524.
- van Emden, H. F., Eletherianos, I., Rose, J., Douloupaka, S., & Pettersson, J. (2002). Aphid parasitoids detect that an alien plant was present nearby during their development. *Physiological Entomology*, 27(3), 199–205.
- van Emden, H., Sponagl, B., Wagner, E., Baker, T., Ganguly, S., & Douloupaka, S. (1996). Hopkins' 'host selection principle', another nail in its coffin. *Physiological Entomology*, 21(4), 325–328.
- van Emden, Helmut F., Storeck, A. P., Douloupaka, S., Eleftherianos, I., Poppy, G. M., & Powell, W. (2008). Plant chemistry and aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae): Imprinting and memory. *European Journal of Entomology*, 105(3), 477.
- van Handel, E. (1972). The detection of nectar in mosquitoes. *Mosquito News*, 32(3), 458.
- Van Handel, E. (1985). Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1(3), 299–301.
- Van Nouhuys, S., & Lei, G. (2004). Parasitoid-Host Metapopulation Dynamics: The Causes and Consequences of Phenological Asynchrony. *Journal of Animal Ecology*, 73(3), 526–535.
- Van Rijn, P. C. J., & Sabelis, M. W. (2005). Impact of plant-provided food on herbivore–carnivore dynamics. In F. L. Wackers, P. C. J. van Rijn, & J. Bruin (Eds.), *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects* (pp. 223–266). Cambridge: Cambridge University Press.
- Vandermeer, J. H. (1989). *The Ecology of Intercropping*. Cambridge University Press.
- Vandermeer, J., van Noordwijk, M., Anderson, J., Ong, C., & Perfecto, I. (1998). Global change and multi-species agroecosystems: Concepts and issues. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 67(1), 1–22.
- Vankosky, M. (2009). Distribution, biology and integrated management of the pea leaf weevil, *Sitona lineatus* L. (Coleoptera: Curculionidae), with an analysis of research needs. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 4(007).

- Venables, W. N., & Ripley, B. D. (2002). *Modern Applied Statistics with S* (4th ed.). New York: Springer-Verlag.
- Vet, L E M, & Dicke, M. (1992). Ecology of Infochemical Use by Natural Enemies in a Tritrophic Context. *Annual Review of Entomology*, 37(1), 141–172.
- Vet, Louise E. M., & van Opzeeland, K. (1984). The influence of conditioning on olfactory microhabitat and host location in *Asobara tabida* (Nees) and *A. rufescens* (Foerster) (Braconidae: Alysiinae) larval parasitoids of Drosophilidae. *Oecologia*, 63(2), 171–177.
- Vinson, S. B. (1975). Biochemical Coevolution between Parasitoids and their Hosts. In P. W. Price (Ed.), *Evolutionary Strategies of Parasitic Insects and Mites* (pp. 14–48). Boston, MA: Springer US.
- Vinson, S B. (1976). Host Selection by Insect Parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 21(1), 109–133.
- Vinson, S B, & Iwantsch, G. F. (1980). Host Suitability for Insect Parasitoids. *Annual Review of Entomology*, 25(1), 397–419.
- Vinson, S. Bradleigh. (1991). Chemical signals used by parasitoids. *Redia, Geornale Zool.*, 74, 15–42.
- Völkl, W., & Stechmann, D.-H. (1998). Parasitism of the black bean aphid (*Aphis fabae*) by *Lysiphlebus fabarum* (Hym., Aphidiidae): the influence of host plant and habitat<sup>1</sup>. *Journal of Applied Entomology*, 122(1–5), 201–206.
- Vollhardt, I. M. G., Bianchi, F. J. J. A., Wäckers, F. L., Thies, C., & Tscharrntke, T. (2010a). Spatial distribution of flower vs. honeydew resources in cereal fields may affect aphid parasitism. *Biological Control*, 53(2), 204–213.
- Vollhardt, I. M. G., Bianchi, F. J. J. A., Wäckers, F. L., Thies, C., & Tscharrntke, T. (2010b). Nectar vs. honeydew feeding by aphid parasitoids: does it pay to have a discriminating palate?: Does preference for nectar matter? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 137(1), 1–10.
- Vosteen, I., van den Meiracker, N., & Poelman, E. H. (2019). Getting confused: learning reduces parasitoid foraging efficiency in some environments with non-host-infested plants. *Oecologia*, 189(4), 919–930.
- Waage, J. K., & Hassell, M. P. (1982). Parasitoids as biological control agents – a fundamental approach. *Parasitology*, 84(4), 241–268.
- Wäckers, F. L. (2001). A comparison of nectar-and honeydew sugars with respect to their utilization by the hymenopteran parasitoid *Cotesia glomerata*. *Journal of Insect Physiology*, 47(9), 1077–1084.
- Wäckers, F. L., Lee, J. C., Heimpel, G. E., Winkler, K., & Wagenaar, R. (2006). Hymenopteran parasitoids synthesize ‘honeydew-specific’ oligosaccharides. *Functional Ecology*, 20(5), 790–798.
- Wäckers, F. L., & Steppuhn, A. (2003). Characterizing nutritional state and food source use of parasitoids collected in fields with high and low nectar availability. *IOBC WPRS Bulletin*, 26(4), 203–208.
- Wackers, F. L., van Rijn, P. C. J., & Bruin, J. (Eds.). (2005). *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects: A Protective Mutualism and Its Applications*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Wäckers, Felix L., & van Rijn, P. C. J. (2005). Food for protection: an introduction. In F. L. Wackers, P. C. J. van Rijn, & J. Bruin (Eds.), *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects* (pp. 1–14). Cambridge: Cambridge University Press.

- Wäckers, Felix L., van Rijn, P. C. J., & Heimpel, G. E. (2008). Honeydew as a food source for natural enemies: Making the best of a bad meal? *Biological Control*, 45(2), 176–184.
- Wäckers, F.L. (1994). The effect of food deprivation on the innate visual and olfactory preferences in the parasitoid *Cotesia rubecula*. *Journal of Insect Physiology*, 40(8), 641–649.
- Wäckers, F.L. (2004). Assessing the suitability of flowering herbs as parasitoid food sources: flower attractiveness and nectar accessibility. *Biological Control*, 29(3), 307–314.
- Wäckers, F.L. (2005). Suitability of (extra-) floral nectar, pollen and honeydew as insect food sources. In *Plant-provided Food for Carnivorous Insects: A Protective Mutualism and its Applications* (pp. 17–74). Cambridge University Press.
- Wajnberg, E., Bernstein, C., & Alphen, J. van (Eds.). (2008). *Behavioral ecology of insect parasitoids: from theoretical approaches to field applications*. Malden, MA: Blackwell Pub.
- Wajnberg, É., & Ris, N. (2009). Parasitism and biological control. In F. Thomas, J. F. Guégan, & F. Renaud (Eds.), *Ecology & Evolution of Parasitism* (pp. 107–127). Oxford University Press.
- Wanner, H., Gu, H., & Dorn, S. (2006a). Nutritional value of floral nectar sources for flight in the parasitoid wasp, *Cotesia glomerata*. *Physiological Entomology*, 31(2), 127–133.
- Wanner, H., Gu, H., Hattendorf, B., Günther, D., & Dorn, S. (2006b). Using the stable isotope marker <sup>44</sup>Ca to study dispersal and host-foraging activity in parasitoids: *Stable isotope marking of parasitoids*. *Journal of Applied Ecology*, 43(5), 1031–1039.
- Wäschke, N., Meiners, T., & Rostás, M. (2013). Foraging Strategies of Parasitoids in Complex Chemical Environments. In *Chemical Ecology of Insect Parasitoids* (pp. 37–63). John Wiley & Sons, Ltd.
- Way, M. J. (1966). The Natural Environment and Integrated Methods of Pest Control. *Journal of Applied Ecology*, 3 (supplement), 29–32.
- Westerhuis, J. A., Hoefsloot, H. C. J., Smit, S., Vis, D. J., Smilde, A. K., van Velzen, E. J. J., ... van Dorsten, F. A. (2008). Assessment of PLS-DA cross validation. *Metabolomics*, 4(1), 81–89.
- Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J.-F., Ferrer, A., & Peigné, J. (2014). Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(1), 1–20.
- Wickremasinghe, M. G. V., & Emden, H. van. (1992). Reactions of adult female parasitoids, particularly *Aphidius rhopalosiphii*, to volatile chemical cues from the host plants of their aphid prey. *Physiological Entomology*, 17(3), 297–304.
- Wilkinson, T. K., & Landis, D. A. (2005). Habitat diversification in biological control: the role of plant resources. In F. L. Wäckers, P. C. J. van Rijn, & J. Bruin (Eds.), *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects* (pp. 305–325). Cambridge: Cambridge University Press.
- Winkler, K., Wäckers, F., Bukovinskine-Kiss, G., & van Lenteren, J. (2006). Sugar resources are vital for *Diadegma semiclausum* fecundity under field conditions. *Basic and Applied Ecology*, 7(2), 133–140.
- Winkler, K., Wäckers, F., & Pinto, D. M. (2009). Nectar-providing plants enhance the energetic state of herbivores as well as their parasitoids under field conditions. *Ecological Entomology*, 34(2), 221–227.

- Xu, Qingxuan, Hatt, S., Han, Z., Francis, F., & Chen, J. (2018a). Combining *E*- $\beta$ -farnesene and methyl salicylate release with wheat-pea intercropping enhances biological control of aphids in North China. *Biocontrol Science and Technology*, *28*(9), 883–894.
- Xu, Qinxuan, Hatt, S., Lopes, T., Zhang, Y., Bodson, B., Chen, J., & Francis, F. (2018b). A push–pull strategy to control aphids combines intercropping with semiochemical releases. *Journal of Pest Science*, *91*(1), 93–103.
- Zepeda-Paulo, F. A., Ortiz-Martínez, S. A., Figueroa, C. C., & Lavandero, B. (2013). Adaptive evolution of a generalist parasitoid: implications for the effectiveness of biological control agents. *Evolutionary Applications*, *6*(6), 983–999.
- Zepeda-Paulo, F., Dion, E., Lavandero, B., Mahéo, F., Outreman, Y., Simon, J. C., & Figueroa, C. C. (2016). Signatures of genetic bottleneck and differentiation after the introduction of an exotic parasitoid for classical biological control. *Biological Invasions*, *18*(2), 565–581.
- Zepeda-Paulo, Francisca, Lavandero, B., Mahéo, F., Dion, E., Outreman, Y., Simon, J.-C., & Figueroa, C. C. (2015). Does sex-biased dispersal account for the lack of geographic and host-associated differentiation in introduced populations of an aphid parasitoid? *Ecology and Evolution*, *5*(11), 2149–2161.
- Zovkic, I. B., Guzman-Karlsson, M. C., & Sweatt, J. D. (2013). Epigenetic regulation of memory formation and maintenance. *Learning & Memory*, *20*(2), 61–74.
- Zuñiga, S. E. R., Van den Bosch, J. D., & Francis, G. (1986). Control biológico de los áfidos (Homoptera: Aphididae) de los cereales de Chile. II. Obtención, introducción y cuarentena de depredadores y parasitoides. *Agricultura Técnica (Chile)*, *46*, 479–487.
- Zuur, A. F., & Ieno, E. N. (2016). A protocol for conducting and presenting results of regression-type analyses. *Methods in Ecology and Evolution*, *7*(6), 636–645.

# ANNEXES

---

- **Appendices for paper 2 – p. 173**

Only Appendices S1 to S4 are shown in this dissertation. Other appendices, that for most of them in either very long series of numbers in tables and/or large numbers of figures or in R scripts will be stored online with the paper.

- **Appendices for paper 3 – p. 191**

- **Contributions scientifiques et encadrements de stages – p. 199**



## Appendices for paper 2

### Paper 2 - Appendix S1 – *A. ervi* dataset

Table S1.1 – *A. ervi* dataset composition. Individuals received a feeding treatment at emergence (honeydew feeding, nectar feeding, no feeding) and were then starved from 0 to 48h, before being frozen. “Honeydew” = honeydew from *Acyrtosiphon pisum*, “Nectar” = *Vicia faba* extrafloral nectar.

| Feeding treatment at emergence | Starving time | Number |
|--------------------------------|---------------|--------|
| Honeydew                       | 0h            | 19     |
|                                | 1h            | 10     |
|                                | 12h           | 11     |
|                                | 24h           | 9      |
|                                | 48h           | 9      |
| Nectar                         | 0h            | 20     |
|                                | 1h            | 10     |
|                                | 12h           | 10     |
|                                | 24h           | 10     |
|                                | 48h           | 9      |
| Unfed                          | 0h            | 31     |
|                                | 1h            | 10     |
|                                | 12h           | 9      |
|                                | 24h           | 9      |
|                                | 48h           | 10     |

Table S1.2 – Technical details for the HPLC analysis on *A. ervi* dataset. Before analysis, lyophilized parasitoids were crushed and diluted in methanol 80%. After a 15min incubation period, methanol was evaporated in a speed-vac and samples were diluted in 500µl Milli-Q water. After centrifugation, the supernatant containing all soluble sugars was obtained for each sample and water was evaporated. Finally, samples were saved in a final volume of 100 µl of Milli-Q water. Ten µl of each diluted sample were injected in the chromatography system. Every ten samples a standard was run to check for deviation from the calibrated values.

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| Ion chromatography system     | DIONEX ICS 3000 system (Dionex Cooperation) |
| Column                        | CarboPac PA1                                |
| Column elution                | Milli Q ultrapure water and 100mM NaOH      |
| Chromatogram analysis program | Chromeleon 7 (Thermo Scientific)            |



## Paper 2 - Appendix S2 – Model

### *Quick description of the model*

‘Main sugars’ (glucose, fructose, sucrose). For each feeding class, the observed sum (glucose + fructose + sucrose) was considered as a ‘stock’ whose amount exponentially decreased over time. Within that stock, the observed ratios (glucose/fructose and fructose/sucrose) were then modelled as constants. That way, we could easily predict the rate of overall sugar metabolic dynamics while controlling ratios between the stock components (glucose, fructose, sucrose).

‘Weak sugars’ (erlose, maltose, stacchyoese, melezitose). Those sugars are characterized by a lot of zero values (Hogervorst et al. 2007, Tena et al. 2013, *A. ervi* dataset). Thus, we first modelled the probability for an individual to have a “0” value or a “>0” value for each sugar and treatment. The values of the “> 0” individuals were then modeled given possible overdispersion (i.e. a few individuals with high sugar values compared to the bulk of the data). We also considered that:

- the probability for a sugar to have a “> 0” value may depend on the feeding class, as well as its value when it is positive (e.g. honeydew-fed individuals have more often non null erlose and melezitose values, as well as higher values, Wäckers 2006, Hogervorst et al. 2007). When needed, different mean values were used to predict values across the different treatments (Appendix S1). This was decided by choosing the more parsimonious model upon Akaike information criterion (AIC; Akaike 1974) on the *A. ervi* dataset.

- the amount of those sugars quickly decreases after feeding or emergence (Wäckers 2006, *A. ervi* dataset). A different mean value was used to predict values for the ‘just fed’ individuals (time after feeding = 0) than for the ‘fed then starved’ individuals (time after feeding > 0), when t-tests showed significant difference between those two groups on the *A. ervi* dataset (Appendix S1).

## Paper 2 - Appendix S2 – Model

## Graphical description of the model

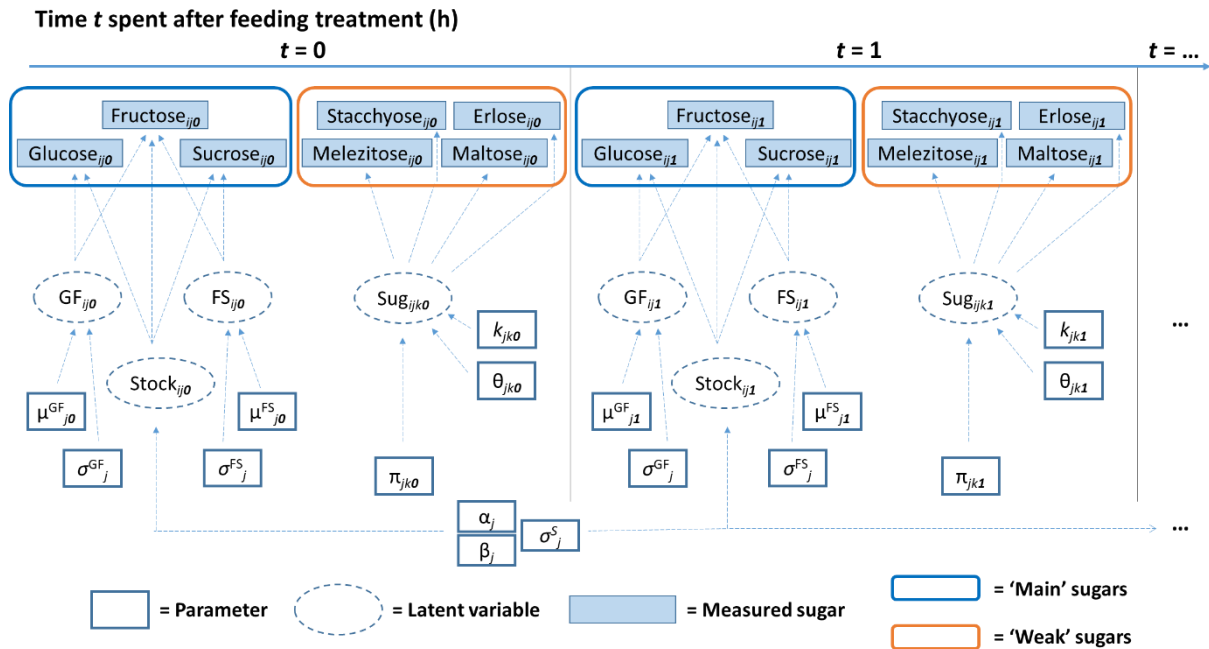


Figure S2.1 Directed acyclic graph of the model. The model predicted sugar values at five different times after receiving a feeding treatment (0h, 1h, 12h, 24h and 48h). Blue-filled boxes represent the measured sugar values for individual  $i$  of class  $j$  (nectar-fed, honeydew-fed or unfed) at time  $t$ . Here,  $t = 0$  (just after feeding) and  $t = 1$  (1h after feeding) are depicted. **Main sugars:**  $Stock_{ijt}$  is the sum (Glucose + Fructose + Sucrose) for individual  $i$  of class  $j$  at time  $t$ . Its logarithm has a mean value of  $\theta_j$  at origin and evolves as a function of time with a  $\alpha_j$  rate and a  $\sigma^S_j$  standard deviation.  $GF_{ijt}$  and  $FS_{ijt}$  are respectively the Glucose/Fructose and Fructose/Sucrose ratios for individual  $i$  of class  $j$  at time  $t$ . They are respectively drawn from a normal distribution with  $\mu^{GF}_{jt}$  or  $\mu^{FS}_{jt}$  mean and  $\sigma^{GF}_j$  or  $\sigma^{FS}_j$  standard deviation (thus, one different mean per time and a constant variation for each ratio). Combination of stock and ratios give the 'main sugars' values. **Weak sugars:**  $Sug_{ijkt}$  is the value for the sugar  $k$  measured at time  $t$ , on an individual  $i$  of class  $j$ ;  $k \in \{\text{erlose, melezitose, maltose, stachyose}\}$ . This value may either be zero (with a probability of  $\pi_{jkt}$ ), or a positive non-null value taken from a Gamma distribution with a  $k_{jkt}$  shape and a  $\theta_{jkt}$  scale.

## Paper 2 - Appendix S2 – Model

### Formal description of the model

#### Main sugars (Glucose, Fructose, Sucrose)

For each feeding class  $j$ , the observed sum (glucose + fructose + sucrose),  $Stock_{ijt}$ , was considered as a 'stock' whose amount exponentially decreased over time. Thus, the logarithm of  $Stock_{ijt}$  was modelled as a linear function of time, with Gaussian error. So for an individual  $i$ , from class  $j$ , at time  $t$

$$\bullet \log(Stock_{ijt}) \mid \alpha_{ij}, \beta_{ij}, \epsilon^{stock}_{ij} \sim \alpha_{ij} + \beta_{ij} * t + \epsilon^{stock}_{ij} \quad (1a)$$

$$\bullet Stock_{ijt} \mid \alpha_{ij}, \beta_{ij}, \epsilon^{stock}_{ij} \sim \exp(\alpha_{ij} + \beta_{ij} * t + \epsilon^{stock}_{ij}) \quad (1b)$$

$$\bullet E(\epsilon^{stock}_{ij}) = 0, \text{var}(\epsilon^{stock}_{ij}) = \sigma^s_{ij}$$

Within that stock, the observed ratios  $GF$  (glucose/fructose) and  $FS$  (fructose/sucrose) were then modelled as constants. A different mean was estimated for each ratio at different times after feeding (0h, 1h, 12h, 24h, 48h), with Gaussian error. So for an individual  $i$ , from class  $j$ , at time  $t$

$$\bullet GF_{ijt} \mid \mu^{GF}_{ijt}, \epsilon^{GF}_{ijt} \sim \mu^{GF}_{ijt} + \epsilon^{GF}_{ijt} \quad (2)$$

$$\bullet FS_{ijt} \mid \mu^{FS}_{ijt}, \epsilon^{FS}_{ijt} \sim \mu^{FS}_{ijt} + \epsilon^{FS}_{ijt} \quad (3)$$

$$\bullet E(\epsilon^{GF}_{ij}) = 0, \text{var}(\epsilon^{GF}_{ij}) = \sigma^{GF}_{ij}$$

$$\bullet E(\epsilon^{FS}_{ij}) = 0, \text{var}(\epsilon^{FS}_{ij}) = \sigma^{FS}_{ij}$$

Individual values for Glucose, Fructose and Sucrose were then computed by deduction from  $Stock_{ijt}$ ,  $GF_{ijt}$  and  $FS_{ijt}$ .

#### Weak sugars (Melezitose, Erllose, Maltose, Stacchiose)

We first modelled the probability for an individual to have a null or non-null value for each sugar and treatment. So for a class  $j$ , at time  $t$ , the number of individuals  $C^0_{jkt}$  having a null value for sugar  $k$  is:

$$\bullet C^0_{jkt} \mid \pi_{jkt}, n_{jt} \sim \text{Binomial}(\text{proba} = \pi_{jkt}, \text{size} = n_{jt}) \quad (4)$$

$$\bullet n_{jt} \text{ is the number of individuals from class } j \text{ at time } t$$

$$\bullet k \text{ belongs to (Erllose, Maltose, Melezitose, Stacchiose)}$$

Let  $L_{jkt}$  be the list of individuals from class  $j$  that do not have a null value for the sugar  $k$  at time  $t$ . The length of is  $n_{jt} - C^0_{jkt}$ . The values of the individuals belonging to  $L_{jkt}$  were modelled as conforming to a Gamma distribution. Let  $l$  be any individual belonging to  $L_{jkt}$ . For a class  $j$ , at time  $t$ , the value  $SugP_{jkt}$  corresponding to sugar  $k$  for the individual  $l$  is:

$$\bullet SugP_{jkt} \mid k_{jkt}, \theta_{jkt} \sim \text{Gamma}(\text{shape} = k_{jkt}, \text{scale} = \theta_{jkt}) \quad (5)$$

Thus, the value  $Sug_{ijkt}$  for sugar  $k \in$  (Erllose, Maltose, Melezitose, Stacchiose), for any individual  $i$  from class  $j$  at time  $t$  is the following:

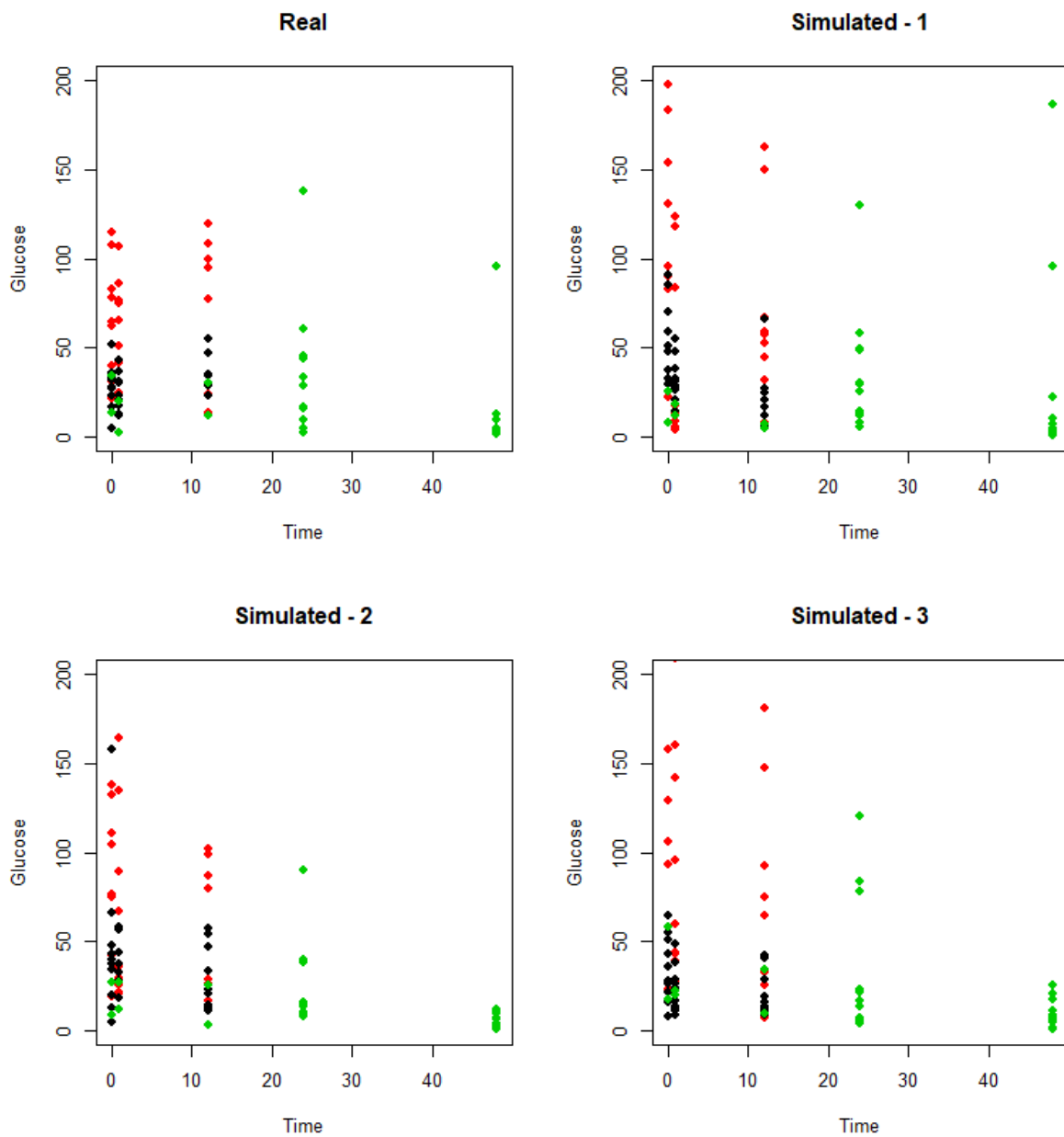
$$\bullet \text{If } i \in L_{jkt} \quad \rightarrow \quad Sug_{ijkt} = SugP_{ijkt}$$

$$\bullet \text{If } i \notin L_{jkt} \quad \rightarrow \quad Sug_{ijkt} = 0$$

## Paper 2 - Appendix S3 – Model validation

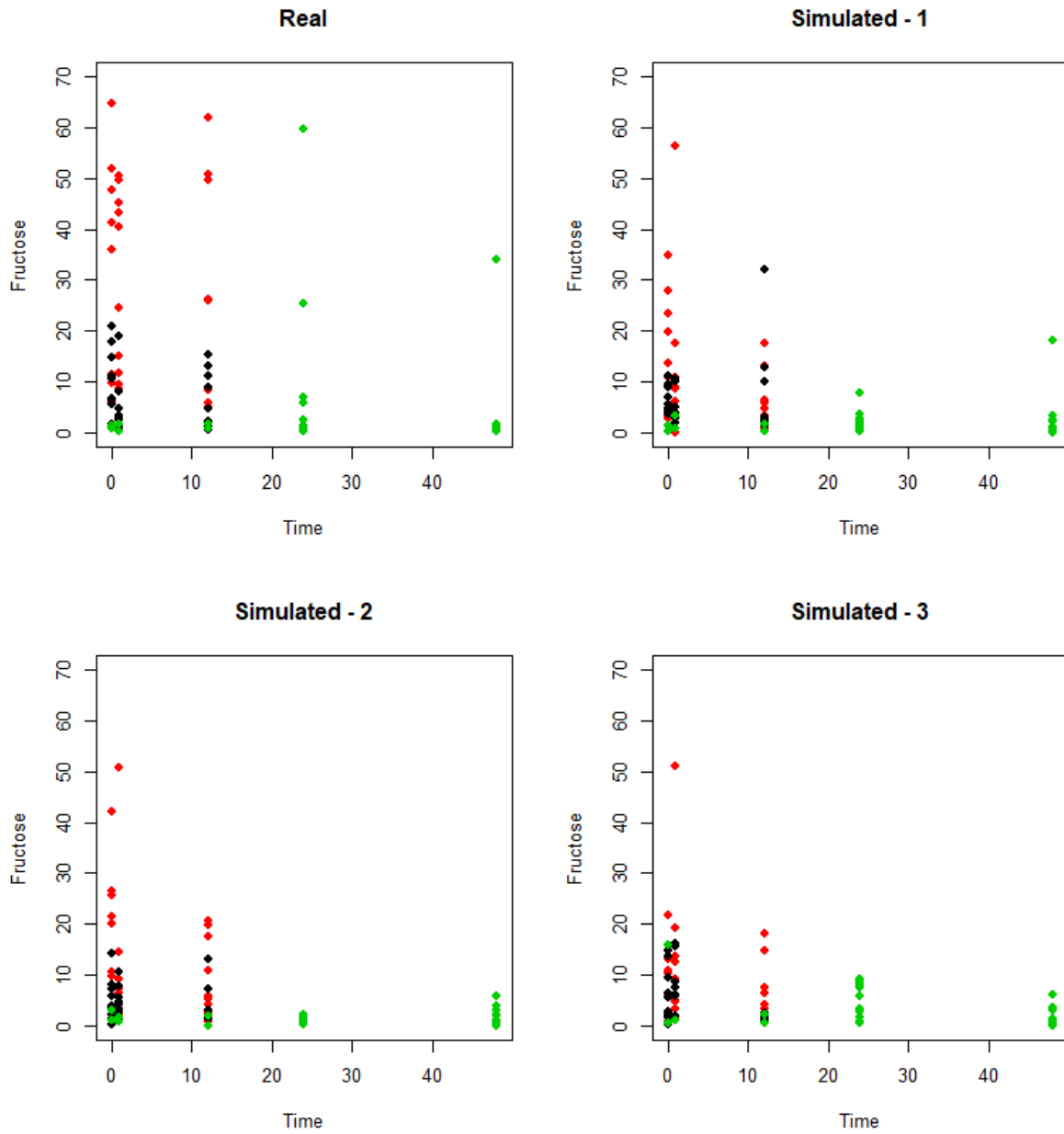
These graphs show some graphical validations of the model. Examples of simulated datasets were plotted and compared visually to the real data. The following graphs show the values of these variables according to time, in the real dataset ('Real') and three examples of simulated datasets. Colours correspond to the feeding treatments : Red = nectar, Black = honeydew, Green = Unfed. Other checks have been made, including comparisons of error rates made by a classifier on the real data and on simulated datasets (as well as error distribution), and comparisons of variable relative importance for classification.

### Glucose



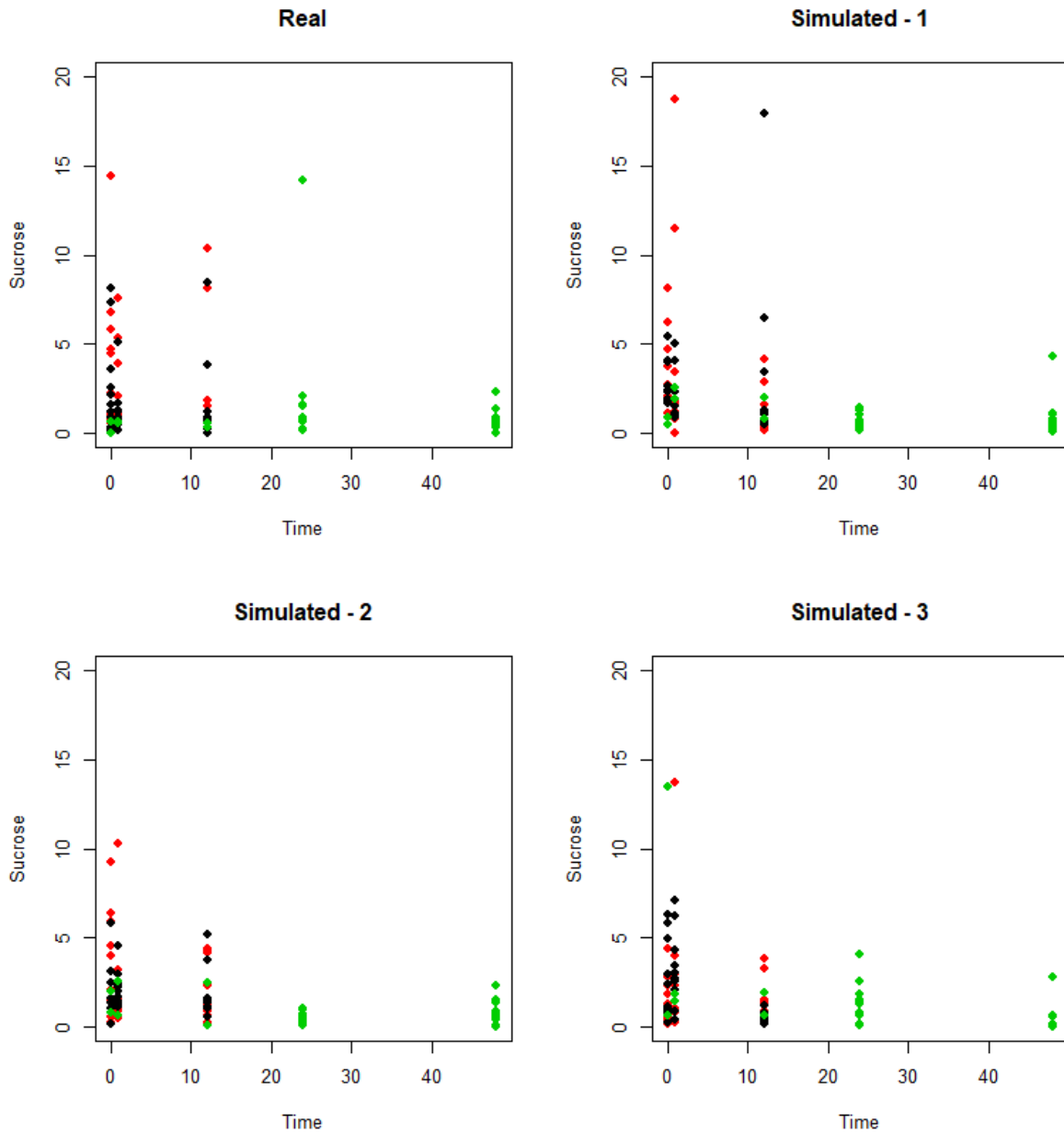
## Paper 2 - Appendix S3 – Model validation

## Fructose



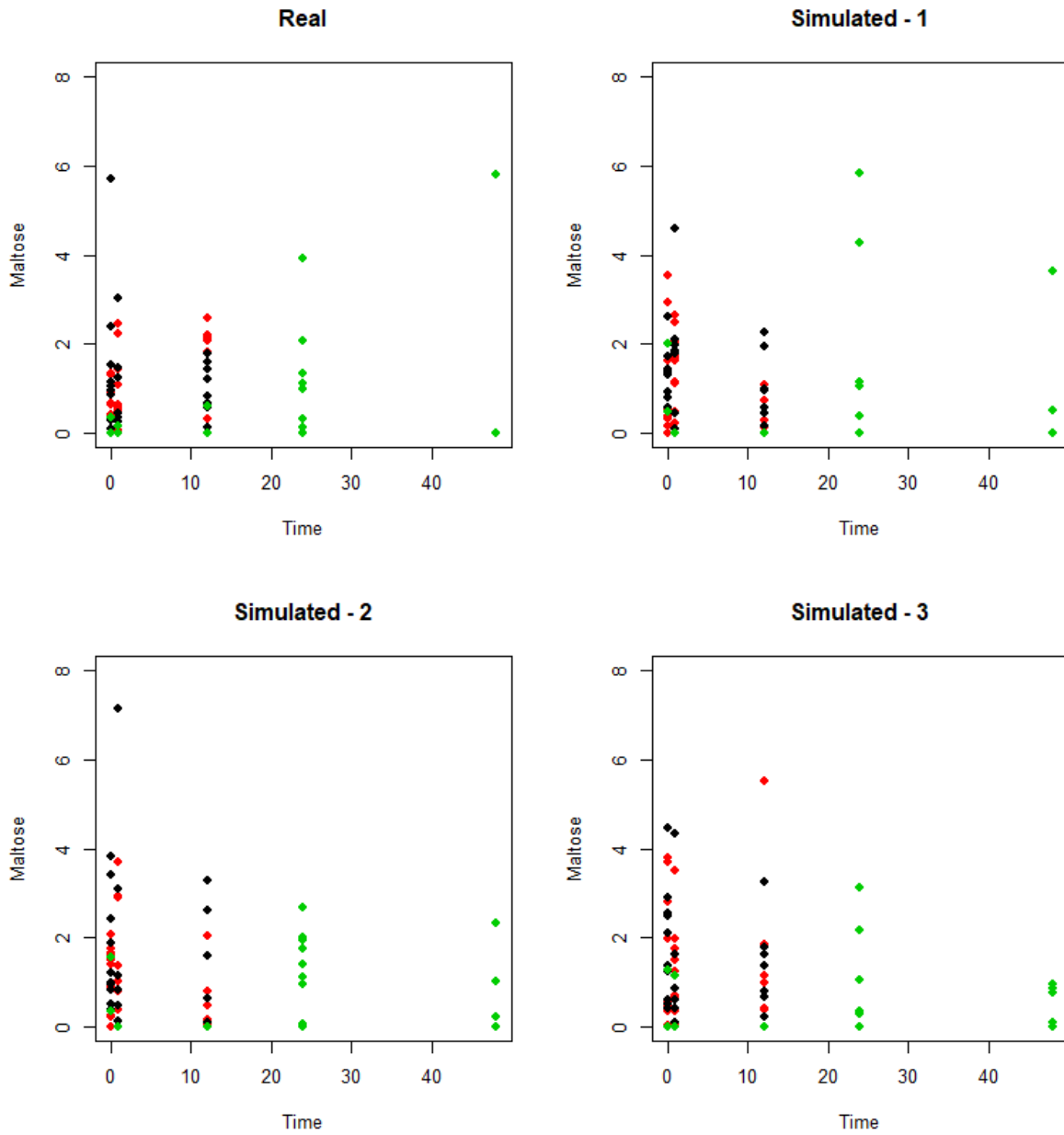
## Paper 2 - Appendix S3 – Model validation

## Sucrose



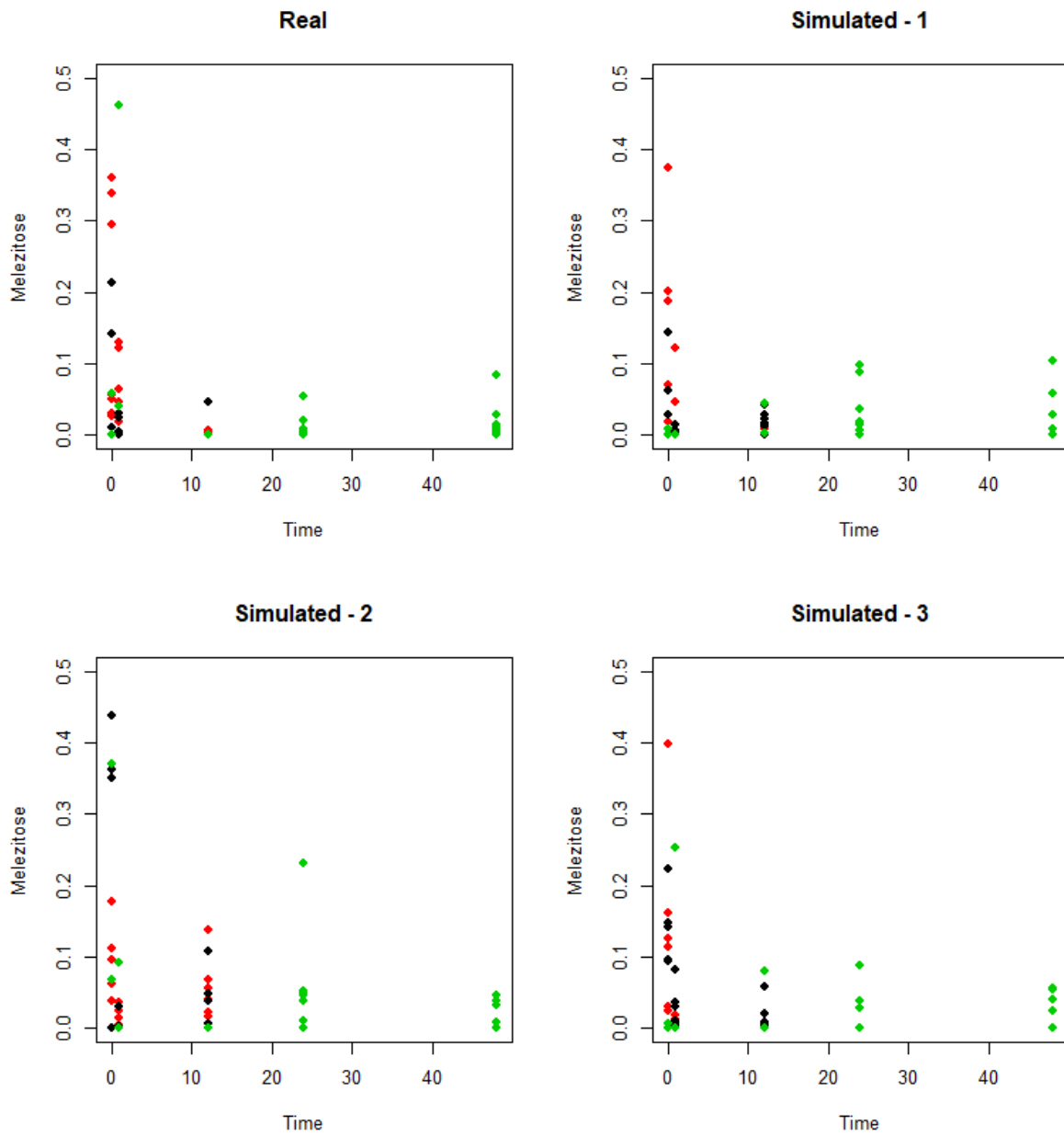
## Paper 2 - Appendix S3 – Model validation

## Maltose



## Paper 2 - Appendix S3 – Model validation

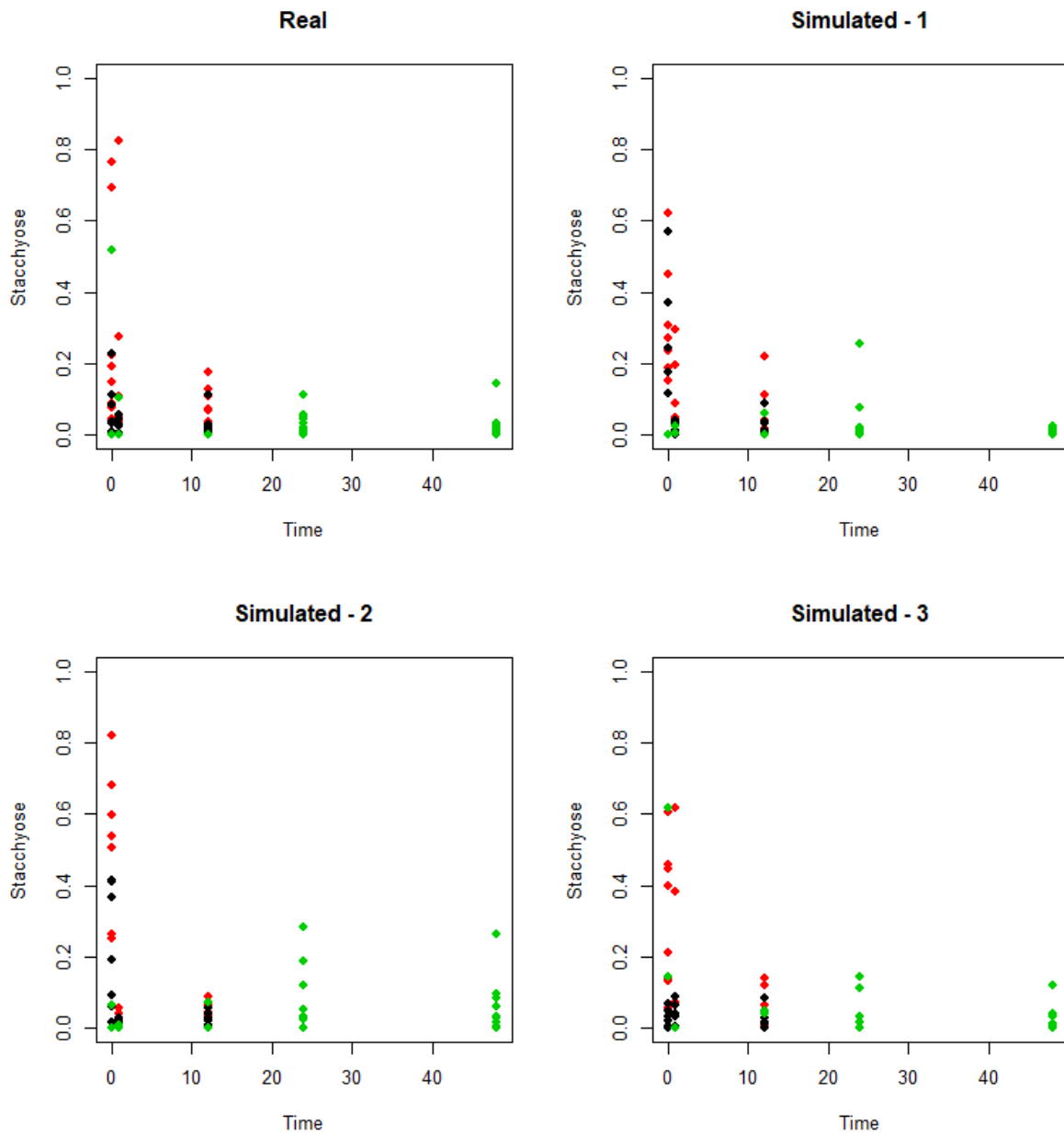
## Melezitose





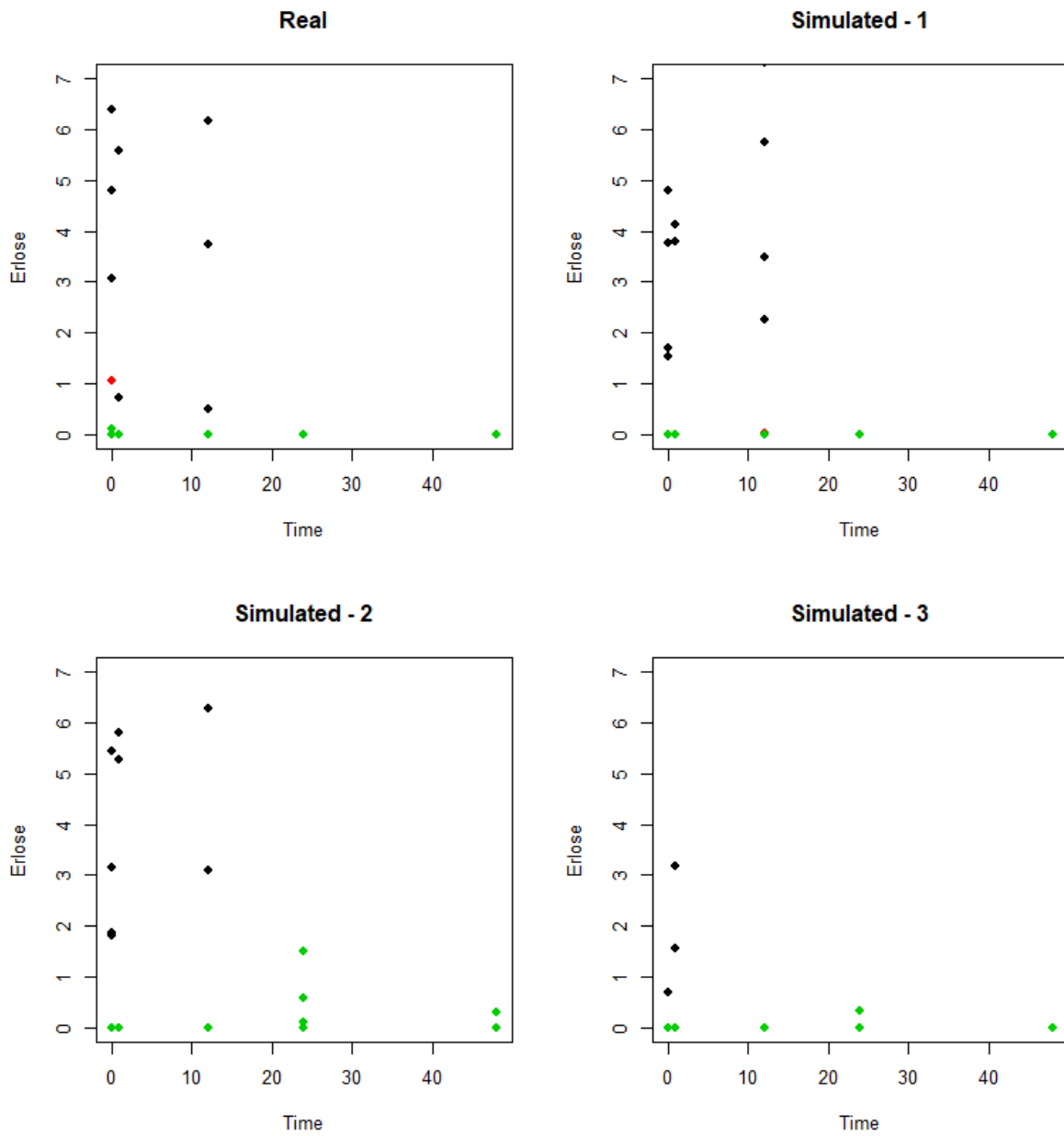
## Paper 2 - Appendix S3 – Model validation

## Stacchiose



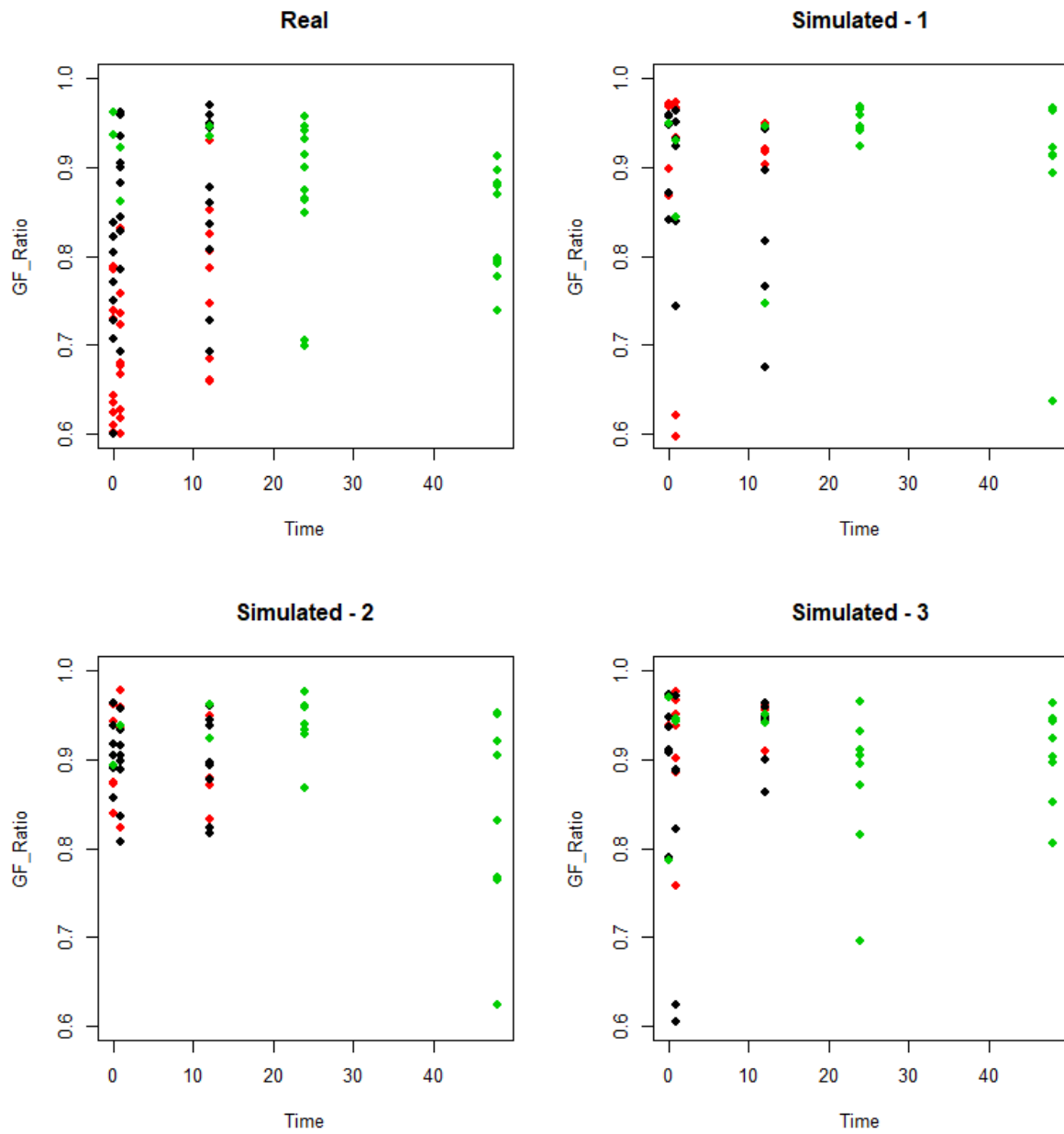
## Paper 2 - Appendix S3 – Model validation

## Erlöse



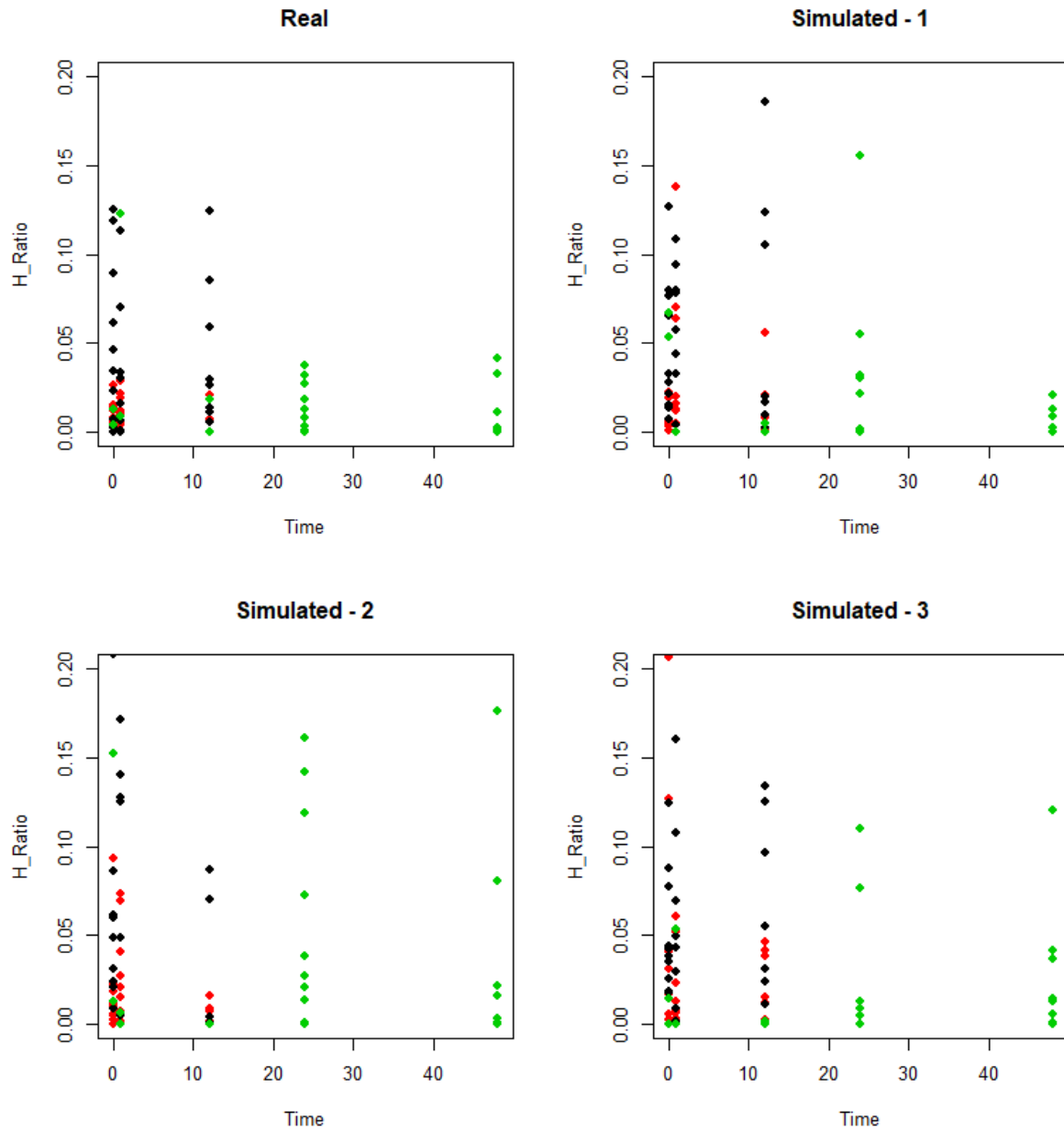
## Paper 2 - Appendix S3 – Model validation

GF Ratio – Glucose / (Glucose + Fructose)



## Paper 2 - Appendix S3 – Model validation

Honeydew Ratio – (Maltose + Erllose + Melezitose) / Total Sugar Amount



## Paper 2 - Appendix S4 – Model parametrization and variables used for the model

## S4.1 Model parametrization

Table S4.1 List of parameters used to generate the different insect 'variance treatments'.

Unf = Unfed insects, Nec = Nectar-fed insects, Hon = Honeydew-fed insects

"Variance": "Inter" = Inter-class (between-class) variance, "Intra" = Intra-class (within-class) variance.

"DT" = Detection Time. (Time after which an individual will be considered as unfed, a posteriori)

"Stock" = (Glucose + Fructose + Sucrose) sum. "Alpha" = intercept, "Beta" = slope, "RSE" = residual standard error.

"GF Ratio" = (Glucose / Fructose) ratio. Mean = Mean values for each time treatment (if not specified, the same value is used for all time treatments). SD = standard deviation.

"minGF" = minimum GF Ratio allowed.

| Variance |       | DT  | "Stock" |     |     |        |       |        |      |     |     |
|----------|-------|-----|---------|-----|-----|--------|-------|--------|------|-----|-----|
| Inter    | Intra |     | Alpha   |     |     | Beta   |       |        | RSE  |     |     |
|          |       |     | Unf     | Nec | Hon | Unf    | Nec   | Hon    | Unf  | Nec | Hon |
| High     | Low   | 1h  | 3       | 5   | 4,2 | -0,037 | -0,12 | -0,08  | 0,1  |     |     |
|          | Mid   |     |         |     |     |        |       |        | 0,3  |     |     |
|          | High  |     |         |     |     |        |       |        | 0,6  |     |     |
| Mid      | Low   | 12h | 2,8     | 4,8 | 3,7 | -0,037 | -0,04 | -0,044 | 0,15 |     |     |
|          | Mid   |     |         |     |     |        |       |        | 0,4  |     |     |
|          | High  |     |         |     |     |        |       |        | 0,7  | 1   | 0,8 |
| Low      | Low   | 12h | 3       | 4,5 | 3,7 | -0,037 | -0,04 | -0,044 | 0,3  |     |     |
|          | Mid   |     |         |     |     |        |       |        | 0,7  | 1   | 0,7 |
|          | High  |     |         |     |     |        |       |        | 1    | 1,5 | 1   |

| Variance |       | GF Ratio   |   |   |     |                     |      | minGF |
|----------|-------|--|---|---|-----|---------------------|------|-------|
| Inter    | Intra | Values   |   |   | SD  |                     |      |       |
|          |       | Unf  | Nec   | Hon   | Unf | Nec                 | Hon  |       |
| High     | Low   | 0h: 14;<br>1h:13;<br>12h: 12;<br>24h: 12;<br>48h: 12           |   |   | 1,5 | 0,1                 | 0,25 | 1,5   |
|          | Mid   | 0h: 14;<br>1h:12;<br>12h: 8;<br>24h: 8;<br>48h: 6              | 0h: 1,1;<br>1h:1,5;<br>12h: 6;<br>24h: 6;<br>48h: 6       | 0h: 2,7;<br>1h:2,9;<br>12h: 6;<br>24h: 6;<br>48h: 8     | 5   | 0,25                | 1    | 1,25  |
|          | High  | 0h: 14;<br>1h:11;<br>12h: 8;<br>24h: 6;<br>48h: 5              |   |   | 10  | 0,5 ;<br>1 (T > 1)  | 1,5  | 1     |
| Mid      | Low   |  | 0h: 1,7;<br>1h:2,1;<br>12h: 2,5;<br>24h: 4,5;<br>48h: 5   | 0h: 3;<br>1h:3;<br>12h: 3;<br>24h: 5;<br>48h: 6         | 1,5 | 0,05                | 0,5  | 1,5   |
|          | Mid   | 0h: 12;<br>1h:11;<br>12h: 8;<br>24h: 7;<br>48h: 6              |   |   | 5   | 0,25                | 1    | 1,25  |
|          | High  |  | 24h: 3,5;<br>48h: 4,5                                     | 24h: 4;<br>48h: 5                                       | 10  | 0,5 ;<br>1 (T > 12) | 1,5  | 1     |
| Low      | Low   |  |   |   | 1,5 | 0,05                | 0,5  | 1,5   |
|          | Mid   | 0h: 3,9;<br>1h:12,2;<br>12h: 8,5;<br>24h:<br>12,3;<br>48h: 6,9 | 0h: 1,7;<br>1h:1,9;<br>12h: 2,2;<br>24h: 2,5;<br>48h: 2,8 | 0h: 2;<br>1h:3,1;<br>12h: 3,6;<br>24h: 5,3;<br>48h: 5,9 | 5   | 0,3                 | 1    | 1,25  |
|          | High  |  |   |   | 10  | 0,5                 | 1,5  | 1     |

## Paper 2 - Appendix S4 – Model parametrization and variables used for the model

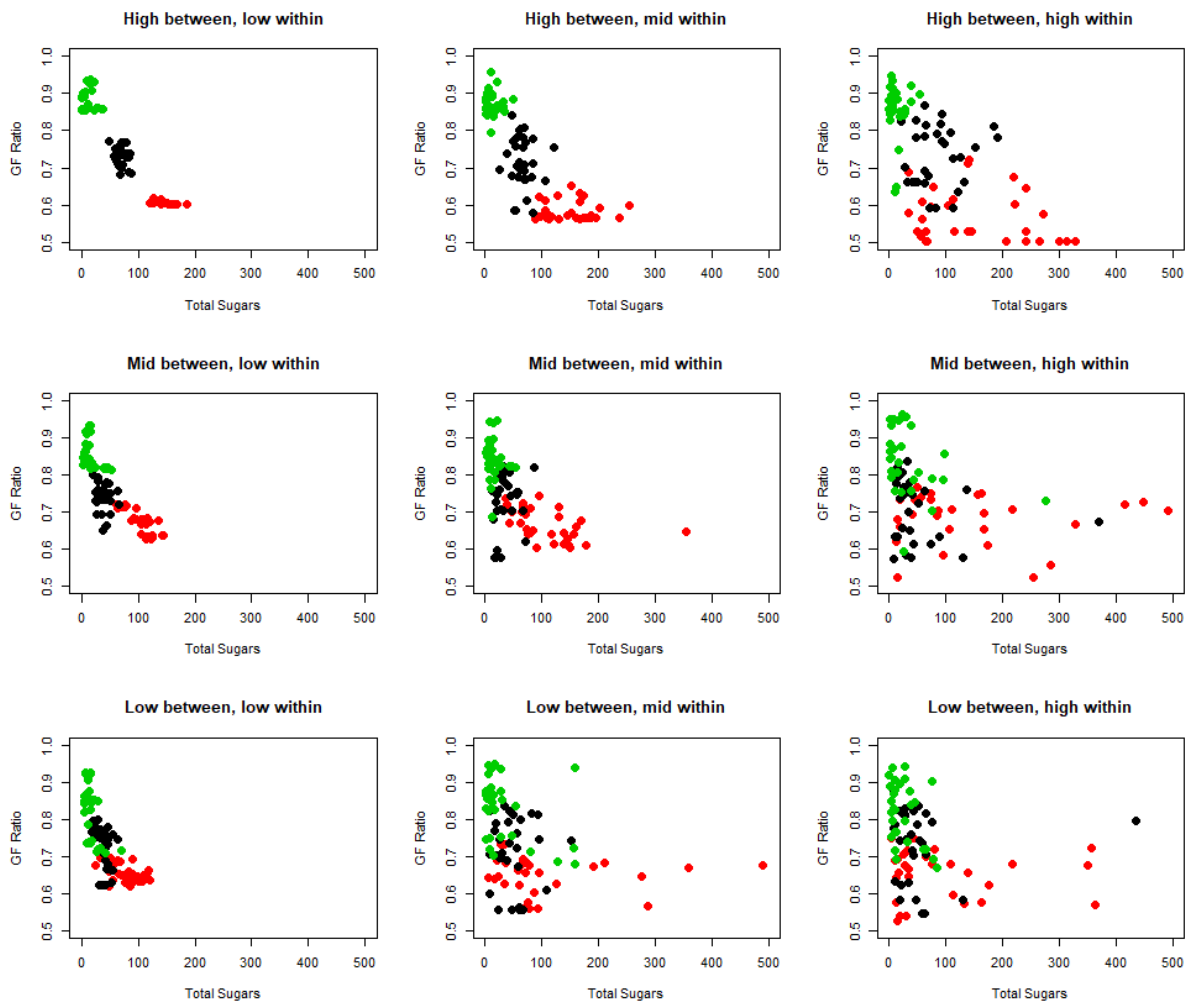


Figure S4.1 Visual representations of the datasets corresponding to each insect variance treatment (one example of simulated dataset). Y-axis : GF Ratio, here computed as  $\text{Glucose} / (\text{Glucose} + \text{Fructose})$ , X-axis : Total Sugar Amount (sum of all sugars).

## Paper 2 - Appendix S4 – Model parametrization and variables used for the model

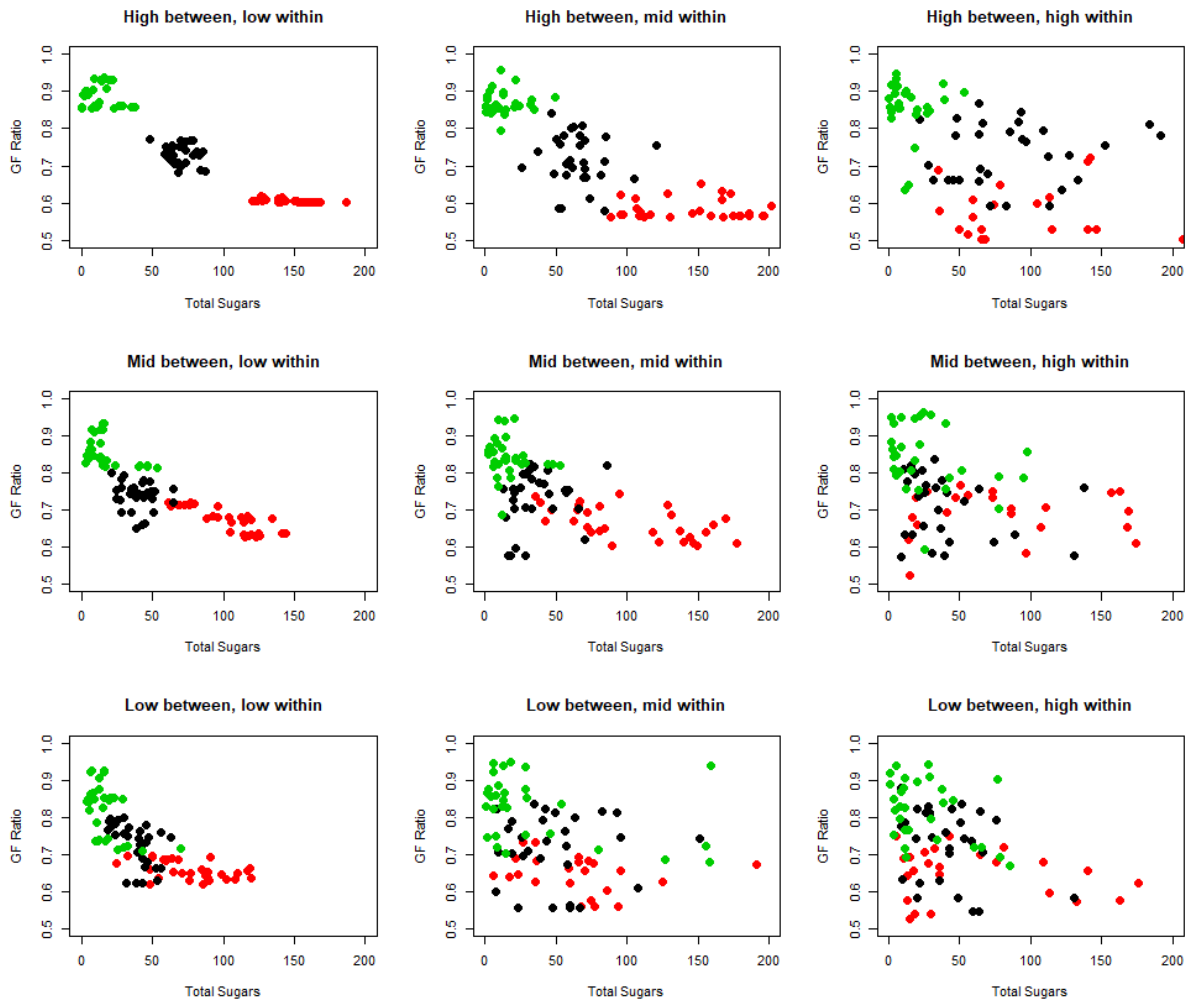


Figure S4.2 Same graph than figure S4.1, but looking at the 0 to 200 scale on the y-axis, so we can see better the overlapping zones between the different classes.



## Paper 2 - Appendix S4 – Model parametrization and variables used for the model

### S4.2 Variables included in simulated datasets

Parameters that were estimated from the *A. erivi*'s dataset for erlose and melezitose (and that were not altered) could not allow a proper estimation of the erlose/melezitose ratio because of a lot of "0" values for melezitose. Instead, we calculated a "Honeydew Ratio", corresponding to the ratio between the three main sugars taken from honeydew, maltose, erlose and melezitose (Steppuhn & Wäckers 2004, Wäckers 2006, Hogervorst et al. 2007) and the total sugar amount. This variable showed significant contribution for classification in the simulation analyses (see also Appendix S3 for variable relative importance scores).

Table S4.2 Variables included in the simulated datasets.

$GF\ Ratio = Glucose / (Glucose + Fructose)$

$Total\ Sugar\ amount = Glucose + Fructose + Sucrose + Maltose + Melezitose + Erlose + Stacchiose$

$Honeydew\ Ratio = (Maltose + Erlose + Melezitose) / Total\ Sugar\ Amount$

$RS\ Ratio = Residual\ Sugar\ Ratio = (Total\ Sugar\ Amount - Fructose) / Total\ Sugar\ Amount$

| Dataset type (biochemical analysis) | Variables included |
|-------------------------------------|--------------------|
| HPLC                                | Glucose amount     |
|                                     | Fructose amount    |
|                                     | Sucrose amount     |
|                                     | Maltose amount     |
|                                     | Melezitose amount  |
|                                     | Erlose amount      |
|                                     | Stacchiose         |
|                                     | GF Ratio           |
|                                     | Honeydew Ratio     |
| Anthrone tests                      | Fructose amount    |
|                                     | RS Ratio amount    |
|                                     | Total Sugar amount |

## Paper 2 - Appendix S5 to S11

Those appendices, that for most of them in verly long series of numbers in tables and/or large numbers of figures (or R scripts) will be stored online with the paper.

## Appendices for paper 3

### Paper 3 - Appendix S1 – Information about the field network

Table S1.1 GPS coordinates and surface (ha) of the surveyed fields.

| Crop ID | Crop Type   | Farmer ID | Municipality   | Latitude  | Longitude | Surface |
|---------|-------------|-----------|----------------|-----------|-----------|---------|
| S1      | Single crop | A         | Beaucouzé      | 47.454512 | -0.622562 | 8       |
| S2      | Single crop | A         | Beaucouzé      | 47.453875 | -0.619794 | 4       |
| S3      | Single crop | A         | Bouchemaine    | 47.447716 | -0.614654 | 0.5     |
| S4      | Single crop | A         | Bouchemaine    | 47.44706  | -0.612551 | 1       |
| S5      | Single crop | A         | Bouchemaine    | 47.441029 | -0.605287 | 2.7     |
| S6      | Single crop | A         | Savennières    | 47.430616 | -0.665451 | 7.35    |
| I1      | Intercrop   | B         | Bouchemaine    | 47.437169 | -0.654821 | 6.2     |
| I2      | Intercrop   | C         | Savennières    | 47.417542 | -0.681085 | 5.6     |
| I3      | Intercrop   | C         | Savennières    | 47.41185  | -0.675935 | 9.3     |
| I4      | Intercrop   | C         | Savennières    | 47.407436 | -0.674819 | 6.2     |
| I5      | Intercrop   | C         | Savennières    | 47.422769 | -0.688466 | 5.5     |
| I6      | Intercrop   | C         | La Possonnière | 47.400988 | -0.693273 | 1.95    |

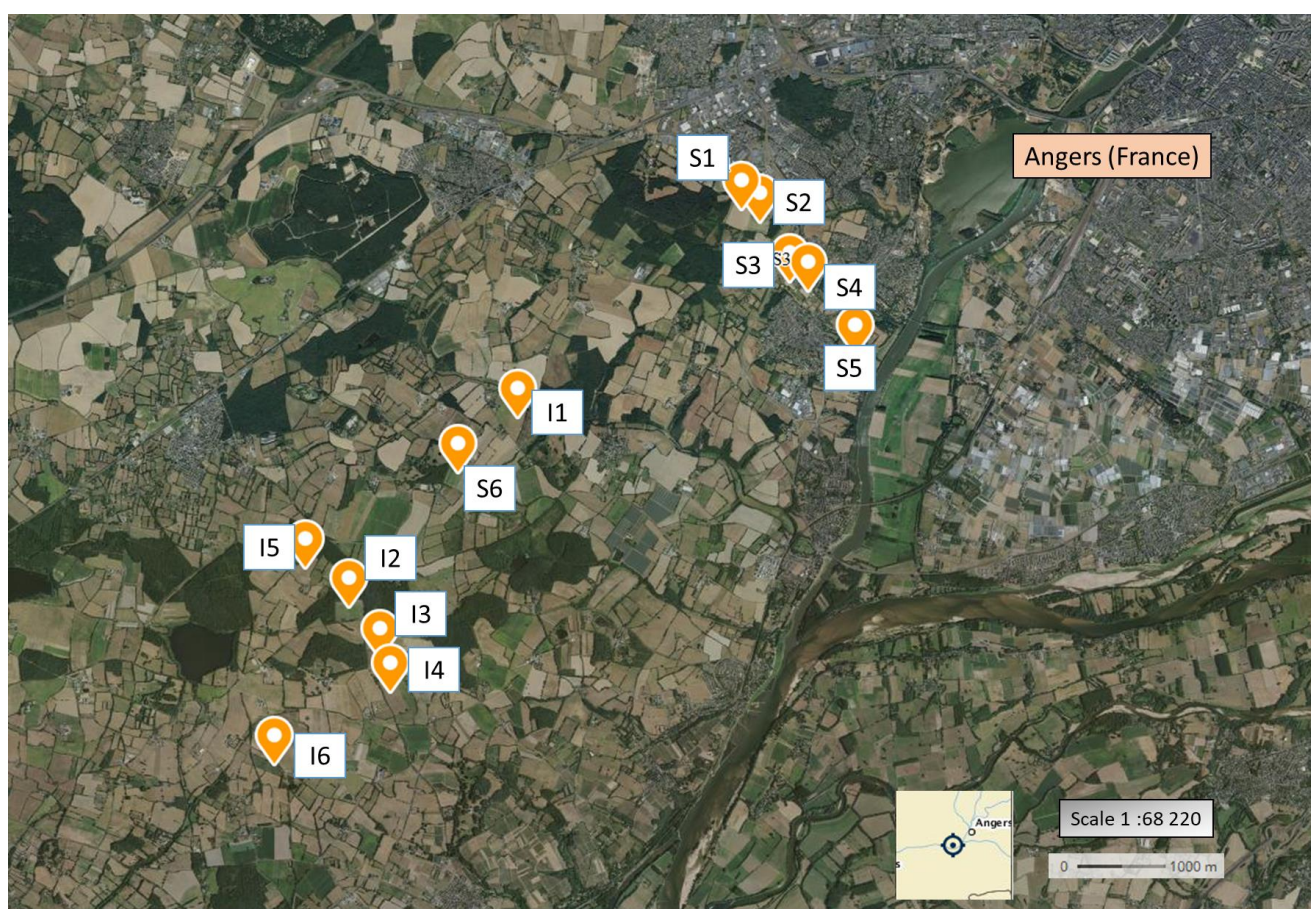
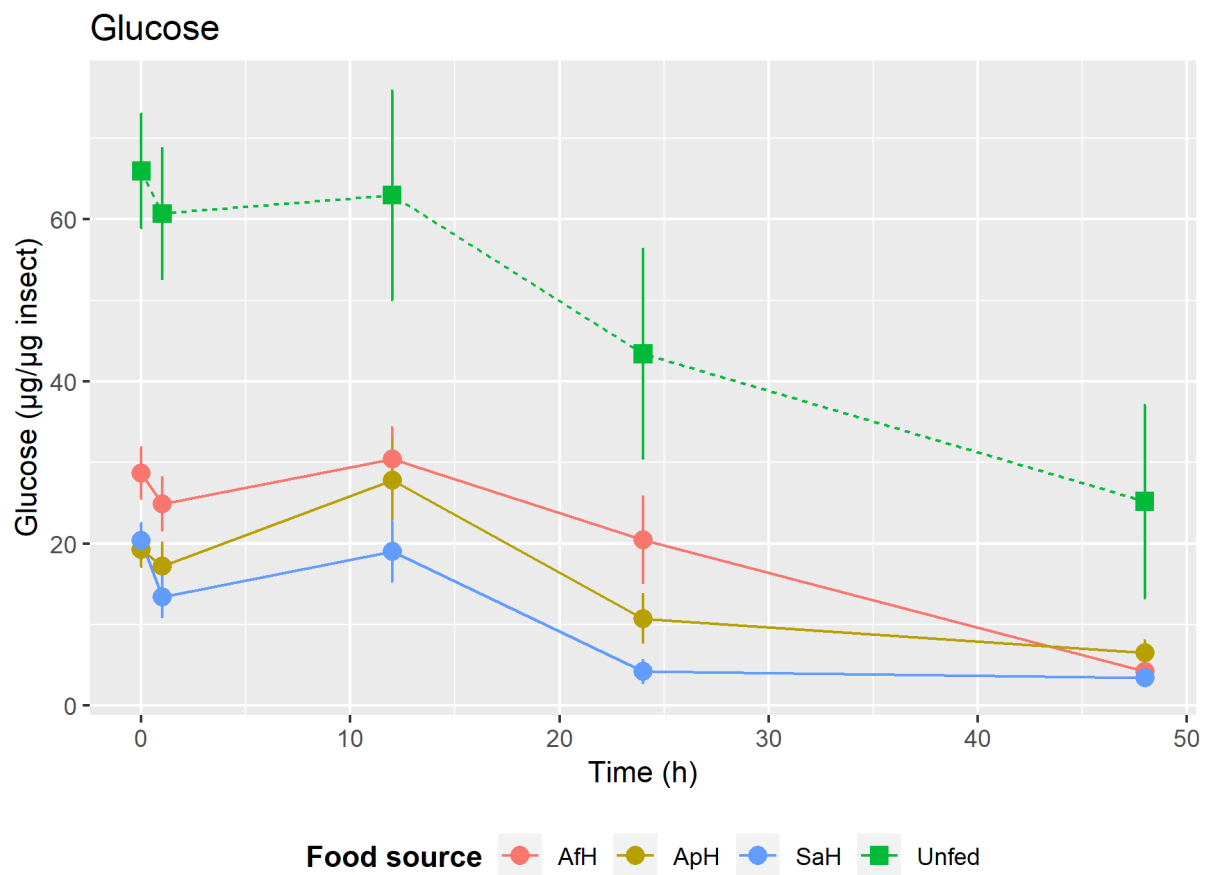
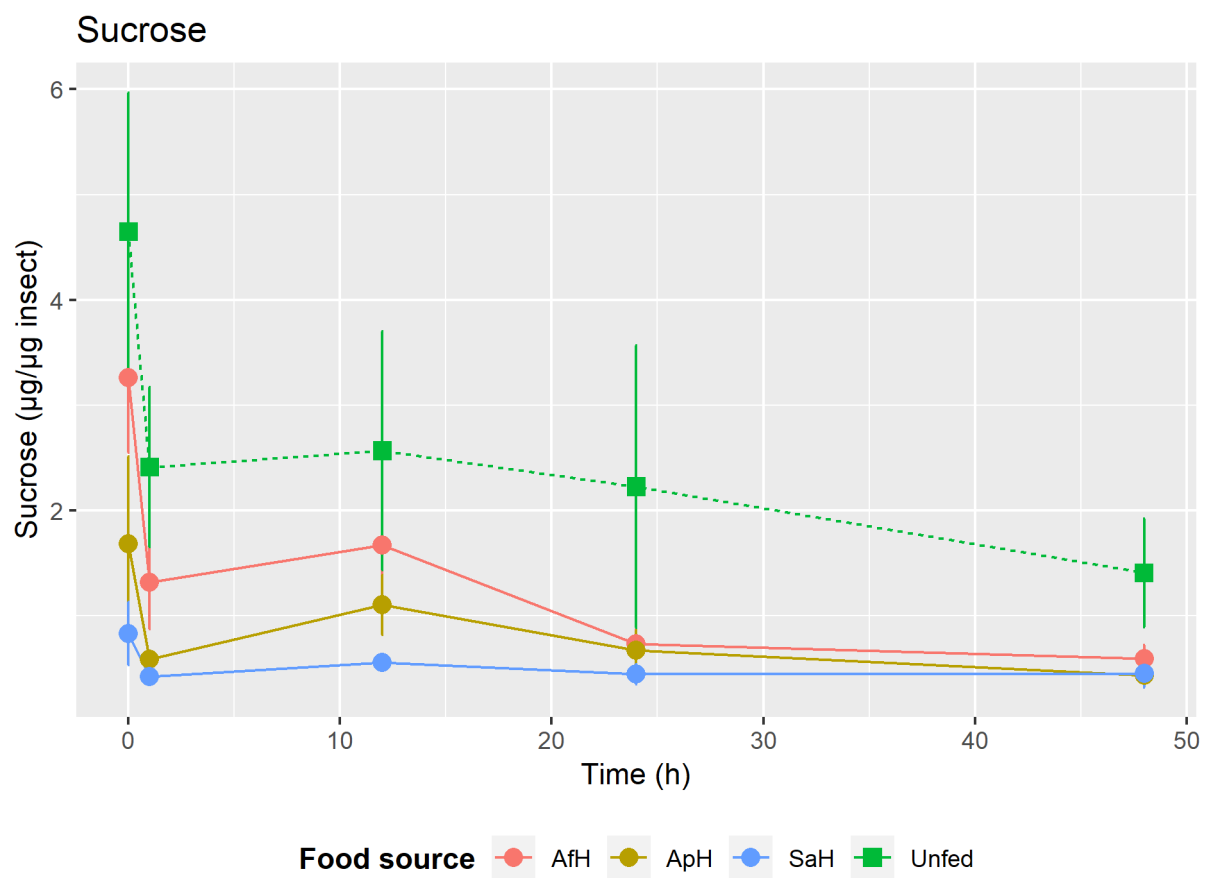
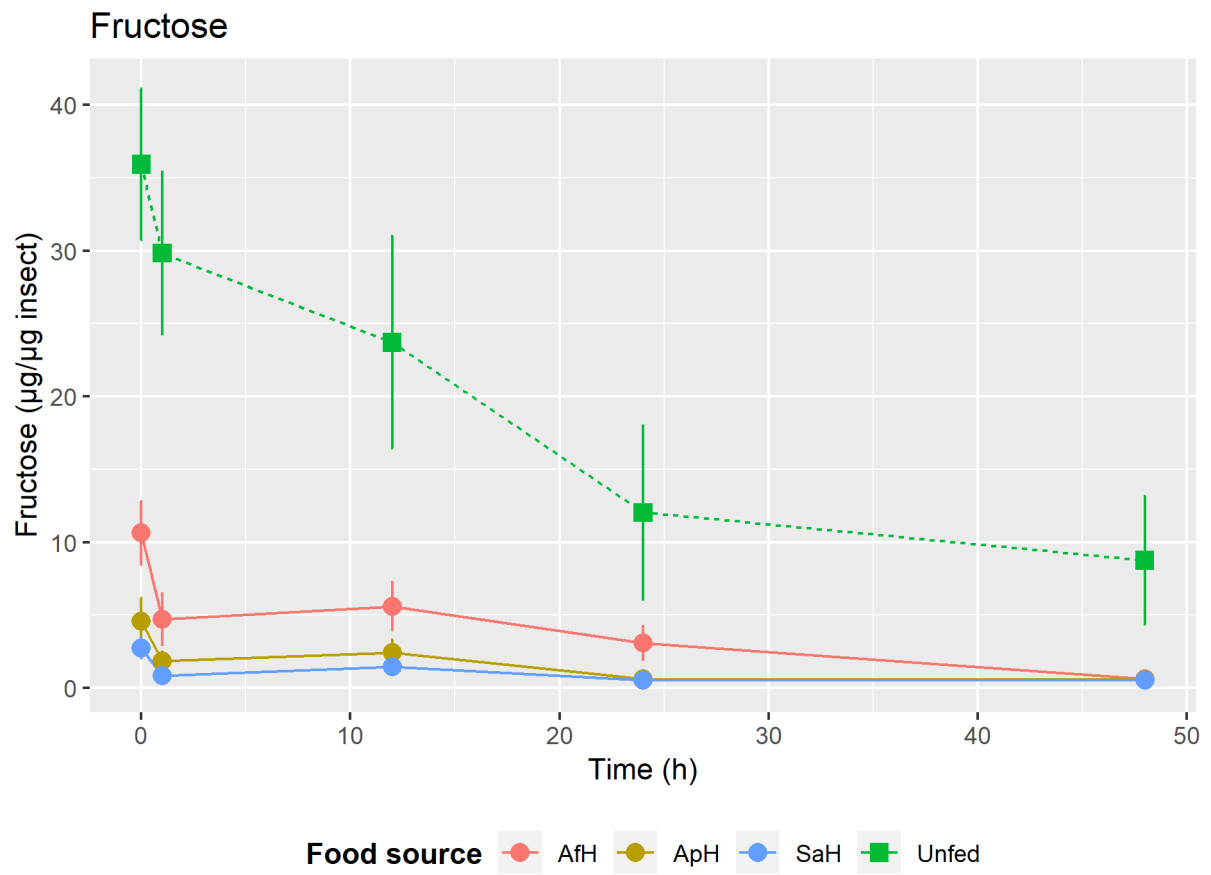


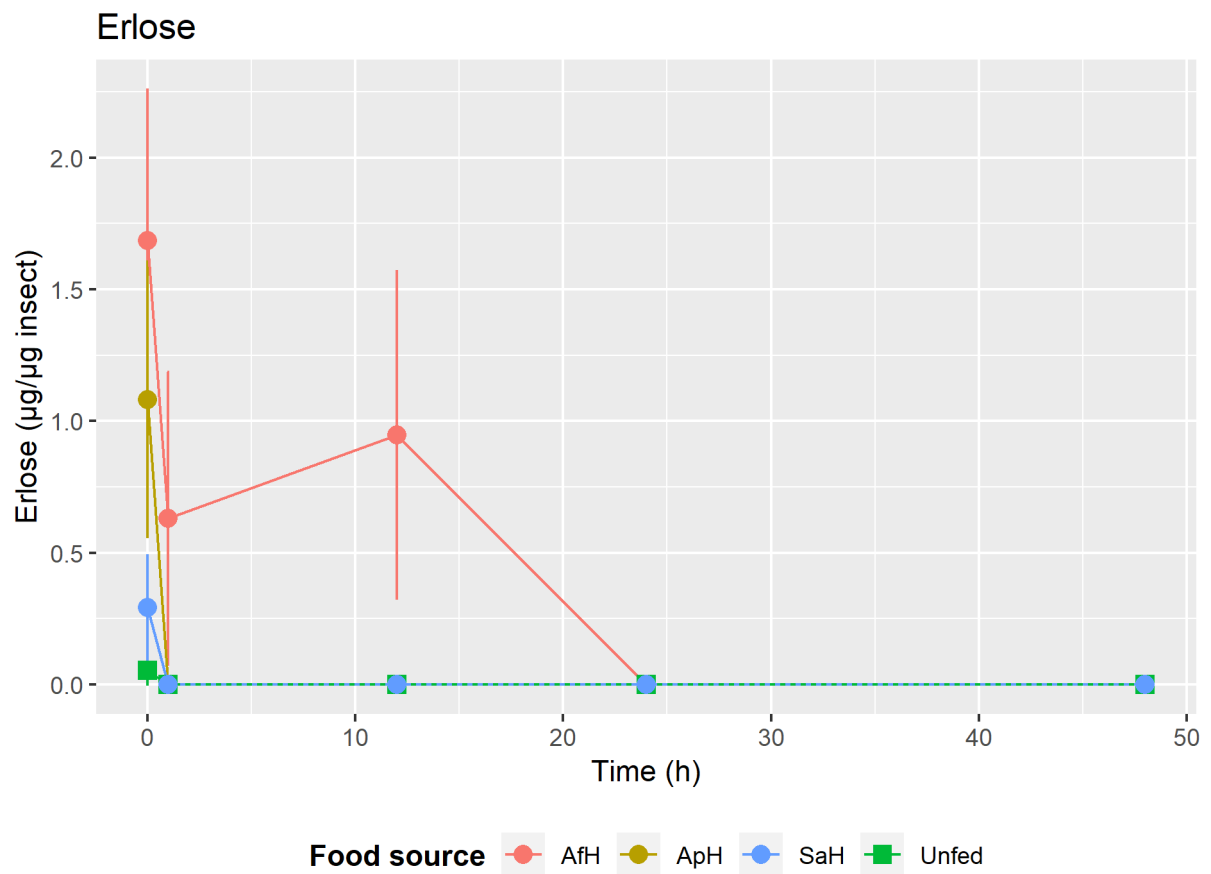
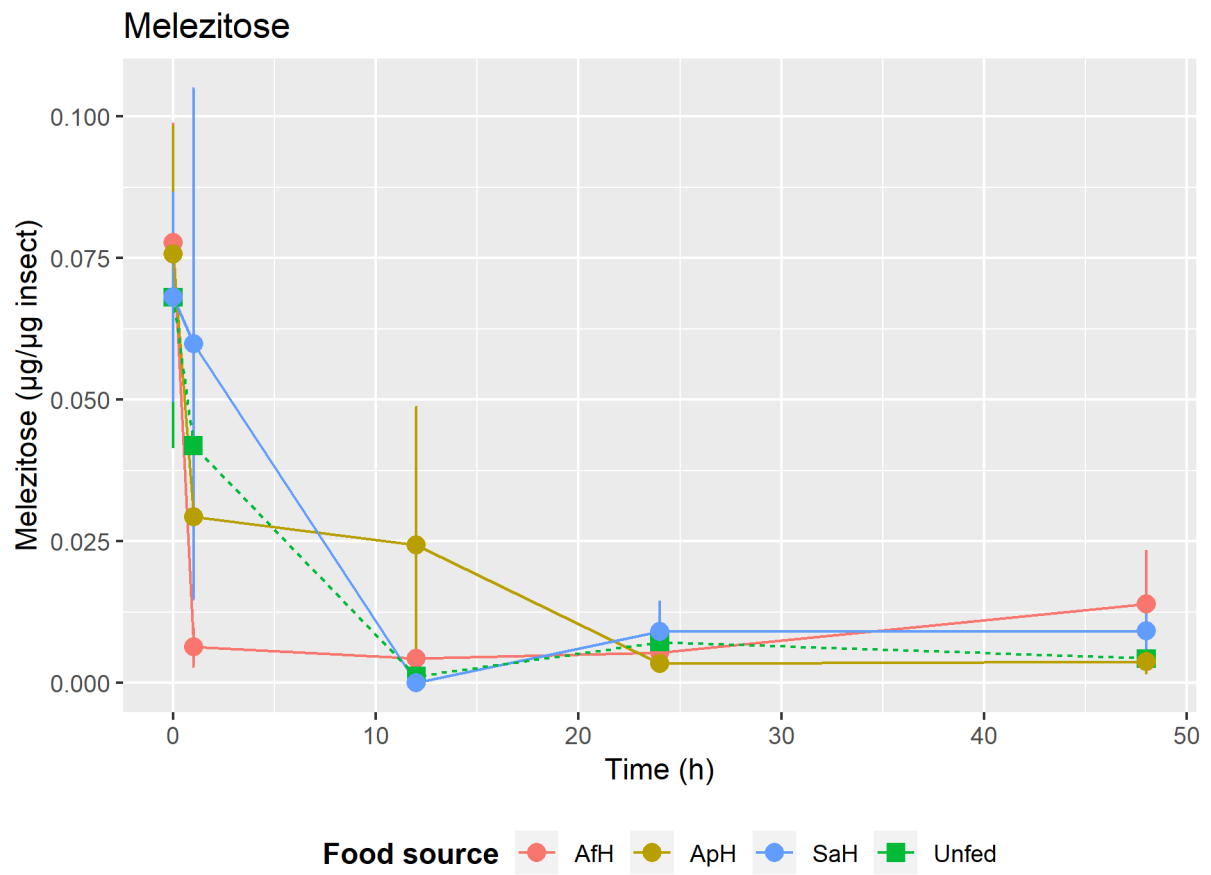
Figure S1.1 Location of the different fields. From Geoportail (<https://www.geoportail.gouv.fr>).

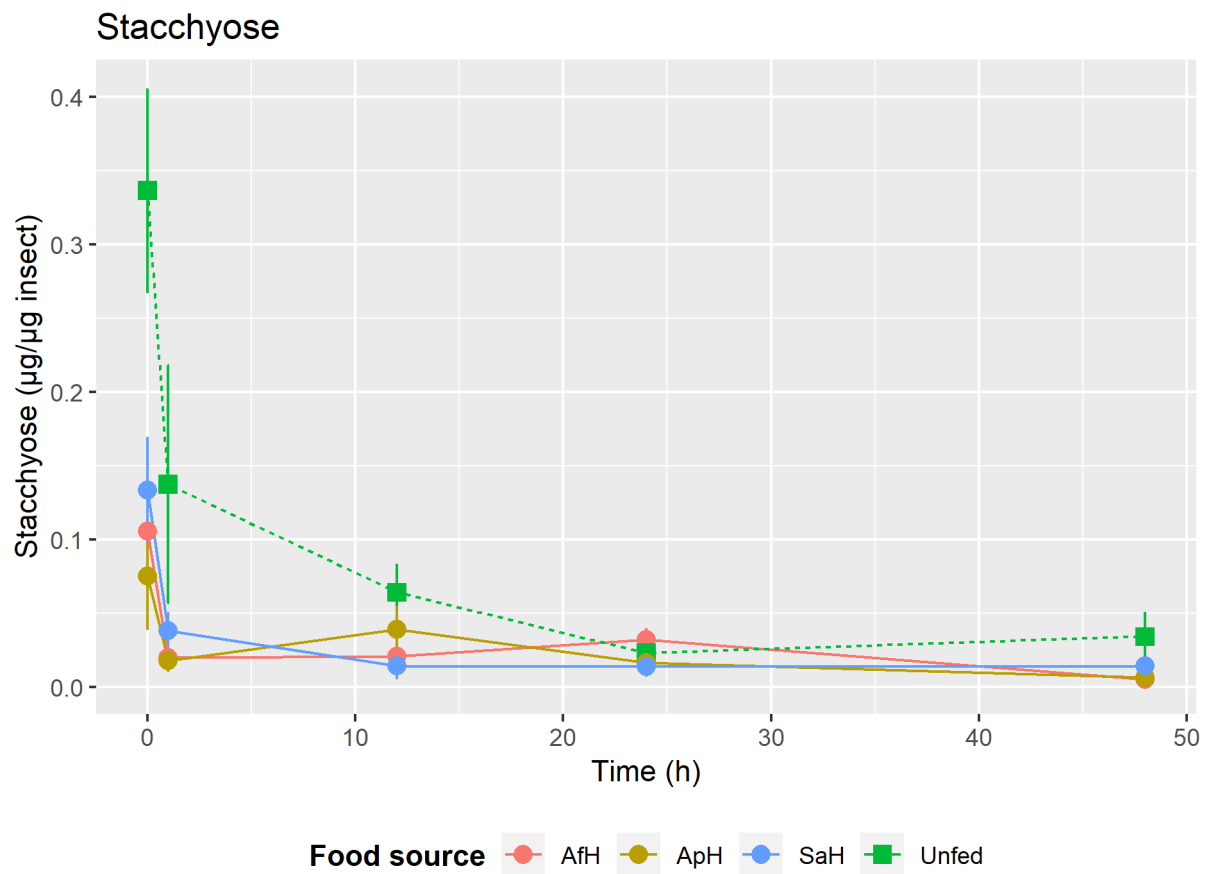
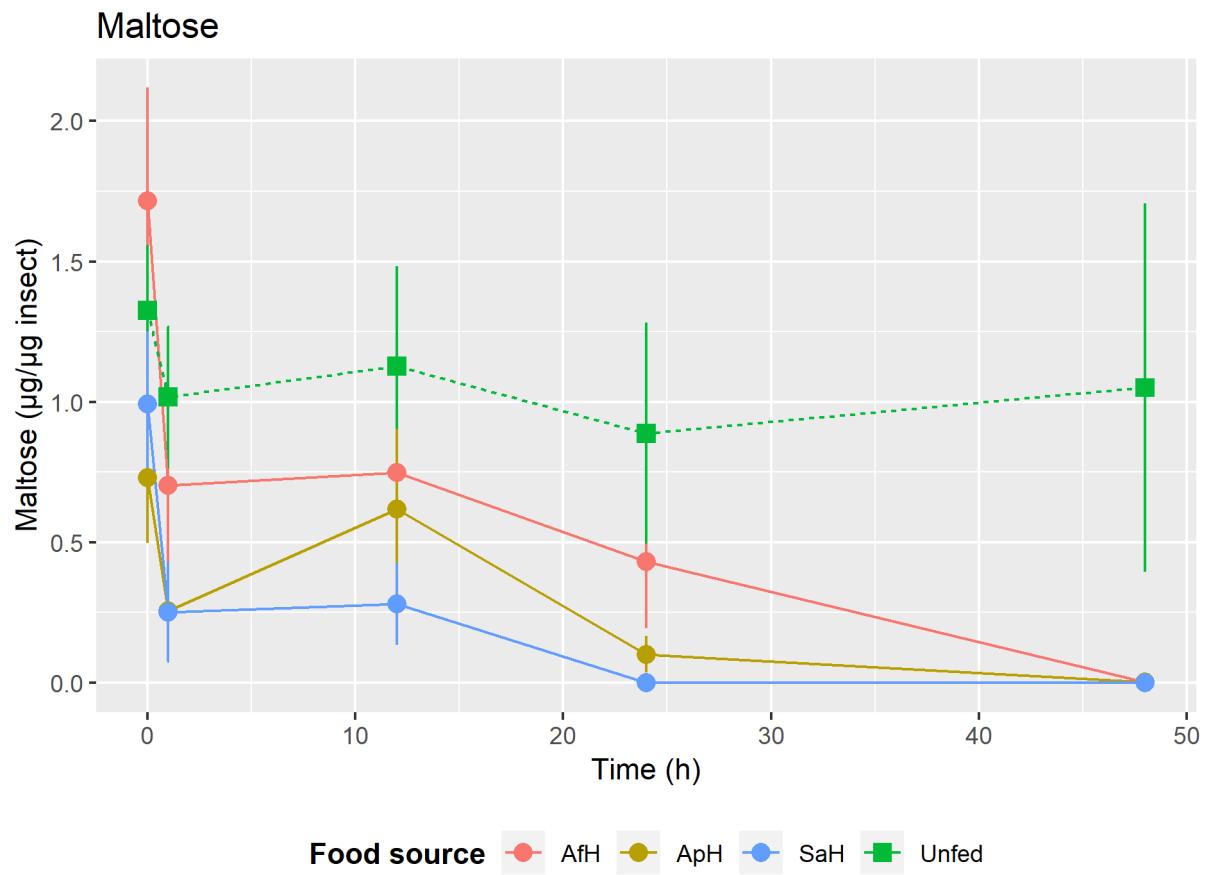
## Paper 3 - Appendix S2 – Sugar metabolic dynamics data

These figures describe the dynamics of the measured sugars in the different treatments. The treatments 'VsN' (fed on *Vicia sativa* nectar) and 'AfH' (fed on *Aphis fabae* nectar) are not included as we did not have the dynamics for these treatments (values for these treatments at 0h after feeding can be found in Table 1 in the main paper).



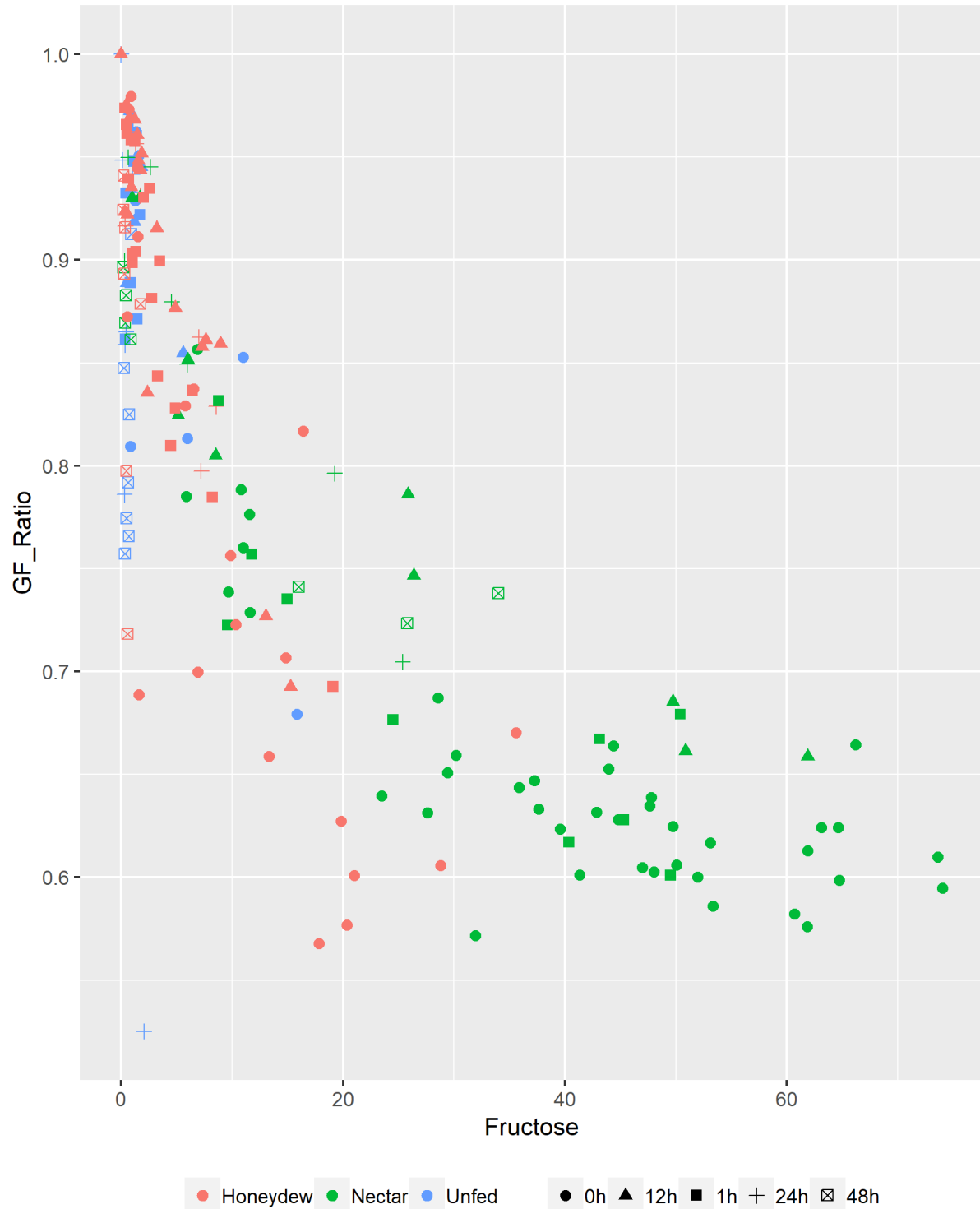




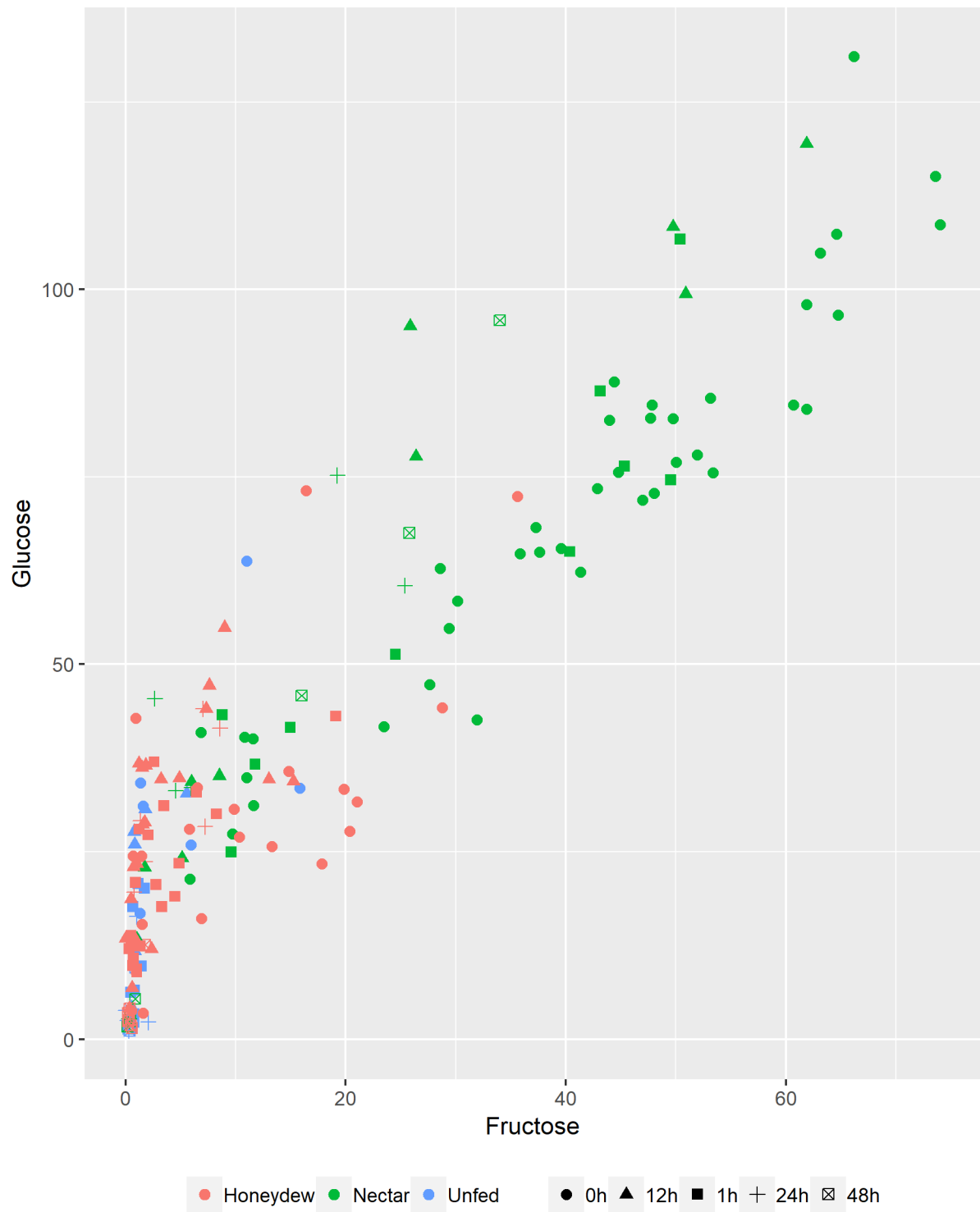


## Paper 3 - Appendix S3 – 2D visualization of sugar profiles

Some graphs showing two-dimensional representations of the lab data, plotted against the variables selected as most informative by the Random Forest classifier.



x-axis : Fructose ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$  insect), y-axis: Ratio Glucose/(Glucose+Fructose)



*x-axis : Fructose ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$  insect), y-axis: Glucose ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$  insect)*





*x-axis : Fructose ( $\mu\text{g}/\mu\text{g}$  insect), y-axis: (Maltose+Melezitose+Erllose/Total Sugar amount)*

## Liste des contributions scientifiques

### Articles scientifiques revus par les pairs

- Luquet, M., Tritto, O., Cortesero, A.-M., Jaloux, B., & Anton, S. (2019). Early Olfactory Environment Influences Antennal Sensitivity and Choice of the Host-Plant Complex in a Parasitoid Wasp. *Insects*, 10(5), 127.
- Luquet, M., Hullé, M., Simon, J.-C., Parisey, N., Buchard, C., & Jaloux, B. (2019). Relative importance of long-term changes in climate and land-use on the phenology and abundance of legume crop specialist and generalist aphids. *Insect Science*, 26(5), 881–896.

### Articles scientifiques en préparation

- Luquet, M., Parisey, N., Hervé, M., Desouhant, E., Cortesero, A.M., Peñalver-Cruz, A., Lavandero, B., Anton, S., & Jaloux, B. Inferring insect feeding patterns from sugar profiles: a comparison of statistical methods.
- Luquet, M., Peñalver-Cruz, A., Satour, P., Anton, S., Cortesero, A.M., Lavandero, B., & Jaloux, B. No evidence of increased parasitoid sugar feeding nor parasitism rates in legume-cereal intercrops.

### Communications orales

- Luquet, M., Hullé, M., Simon, J.-C., Parisey, N., Buchard, C., Ferrieu, E., Jaquiéry, J. & Jaloux, B. (2018). Relative importance of long-term changes in climate and land-use on the phenology and abundance of legume crop specialist and generalist aphids. *2018 ESA, ESC and ESBC Joint Annual Meeting*. November 13<sup>th</sup> 2018, Vancouver, Canada.
- Luquet, M., Peñalver-Cruz, A., Satour, P., Anton, S., Cortesero, A.M., Lavandero, B., & Jaloux, B. (2018) Effects of field diversification on food uptake and parasitism by *Aphidius* parasitoids. *International Conference on Ecological Sciences – Sféologie 2018*. October 23<sup>th</sup> 2018, Rennes, France.
- Luquet, M., Hullé, M., Simon, J.-C., Parisey, N., Buchard, C., & Jaloux, B. (2017) Influence de l'évolution du climat et des surfaces cultivées sur l'abondance et la phénologie des populations de pucerons des protéagineux. *10<sup>èmes</sup> rencontres du réseau BAPOA (Biologie Adaptative des Pucerons et Organismes Associés)*. November 23<sup>th</sup> 2017, Colmar, France.

## Posters

- Camilo Corrales, D., Robin, M.H., Jaloux, B., Le Lann, C., Luquet, M., Tricault, Y., Cancino, J., Deguine, J.-P. & Aubertot, J.-N. (2019). Towards the prediction of levels of infestation of *Acyrtosiphon pisum* in pea-wheat mixtures. European Conference on Crop Diversification. 18<sup>th</sup>-21<sup>st</sup> September 2019, Budapest, Hungary.
- Luquet, M., Tritto, O., Jaloux, B., Cortesero, A.-M & Anton, S. (2018). Influence of the native host-plant complex on odour perception and behavioural responses of the parasitoid *Aphidius ervi*. 19<sup>ème</sup> rencontre du Club de Neurobiologie des Invertébrés. 24<sup>th</sup>-25<sup>th</sup> May 2018, Versailles, France.
- Albert, L., Chenu, E., Luquet, M., Moschard, M., Blanco, A. & Jaloux, B. Study of the ground beetle (Coleoptera: Carabidae) community and their predation potential of *Sitona lineatus* (Coleoptera: Curculionidae) in faba bean fields and cereal-faba bean intercrops. 18<sup>th</sup> European carabidologist meeting. 25<sup>th</sup>-29<sup>th</sup> September 2017, Rennes, France.
- Luquet, M., Cortesero, A.-M & Anton, S., Jaloux, B. (2017). Resource exploitation and movements of an aphid parasitoid in legume-cereal intercrops. Entomophagistes 2017. 17<sup>th</sup>-19<sup>th</sup> May 2017, Villeurbanne, France.

## Encadrement de stages

- Moulin, Clarice (2019). Influence de la complexité de l'environnement sur la sélection d'hôte par *Aphidius ervi*. Rapport de stage M1. Master DIPHE, Université des Sciences de Montpellier, Montpellier, France.
- Tritto, Olympe (2018). Choix de ressources chez un parasitoïde généraliste : fidélité à l'hôte et signaux olfactifs impliqués. Rapport de stage M2. Master DIPHE, Université des Sciences de Montpellier, Montpellier, France.
- Blanco, Alexandre (2017). Rôle des associations céréale-protéagineux sur le contrôle biologique du puceron. Rapport de stage M1. Coursus ingénieur, UniLasalle, Rouen, France.

**Titre :** Relation entre diversité et exploitation de ressources : exemple des parasitoïdes *Aphidius* dans des associations de cultures

**Mots clés :** Association de cultures, Contrôle biologique, Ecologie comportementale, Ecologie nutritionnelle, Parasitoïdes.

**Résumé :** La diversité des ressources disponibles pour les consommateurs conditionne une multitude de processus écologiques, allant des stratégies comportementales mises en place par les organismes à la structure des communautés. Les cultures pures et associées offrent un modèle idéal pour étudier la relation entre la diversité de ressources et leur exploitation par les insectes parasitoïdes. L'apport de ressources telles que des hôtes alternatifs ou des sources de nourriture permis par la diversification intra-parcellaire pourrait notamment permettre d'augmenter leur activité de régulation des ravageurs. Dans cette thèse, nous étudions la relation diversité – exploitation de ressources en prenant pour modèle les parasitoïdes de puceron *Aphidius* spp. dans des cultures pures et associées (céréale et légumineuse). Dans un premier temps, nous étudions l'influence du processus d'apprentissage précoce sur la sélection d'hôte chez *Aphidius ervi*. Nous montrons que l'expérience de la complexité olfactive influence les préférences du parasitoïde, mais ne suffit pas à expliquer l'intégralité de ses décisions comportementales. Dans un deuxième temps, nous étudions les patrons d'exploitation de

ressources alimentaires des communautés d'*Aphidius* spp. dans des parcelles complémentées en nectar (cultures associées) ou non (cultures pures). Nous montrons que le miellat a une part prépondérante dans le régime alimentaire de ces insectes, et que l'apport de nectar ne semble pas influencer leur prise alimentaire. Par ailleurs, aucun effet de la diversité intra-parcellaire sur l'exploitation d'hôte et le contrôle biologique n'ont été décelés. Nos résultats montrent donc que la diversité de ressources influence le comportement des individus, mais ne permet pas toujours de prédire les patrons d'exploitation des populations et des communautés. D'autres facteurs peuvent être en jeu, tels que notamment la densité de ressources. Par ailleurs, nos résultats n'ont pas permis de confirmer le bénéfice des cultures associées pour le contrôle biologique. Cependant, d'autres approches seront nécessaires pour mieux évaluer le potentiel de ces cultures pour la régulation naturelle des pucerons et des autres ravageurs, et identifier les aménagements à mettre en place pour améliorer la lutte biologique par conservation.

**Title :** Relationship between resource diversity and their exploitation by organisms: example of *Aphidius* parasitoids in intercrops

**Keywords :** Behavioural ecology, Biological control, Intercropping, Nutritional ecology, Parasitoids.

**Abstract:** The diversity of resources available for consumers determines a wide range of ecological processes, from individual behavioural strategies to community structure. Intercrops and single crops are an ideal model to study the relationship between resource diversity and their use by parasitoids insects. As intercrops provide resources such as alternative hosts or food sources for parasitoids, they could also allow enhancing biological control. In this thesis, we study the relationship between resource diversity and their exploitation by *Aphidius* spp. aphid parasitoids in legume and cereal single crops and intercrops. First, we investigate how early learning influences host selection in *Aphidius ervi*. We reveal that olfactory complexity experienced by the insect influences its subsequent preferences, but also that olfactory preferences are not sufficient to fully explain its foraging decisions among different hosts. Then, we evaluate the resource use patterns

of *Aphidius* spp. communities in nectar-depleted fields (single crops) and nectar-complemented fields (intercrops). We show that honeydew is a major food source for *Aphidius* spp. parasitoids in cereal crops, and that nectar providing does not seem to change their resource exploitation patterns. We also find no effect of intercropping on aphid parasitism rates and biological control. Altogether, our results show that resource diversity is an important feature that drives individual behaviour, but that its influence does not systematically affect processes at the population or community scale. Other factors, such as resource density, may better explain such processes. Besides, we could not evidence a beneficial effect of intercropping on biological control. However, other approaches will be needed to better evaluate the potential of such crops for pest regulation and to identify the 'right forms of biodiversity' for conservation biological control.